

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 804 308**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/6886 (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.03.2015 PCT/EP2015/054952**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.09.2015 WO15135935**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.03.2015 E 15708545 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2020 EP 3117009**

54 Título: **Métodos y kits para clasificar linfoma de linfocitos B grande difuso (DLBCL) en GCB-DLBCL o en ABC-DLBCL**

30 Prioridad:

11.03.2014 EP 14305350

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.02.2021

73 Titular/es:

**INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA RECHERCHE MÉDICALE (INSERM) (33.3%)
101, rue de Tolbiac
75013 Paris, FR;
UNIVERSITE DE ROUEN (33.3%) y
CENTRE HENRI BECQUEREL (33.3%)**

72 Inventor/es:

**JARDIN, FABRICE;
RUMINY, PHILIPPE;
MARECHAL, SYLVAIN;
MARCHAND, VINCIANE y
BAGACEAN, CRISTINA**

74 Agente/Representante:

VEIGA SERRANO, Mikel

ES 2 804 308 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

Métodos y kits para clasificar linfoma de linfocitos B grande difuso (DLBCL) en GCB-DLBCL o en ABC-DLBCL

5 Sector de la técnica

La presente invención se refiere a métodos y kits para clasificar un linfoma de linfocitos B grande difuso (DLBCL) de un sujeto en un GCB-DLBCL o en un ABC-DLBCL.

10 Estado de la técnica

El linfoma de linfocitos B grande difuso (DLBCL) es el linfoma no hodgkiniano (NHL) más frecuente, representando del 30 al 40 % de los diagnósticos¹. Su pronóstico ha mejorado significativamente a lo largo de la última década, predominantemente a causa de la adición del anticuerpo Rituximab a los ciclos de quimioterapia². Desafortunadamente, aproximadamente un tercio de los sujetos no responden a los tratamientos o padecen recidiva rápidamente, y una mayoría de ellos sucumben rápidamente a la enfermedad³. Estas diferencias en las evoluciones clínicas pueden explicarse, al menos en parte, por la heterogeneidad de este tumor, que reagrupa dos subtipos principales con diferentes desenlaces clínicos⁴. El primero, denominado similar a linfocitos B centrales germinales (GCB), se desarrolla a partir de linfocitos B germinales. Es el que tiene más posibilidades de curarse, con una tasa de supervivencia global de 5 años de casi un 75 %. El segundo, denominado similar a linfocitos B activados (ABC), se desarrolla a partir de linfocitos B GC o plasmoblastos. Es más agresivo y puede curarse solamente en aproximadamente un 30 % de los sujetos⁵.

Aunque esta clasificación GCB/ABC por las células de origen (COO) se ha descrito hace más de 10 años, aún tiene poca influencia en la práctica clínica. Sin embargo, los últimos avances sugieren que estos tumores podrían beneficiarse dentro de poco de los tratamientos dirigidos. La señalización a través del receptor de linfocitos B (BCR), por ejemplo, ha demostrado ser esencial para la supervivencia de células de ABC-DLBCL, y los inhibidores específicos dirigidos contra el componente principal de la ruta de NFkappaB deberían llegar a estar disponibles rápidamente en clínica (ref Roschewski *et al.*, Nature review 2014). Asimismo, los GCB-DLBCL podrían beneficiarse dentro de poco de los inhibidores de las oncoproteínas BCL2 o BCL6 y de los tratamientos dirigidos a sus anomalías epigenéticas recurrentes. Desafortunadamente, estos linfomas son morfológicamente indistinguibles en el diagnóstico rutinario, que es un problema principal para el desarrollo de estos tratamientos. Además, la identificación de la expresión génica basada en micromatrices, que se considera el "método de referencia" para discriminar estos tumores, sigue siendo poco trasladable al diagnóstico rutinario, y los algoritmos inmunohistoquímicos (IHC) equivalentes que se han propuesto a menudo se consideran poco fiables (ref Ludenburg consortium De Jong JCO 2007 y Salles Blood 2011).

Objeto de la invención

Los autores de la invención desarrollaron un ensayo basado en amplificación con sonda dependiente de ligamiento múltiple con retrotranscriptasa (RT-MLPA - del inglés amplificación con sonda dependiente de ligamiento múltiple con retrotranscriptasa) robusto que permite una rápida, parca y precisa clasificación de DLBCL GCB y ABC en diagnóstico rutinario. En particular, la presente invención se define por las reivindicaciones.

Descripción detallada de la invención

El linfoma de linfocitos B grande difuso (DLBCL) es el linfoma no hodgkiniano más común. Se subdivide en dos subtipos moleculares, similar a linfocitos B centrales germinales (GCB) y similar a linfocitos B activados (ABC), que derivan de linfocitos B maduros en diferentes fases de diferenciación. Desafortunadamente, no hay métodos de identificación de expresión génica para distinguir estas enfermedades disponibles en diagnóstico rutinario y los algoritmos inmunohistoquímicos equivalentes se consideran poco reproducibles. Para abordar este problema, los autores de la invención han desarrollado un método de identificación de expresión génica simple y barato basado en un rasgo distintivo de 14 genes y un ensayo de amplificación con sonda dependiente de ligamiento múltiple con retrotranscriptasa (RT-MLPA). Capacitado en 50 casos de DLBCL, demostró su precisión en comparación con la identificación de expresión génica realizada por ensayos Illumina DASL (50 casos) o ensayos Affymetrix (64 casos), y que es más fiable que la inmunoquímica (176 casos). Además, RT-MLPA demostró ser suficientemente sensible para obtener resultados satisfactorios de muestras de FFPE (29 casos) y suficientemente flexible para incluir factores pronósticos adicionales como la coexpresión de MYC/BCL2. Al requerir solamente instrumentos comunes de biología molecular (un termociclador y un analizador de fragmentos), este ensayo podría implementarse fácilmente en laboratorios corrientes y representa una herramienta adecuada para la estratificación de pacientes en ensayos clínicos prospectivos y para guiar la toma de decisiones de tratamiento en la práctica clínica.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un método para clasificar un linfoma de linfocitos B grande difuso (DLBCL) de un sujeto en un GCB-DLBCL o en un ABC-DLBCL, que comprende la etapa de determinar el nivel de expresión de 10 genes en una muestra de tejido tumoral obtenida del sujeto realizando un ensayo de amplificación con sonda dependiente de ligamiento múltiple con retrotranscriptasa (RT-MLPA) en el que los 10 genes son NEK6, IRF4, IGHM, LMO2, FOXP1, TNFRSF9, BCL6, TNFRSF13B, CCND2 y MYBL1.

5 En algunas realizaciones, el ensayo de RT-MPLPA del método de la presente invención comprende además un medio para determinar el nivel de expresión de CCND1 en la muestra de tumor. Determinar el nivel de expresión de CCND1 es particularmente adecuado para excluir el hecho de que el linfoma de linfocitos B del sujeto sea un linfoma de linfocitos B del manto.

10 En algunas realizaciones, el ensayo de RT-MPLPA del método de la presente invención comprende además un medio para determinar el nivel de expresión de MS4A1 en la muestra de tumor. Determinar el nivel de expresión de MS4A1 es particularmente adecuado para determinar si el sujeto conseguirá una respuesta con un anticuerpo anti-CD20.

15 En algunas realizaciones, el ensayo de RT-MPLPA del método de la presente invención comprende además un medio para determinar el nivel o los niveles de expresión de MYC y/o BCL2 en la muestra de tumor. Determinar el nivel de expresión de MYC y/o BCL2 es particularmente adecuado para predecir el desenlace clínico de supervivencia del paciente.

20 En algunas realizaciones, el método de la presente invención comprende una etapa de determinar el nivel de expresión de 14 genes en una muestra de tejido tumoral obtenida del sujeto realizando un ensayo de amplificación con sonda dependiente de ligamiento múltiple con retrotranscriptasa (RT-MLPA) en el que los 14 genes son NEK6, IRF4, IGDM, CCND1, LMO2, FOXP1, TNFRSF9, BCL6, TNFRSF13B, CCND2, MYC, MYBL1, BCL2 y MS4A1.

La expresión "muestra de tumor" significa cualquier muestra de tejido derivada del tumor del sujeto. La muestra de tejido se obtiene con fines de evaluación *in vitro* y típicamente proviene de la biopsia realizada en un tumor del sujeto. La muestra puede ser reciente, congelada o incluida (por ejemplo, biopsia de FFPE).

25 En la presente memoria descriptiva, el nombre de cada uno de los genes de interés se refiere al nombre reconocido internacionalmente del gen correspondiente, según se encuentra en las bases de datos de secuencias génicas y secuencias proteínicas reconocidas internacionalmente, incluyendo la base de datos del HUGO Gene Nomenclature Committee que está disponible de manera destacable en la siguiente dirección de Internet: <http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/index.html>. En la presente memoria descriptiva, el nombre de cada uno de los
30 genes de interés se puede referir también al nombre reconocido internacionalmente del gen correspondiente, según se encuentra en la base de datos de secuencias génicas reconocida internacionalmente Genbank. A través de estas bases de datos de secuencias reconocidas internacionalmente, un experto en la materia puede recuperar el ácido nucleico del gen de interés descrito en este documento.

35 Como se usa en este documento, el término "NEK6" tiene su significado general en la técnica y se refiere al gen de la cinasa 6 relacionada con NIMA. Una secuencia de ADNc típica de NEK6 se representa por la SEQ ID NO:1.

SEQ ID NO: 1 (NEK6_homo sapiens)

ES 2 804 308 T3

GGCGGAACCGAGCTGACGGGCGTGCGGCCGCTGCGCCGCAAACCTCGTGTGGGACGCACCGCTCCAGCCG
CCCCGGGGCCAGCGCACCGGTCCCCCAGCGGCAGCCGAGCCCGCCGCGCGCCGGAGAAGAAGACACAT
GAATTAGAGACAGCACGGGGGAGCAGGCTGTGGAGCTGGGAGTGACGGGGTGAGTCCAGGAAGGCTGCC
TGGAGGAGATGCCAGGAGAGAAGTTTGTGGGAGGCAGCTCATTTCCGGCAGGAGGAGCAGAGCCTGC
CAAGGCCTCGAGTTCGTGCCCTCGTGAGGCTGGCATGCAGGATGGCAGGACAGCCCGGCCACATGCCCC
ATGGAGGGAGTTCCAACAACCTCTGCCACACCCTGGGGCCGTGTGCATCCTCCTGACCCACAGAGGCATC
CCAACACGCTGTCTTTTCGCTGCTCGCTGGCGGACTTCCAGATCGAAAAGAAGATAGGCCGAGGACAGT
TCAGCGAGGTGTACAAGGCCACCTGCCCTGCTGGACAGGAAGACAGTGGCTCTGAAGAAGGTGCAGATCT
TTGAGATGATGGACGCCAAGGCGAGGCAGGACTGTGTCAAGGAGATCGGCCCTCTTGAAGCAACTGAACC
ACCCAAATATCATCAAGTATTTGGACTCGTTTATCGAAGACAACGAGCTGAACATTGTGCTGGAGTTGG
CTGACGCAGGGGACCTCTCGCAGATGATCAAGTACTTTAAGAAGCAGAAGCGGCTCATCCCGGAGAGGA
CAGTATGGAAGTACTTTGTGCAGCTGTGCAGCGCCGTGGAGCACATGCATTCACGCCGGGTGATGCACC
GAGACATCAAGCCTGCCAACGTGTTTCATCACAGCCACGGGCGTCTGTAAGCTCGGTGACCTTGGTCTGG
GCCGCTTCTTCAGTCTGAGACCACCGCAGCCACTCCCTAGTGGGGACGCCCTACTACATGTCACCGG
AGAGGATCCATGAGAACGGCTACAACCTCAAGTCCGACATCTGGTCCCTGGGCTGTCTGCTGTACGAGA
TGGCAGCCCTCCAGAGCCCTTCTATGGAGATAAGATGAATCTCTTCTCCCTGTGCCAGAAGATCGAGC
AGTGTGACTACCCCCACTCCCCGGGGAGCACTACTCCGAGAAGTTACGAGAACTGGTCAGCATGTGCA
TCTGCCCTGACCCCCACCAGAGACCTGACATCGGATACGTGCACCAGGTGGCCAAGCAGATGCACATCT
GGATGTCCAGCACCTGAGCGTGGATGCACCCTGCTTATCAAAGCCAGCACCCTTTGCCTTACTTGAG
TCGTCTTCTCTTCGAGTGGCCACCTGGTAGCCTAGAACAGCTAAGACCACAGGGTTCAGCAGGTTCCCC
AAAAGGCTGCCAGCCTTACAGCAGATGCTGAAGGCAGAGCAGCTGAGGGAGGGGCGCTGGCCACATGT
CACTGATGGTCAGATTCCAAAGTCTTTCTTTTATACTGTTGTGGACAATCTCAGCTGGGTCAATAAGGG
CAGGTGGTTCAGCGAGCCACGGCAGCCCCCTGTATCTGGATTGTAATGTGAATCTTTAGGGTAATTCCCT
CCAGTGACCTGTCAAGGCTTATGCTAACAGGAGACTTGCAGGAGACCGTGTGATTTGTGTAGTGAGCCT
TTGAAAATGGTTAGTACCGGGTTCAGTTTAGTCTTAGTATCTTTTCAATCAAGCTGTGTGCTTAATTT
ACTCTGTTGTAAAGGGATAAAGTGGAATCATTTTTTTCCGTGGAGTGGTGATTCTGCTAACATTTTTTA
TCTACGTTTTATAACTTGGTGAGTGACGATGAGAGCCCTGCACCTGGCCAGAGTGTACAGGCAAAGG
CATCGGAAGCAGGAGCATCTTCTTGGCAGCCAGGCTGGCCATCTTCTCCTGGACACCTGCTGTGTAC
CAGGAACTTCGTACCTCCTTGAATGCTGGCGGTTCAATTCATGATCAGTGTAAAGCATTTTCCCTCCAT
GGGAAGGAAGCATGGGATATAGAAAAGCGAAGGGCTGTCCTTTACAAATTCTGGTTCTGCAACTTCCTA
GCGTGACTTTGGGCTTGGGCAAGTTTCTTAGCCGTTCTGAGCCTTCATTTCCCTCATCTGTACAATGAGA

TTAATAGTACCTATCATCTACCTTCAGGATTGCTGACAGACAGAATTTGAAATAAAATATGCAAGTTAG
 CTAATACAAAAAGTAGATGATCCAAAAATGGTAGCCACTCACCC TTCACAAACTGAAGTCCATGGACCA
 CGGAAGTCGAGAATTAATGTACACCTGTATCATGTGTAGGAAACCAGAAATGTGTTCCCTATTTCTTGT
 TCCCAACAGGATTAAGTGTGAAGACTAATTTATAAAATGTGAACCTAAGAAAACTCCACCTCTGAAGGA
 AATCATTTGAATTTTGT TTTTGTACGTAAAGTTAACCTTCCAATTGTCTGAGCTGTCGTCACTGACTTC
 ATGACAGTCTGGCCCTCCAGACAAGAGCAGCGCTGGCATCGGGCAGGTGATTCCCTGACACCTGCTGCCT
 GCAGGCATTCACTGACCAGGCCTTTCCTGGAGGAAACACCCAGGGCCGGGCGGCTGCTGTTCCACACG
 TGGACTCGGATCTGCTGTGACACCGTCAGCCCGACAGTCTCTCCATATGCAGCCTTTCCTCTGTACTTT
 TCTCCATGGTTGAAATAAAACAGGGTACTGAGGTTACTTAGAATTCATGAAGATTTTAAATGGCTT
 TGGAGATTTTGTCTTTAAACCAGTAGATTCAAACTTAAACAGCGTCTGCAGCACAATTTCTTGAGGAA
 CCTTGAAAAACACAACCTCCAGGCCCATTCAGTAATCCCAGGATTTCTTTAAGCTCCCCAAATAATT
 TTGAAACTCATCATCAGCCGAGTTTCTGCCCTCATGAGGTAATTCATCGTTC TCCCAGCCTGCCCT
 GGCAGCTGTAACACAGGAGCTGGCCTGAGAGCAGATTCACCC TGAATGTTCTCTCCACAGAACAATCA
 AGTCCCTGTCGCTGCCTAGTGCTTACCCTGAAGATTTTCTGATTCCAGACCAACTTTTTGCCAACA
 TTCTGCTTCCAGCTCTCTGAGCCCTGCCGTGTCTCCCAACACTGCCAGCCCCAGCACGCAATCAACC
 TACTTTGTGCATGCCACCCGCTTTCACACTGTGAGAACAATCTGCCCAACTGGACCCTCTGGAGGCGC
 ACGATCTCAGCCACTCACCAGGCCTGAGTGTTTGTGAAATGATCATGTCTACTTATTACAAAACCGTA
 ACCCAAAACATTCCTTTTATTTCTGTGAAACCGGCCAAAGTGAGGTCCACCCACCTTCACACAGCTCT
 GCGGGTGCACCTGCTCACCTTCTCTTGGTTCTCAGAACTGAGCTGGGCTTGAGAACACAGCTTTGGCTT
 TGCCATTTTTTTCTACTTGGCTGCTGAGGTGGAGGTGTGCTGCAC TTATCACCCCATTTCAAACCA
 AACCAAACTGAGGCCACCCCAAACAATTCAGCCAGCAAAAAGGGTAGGTATCGATGGTCACCTGAAG
 CCTCAAGGGAGTCCACTCTGACTTCTGACAG

Como se usa en este documento, el término "IRF4" tiene su significado general en la técnica y se refiere al gen del factor 4 regulador de interferón. Una secuencia de ADNc típica de IRF4 se representa por la SEQ ID NO:2.

5

SEQ ID NO: 2 (IRF4_homo sapiens)

ACCTCGCACTCTCAGTTTACCGCTCGATCTTGGGACCCACCGCTGCCCTCAGCTCCGAGTCCAGGGCG
 AGTGCAGAGCAGAGCGGGCGGAGGACCCCGGGCGCGGGCGCGGACGGCACGCGGGGCATGAACCTGGAG
 GCGGGCGGCCGAGGCGGAGAGTTCGGCATGAGCGCGGTGAGCTGCGGCAACGGGAAGCTCCGCCAGTGG
 CTGATCGACCAGATCGACAGCGGCAAGTACCCCGGGCTGGTGTGGGAGAACGAGGAGAAGAGCATCTTC
 CGCATCCCTTGAAGCACGCGGGCAAGCAGGACTACAACCGGAGGAGGACGCCGCGCTCTTCAAGGCT
 TGGGCACTGTTTAAAGGAAAGTTCCGAGAAGGCATCGACAAGCCGGACCC TCCCACCTGGAAGACGCGC
 CTGCGGTGCGCTTTGAACAAGAGCAATGACTTTGAGGAAC TGGTTGAGCGGAGCCAGCTGGACATCTCA
 GACCCGTACAAAGTGTACAGGATTGTTCCCTGAGGGAGCCAAAAAGGAGCCAAGCAGCTCACCCCTGGAG
 GACCCGCGAGATGTCCATGAGCCACCCCTACACCATGACAACGCCTTACCCTTCGCTCCCAGCCCAGCAG
 GTTCACTACATGATGCCACCCCTCGACCGAAGCTGGAGGGACTACGTCCCGGATCAGCCACACCCG
 GAAATCCCGTACCAATGTCCCATGACGTTTGGACCCCGGGCCACCCTGGCAAGGCCAGCTTGTGAA
 AATGGTTGCCAGGTGACAGGAACCTTTTATGCTTGTGCCCCACCTGAGTCCCAGGCTCCCGGAGTCCCC

ES 2 804 308 T3

ACAGAGCCAAGCATAAGGTCTGCCGAAGCCTTGGCGTTCTCAGACTGCCGGCTGCACATCTGCCTGTAC
TACCGGGAAATCCTCGTGAAGGAGCTGACCACGTCCAGCCCCGAGGGCTGCCGGATCTCCCATGGACAT
ACGTATGACGCCAGCAACCTGGACCAGGTCTGTCCCCCTACCCAGAGGACAATGGCCAGAGGAAAAAC
ATTGAGAAGCTGCTGAGCCACCTGGAGAGGGGCGTGGTCTCTGGATGGCCCCGACGGGCTCTATGCC
AAAAGACTGTGCCAGAGCAGGATCTACTGGGACGGGCCCTGGCGCTGTGCAACGACCGGCCAACAAA
CTGGAGAGAGACCAGACCTGCAAGCTCTTTGACACACAGCAGTCTTGTGTCAGAGCTGCAAGCGTTTGCT
CACCACGGCCGCTCCCTGCCAAGATTCCAGGTGACTCTATGCTTTGGAGAGGAGTTTCCAGACCCTCAG
AGGCAAAGAAAGCTCATCACAGCTCACGTAGAACCCTCTGCTAGCCAGACAACCTATATTATTTGCTCAA
CAAAACAGTGGACATTTCTGAGGGGTACGATTTACCAGAACACATCAGCAATCCAGAAGATTACCAC
AGATCTATCCGCCATTCCTCTATTCAAGAATGAAAAATGTCAAGATGAGTGGTTTTCTTTTTCTTTTT
TTTTTTTTTTTTTTGATACGGGGATACGGGGTCTTGTCTGTCTCCAGGCTGGAGTGCAGTGACACAA
TCTCAGCTCACTGTGACCTCCGCCTCCTGGGTTCAAGAGACTCTCCTGCCTCAGCCTCCCTGGTAGCTG
GGATTACAGGTGTGAGCCACTGCACCCACCAAGACAAGTGATTTTCATTGTAATATTTGACTTTAGT
GAAAGCGTCCAATTGACTGCCCTCTTACTGTTTTGAGGAATTCAGAAGTGGAGATTTAGTTCAGCGGT
TGAGGAGAATTGCGCGAGACAAGCATGGAATCAGTGACATCTGATTGGCAGATGAGCTTATTTCAA
AAGGAAGGGTGGCTTTGCATTTCTTGTGTTCTGTAGACTGCCATCATTGATGATCACTGTGAAAATTGA
CCAAGTGATGTGTTTACATTTACTGAAATGCGCTCTTTAATTTGTTGTAGATTAGGTCTTGTGGAAGA
CAGAGAAAACCTGCCTTTCAGTATTGACACTGACTAGAGTGATGACTGCTTGTAGGTATGTCTGTGCCA
TTTTCTCAGGGAAGTAAGATGTAAATTTGAAGAAGCCTCACACGTAAAAAGAAATGTATTAATGTATGTAGG
AGCTGCAGTCTTGTGGAAGACACTTGCTGAGTGAAGGAAATGAATCTTTGACTGAAGCCGTGCCTGTA
GCCTTGGGGAGGCCATCCCCACCTGCCAGCGTTTCCIGGTGTTGGGTCCCTCTGCCCCGCCCTCCTT
CCCATTTGGCTTCTCTCCTTGGCCTTCTCCTGGAAGCCAGTTAGTAAACTTCTATTTTTCTTGAGTCAAA
AAACATGAGCGCTACTCTTGGATGGGACATTTTTGTCTGTCTTACCAATCTAGTAATGTCTAAGTAATGG
TTAAGTTTTCTGTTTCTGCATCTTTTTGACCCTCATTCTTTAGAGATGCTAAAATTTCTTCGCATAAAG
AAGAAGAAATTAAGGAACATAAATCTTAATACTTGAACGTGTTGCCCTTCTGTCCAAGTACTTAACTATC
TGTTCCCTTCTCTGTGCCACGCTCCTCTGTTTGTGGTGTCCAGCGATCAGCCATGGCGACACTAA
AGGAGGAGGAGCCGGGGACTCCCAGGCTGGAGAGCACTGCCAGGACCCACCCTGGAAGCAGGATGGAG
CTGACTACGGAACCTGCACACTCAGTGGGCTGTTTCTGCTTATTTTCACTCTGTTCTATGCTTCTCGTGCC
AATTATAGTTTGACAGGGCCTTAAAATTACTTGGCTTTTTTCCAAATGCTTCTATTTATAGAATCCCAAA
GACCTCCACTTGCTTAAGTATACCTATCACTTACATTTTTGTGGTTTTGAGAAAAGTACAGCAGTAGACT
GGGGCGTCACCTCCAGGCCGTTTTCTCATACTACAGGATATTTACTATTACTCCCAGGATCAGCAGAAGA
TTGCGTAGCTCTCAAATGTGTGTTTCTGCTTTTTCTAATGGATATTTTAAATTCATTCAACAAGCACCTA
GTAAGTGCCGCTGTATCCCTACATTACACAGTTTCCAGCTTTATCAAGCTTAGTGAGCAGTGAGCACTG
AAACATTATTTTTAATGTTTAAAAAGTTTCTAATATTAAGTCAGAATATTAATACAATTAATATTAA
TATTAACACAGAAAAGACAAACAGTAGAGAACAGCAAAAAATAAAAAGGATCTCCTTTTTTCCCAGC
CCAAATTCTCCTCTCTAAAAGTGTCCACAAGAAGGGGTGTTTATTTCTTCCAACACATTTCACTTTTTCTG
TAAATATACATAAACTTAAAAAGAAAACCTCATGGAGTCACTTGCACACACTTTCATGCAGTGTCTTT
TGTAGCTAACAGTGAAGATTTACCTCGTTCTGCTCAGAGGCCCTGCTGTGGAGCTCCACTGCCATGTAC
CCAGTAGGGTTTGACATTTTATTAGCCATGCAACATGGATATGTATTGGGCAGCAGACTGTGTTTCTGTG
AACTGCAGTGTATACATCTTATAGATGCAAAGTATTTTGGGGTATATTATCCTAAGGGAAGATAAA
GATGATATTAAGAACTGCTGTTTACGGGGCCCTTACCTGTGACCTCTTTGCTGAAGAATATTTAACC

ES 2 804 308 T3

CCACACAGCACTTCAAAGAAGCTGTCTTGGAAAGTCTGTCTCAGGAGCACCCCTGTCTTCTTAATTCTCCA
AGCGGATGCTCCATTTCAATTGCTTTGTGACTTCTTCTTCTTTGTTTTTTTAAATATTATGCTGCTTTA
ACAGTGGAGCTGAATTTTCTGGAAAATGCTTCTTGGCTGGGGCCACTACCTCCTTTCTATCTTTACAT
CTATGTGTATGTTGACTTTTTTAAAATTCTGAGTGATCCAGGGTATGACCTAGGGAATGAAGTAGCTATG
AAATACTCAGGGTTAGGAATCCTAGCACTTGTCTCAGGACTCTGAAAAGGAACGGCTTCCTCATTCCTT
GTCTTGATAAAGTGAATTTGGCAAACTAGAATTTAGTTTGTACTCAGTGGACAGTGTGTTGAAGATTT
GAGGACTTGTAAAGAGCACTGGGTTCATATGGAAAAATGTATGTGTCTCCAGGTGCATTTCTTGGTT
TATGTCTTGTCTTGTAGATTTTGTATATTTAGGAAAACCTCAAGCAGTAATTAATATCTCCTGGAACAC
TATAGAGAACCAAGTGACCGACTCATTTACAACCTGAAACCTAGGAAGCCCCGTGAGTCTGAGCGAAAAC
AGGAGAGTTAGTCGCCCTACAGAAAACCCAGCTAGACTATTGGGTATGAACTAAAAAGAGACTGTGCCA
TGGTGAGAAAAATGTAAAATCCTACAGTGAAATGAGCAGCCCTTACAGTATTGTTACCACCAAGGGCAG
GTAGGTATTAGTGTGTTGAAAAAGCTGGTCTTTGAGCGAGGGCATAAAATACAGCTAGCCCCAGGGGTGGA
ACAACTCTGGGAGTCTTGGGTACTCGCACCTCTTGGCTTTGTTGATGCTCCGCCAGGAAGGCCACTTGT
GTGTGCGTGTGACTTACTTTTTTAGTAACAATTCAGATCCAGTGAAACTTCCGTTTATTGCTCTCCAG
TCACATGCCCCCACTTCCCCACAGGTGAAAGTTTTTCTGAAAGTGTGGGATTGGTTAAGGTCTTTATT
TGTATTACGTATCTCCCGAAGTCTCTGTGGCCAGCTGCATCTGTCTGAATGGTGCCTGAAGGCTCTCA
GACCTTACACACCATTTTGTAAAGTTATGTTTTACATGCCCCGTTTTTGTAGACTGATCTCGATGCAGGTG
GATCTCCTTGAGATCCTGATAGCCTGTTACAGGAATGAAGTAAAGGTCAGTTTTTTTTTGTATTGATTT
TCACAGCTTTGAGGAACATGCATAAGAAATGTAGCTGAAGTAGAGGGGACGTGAGAGAAGGGCCAGGCC
GGCAGGCCAACCCCTCCTCCAATGGAAATTTCCCGTGTGCTTCAAACCTGAGACAGATGGGACTTAACAGG
CAATGGGGTCCACTTCCCCCTCTTCAGCATCCCCCGTACCCCACTTTCTGCTGAAAGAACTGCCAGCAG
GTAGGACCCCAGAGGCCCCCAAATGAAAGCTTGAATTTCCCTACTGGCTCTGCGTTTTGCTGAGATCT
GTAGGAAAGGATGCTTCAAAAAGTGGAGGTAGATAATGCTATGCTGTGCTGTTGGTATACATCATGAATTTT
TATGTAAATTGCTCTGCAAAGCAAATGATATGTTTGTATAAATTTATGTTTTTGTAGTAAATAAAAACCTT
TTAAAAATTTGTTATGGA

5 Como se usa en este documento, el término "IGHM" tiene su significado general en la técnica y se refiere al gen de la cadena constante pesada mu de inmunoglobulina. Una secuencia de ADNc típica de IGHM se representa por la SEQ ID NO:3.

SEQ ID NO: 3 (IGHM_homo sapiens)

GGGAGTGCATCCGCCCAACCCTTTTCCCCCTCGTCTCCTGTGAGAATTCCCCGTCGGATACGAGCAGC
GTGGCCGTTGGCTGCCCTGCACAGGACTTCTTCCCGACTCCATCACTTTCTCCTGGAATACAAGAAC
AACTCTGACATCAGCAGCACCCGGGGCTTCCCATCAGTCTGAGAGGGGCAAGTACGCAGCCACCTCA
CAGGTGCTGCTGCCCTCCAAGGACGTCATGCAGGGCACAGACGAACACGTGGTGTGCAAAGTCCAGCAC
CCCAACGGCAACAAAGAAAAGAAGCTGCCCTTCCAGTGATTGCCGAGCTGCCCTCCCAAAGTGAGCGTC
TTCGTCCCACCCCGCAGCGCTTCTTCGGCAACCCCGCAAGTCCAAGTCATCTGCCAGGCCACGGGT
TTCAGTCCCCGGCAGATTGAGGTGCTTGGCTGCGCGAGGGGAAGCAGGTGGGGTCTGGCGTCACCACG
GACCAGGTGCAGGCTGAGGCCAAAGAGTCTGGGCCACGACCTACAAGGTGACCAGCACACTGACCATC
AAAGAGAGCGACTGGCTCAGCCAGAGCATGTTACCTGCCGCTGGATCACAGGGGCCTGACCTTCCAG

CAGAAATCGTCTCCATGTGTGGCCCCGATCAAGACACAGCCATCCGGGTCTTCGCCATCCCCCATCC
 TTTGCCAGCATCTTCTCACCAAGTCCACCAAGTTGACCTGCCTGGTCACAGACCTGACCACCTATGAC
 AGCGTGACCATCTCCTGGACCCGCCAGAATGGCGAAGCTGTGAAAACCCACACCAACATCTCCGAGAGC
 CACCCCAATGCCACTTTCAGCGCCGTGGGTGAGGCCAGCATCTGCGAGGATGACTGGAATTCGGGGGAG
 AGGTTACAGTGCACCGTGACCCACACAGACCTGCCCTCGCCACTGAAGCAGACCATCTCCCGGCCAAG
 GGGGTGGCCCTGCACAGGCCCGATGTCTACTTGTGTCACCAGCCCGGAGCAGCTGAACCTGCGGGAG
 TCGGCCACCATCACGTGCCTGGTGACGGGCTTCTCTCCCGCGGACGTCTTCGTGCAGTGGATGCAGAGG
 GGGCAGCCCTTGTCCCGGAGAAGTATGTGACCAGCGCCCAATGCCCTGAGCCCCAGGCCCCAGGCCGG
 TACTTCGCCACAGCATCCTGACCGTGTCCGAAGAGGAATGGAACACGGGGGAGACCTACACCTGCGTG
 GTGGCCATGAGGCCCTGCCAACAGGGTCCCGAGAGGACCGTGGACAAGTCCACCGGTAAACCCACC
 CTGTACAACGTGTCCCTGGTCAATGTCCGACACAGCTGGCACCTGCTACTGACCCTGCTGGCCTGCCAC
 AGGCTCGGGGCGGTGGCCGCTCTGTGTGTGCATGCAAATAACCGTGTCAACGGGGTGAGATGTTGCA
 TCTTATAAAATT

Como se usa en este documento, el término "CCND1" tiene su significado general en la técnica y se refiere al gen de ciclina D1. Una secuencia de ADN típica de CCND1 se representa por la SEQ ID NO:4.

5

SEQ ID NO: 4 (CCND1_homo sapiens)

GCTTAACAACAGTAACGTCACACGGACTACAGGGGAGTTTTGTTGAAGTTGCAAAGTCTGGAGCCTCC
 AGAGGGCTGTCCGGCAGTAGCAGCGAGCAGAGTCCGCACGCTCCGGCGAGGGGCAGAAGAGCGCG
 AGGGAGCGCGGGCAGCAGAAGCGAGAGCCGAGCGCGGACCCAGCCAGGACCCACAGCCCTCCCCAGCT
 GCCCAGGAAGAGCCCCAGCCATGGAACACCAGCTCCTGTGCTGCGAAGTGGAAACCATCCGCCGCGGT
 ACCCCGATGCCAACCTCCTCAACGACCGGGTGTGCGGGCCATGCTGAAGGCGGAGGAGACCTGCGCGC
 CCTCGGTGTCTACTTCAAATGTGTGAGAAGGAGTCTGCCGTCCATGCGGAAGATCGTCGCCACCT
 GGATGCTGGAGGTCTGCGAGGAACAGAAGTGCAGAGGAGGAGTCTTCCCGCTGGCCATGAACTACCTGG
 ACCGCTTCCGTGCTGCTGGAGCCCGTGAAAAAGAGCCGCCTGCAGCTGCTGGGGGCCACTTGCATGTTCCG
 TGGCCTTAAGATGAAGGAGACCATCCCCCTGACGGCCGAGAAGCTGTGCATCTACACCGACAACCTCCA
 TCCGGCCCCGAGGAGCTGCTGCAAATGGAGCTGCTCCTGGTGAACAAGCTCAAGTGGAACTGGCCGCAA
 TGACCCCGCAGATTTCAATTGAACACTTCTCTCCAAAATGCCAGAGGCGGAGGAGAACAACAGATCA
 TCCGCAAACACGCGCAGACCTTCGTTGCCCTCTGTGCCACAGATGTGAAGTTCATTTCCAATCCGCCCT
 CCATGGTGGCAGCGGGGAGCGTGGTGGCCGAGTGAAGCCCTGAACCTGAGGAGCCCCAACAACTTCC
 TGCTCTACTACCGCCTCACACGCTTCTCTCCAGAGTGATCAAGTGTGACCCGGACTGCCTCCGGGCT
 GCCAGGAGCAGATCGAAGCCCTGCTGGAGTCAAGCCTGCGCCAGGCCCAGCAGAACATGGACCCCAAGG
 CCGCCGAGGAGGAGGAAGAGGAGGAGGAGGAGGTGGACCTGGCTTGCACACCCACCGACGTGCGGGACG
 TGGACATCTGAGGGCGCCAGGCAGGCGGGCGCCACCGCCACCCGAGCGAGGGCGGAGCCGGCCCCAGG
 TGCTCCCCTGACAGTCCCTCCTCTCCGGAGCATTTTGATACCAGAAGGGAAAGCTTCATTCTCCTTGTT
 GTTGGTTGTTTTTCTTTGCTCTTTCCCCCTTCCATCTCTGACTTAAGCAAAAAGAAAAGATTACCCA
 AAAACTGTCTTTAAAAGAGAGAGAGAGAAAAAAAATAGTATTTGCATAACCTGAGCGGTGGGGGAG
 GAGGGTTGTGCTACAGATGATAGAGGATTTTATACCCCAATAATCAACTCGTTTTTATATTAATGTACT
 TGTTTCTCTGTTGTAAGAATAGGCATTAACACAAAGGAGGCGTCTCGGGAGAGGATTAGGTTCCATCCT

ES 2 804 308 T3

TTACGTGTTTAAAAAAAAGCATAAAAAACATTTTAAAAACATAGAAAAATTCAGCAAACCATTTTAAAG
TAGAAGAGGGTTTTAGGTAGAAAAACATATTCTTGTGCTTTTCTTGATAAAGCACAGCTGTAGTGGGGT
TCTAGGCATCTCTGTACTTTGCTTGCTCATATGCATGTAGTCACTTTATAAGTCATTGTATGTTATTAT
ATTCCGTAGGTAGATGTGTAACCTCTTCACCTTATTCATGGCTGAAGTCACCTCTTGGTTACAGTAGCG
TAGCGTGCCCGTGTGCATGTCTTTGCGCCTGTGACCACCACCCCAACAAACCATCCAGTGACAAACCA
TCCAGTGGAGGTTTGTTCGGGCACCAGCCAGCGTAGCAGGGTCGGGAAAGGCCACCTGTCCCCTCTAC
GATACGCTACTATAAAGAGAAGACGAAATAGTGACATAATATATTTCTATTTTTATACTCTTCTATTTT
TGTAGTGACCTGTTTATGAGATGCTGGTTTTCTACCCAACGGCCCTGCAGCCAGCTCACGTCCAGGTTT
AACCCACAGCTACTTGGTTTGTGTTCTTCTTCATATTTCTAAAACCATTTCCATTTCCAAGCACTTTTCA
CCAATAGGTGTAGGAAATAGCGCTGTTTTTGTGTTGTGTGCAGGGAGGGCAGTTTTTCTAATGGAATGGT
TTGGGAATATCCATGTACTTGTGTTGCAAGCAGGACTTTGAGGCAAGTGTGGGCCACTGTGGTGGCAGTG
GAGGTGGGGTGTGGGAGGCTGCGTGCCAGTCAAGAAGAAAAAGGTTTGCATTTCTCACATTTGCCAGGA
TGATAAGTTCCCTTTCTTTTAAAGAAGTTGAAGTTTAGGAATCCCTTTGGTGCCAACCTGGTGTGTTG
AAAGTAGGGACCTCAGAGGTTTACCTAGAGAACAGGTGGTTTTTAAAGGGTTATCTTAGATGTTTCACAC
CGGAAGTTTTTAAACACTAAAATATATAATTTATAGTTAAGGCTAAAAAGTATATTTATTGCAGAGGA
TGTTTATAAGGCCAGTATGATTTATAAATGCAATCTCCCCTTGATTTAAACACACAGATAACACACAC
ACACACACACACAAAACCTTCTGCCTTTGATGTTACAGATTTAATACAGTTTATTTTTAAAGATAGAT
CCTTTTATAGGTGAGAAAAAACAATCTGGAAGAAAAAACCACACAAAGACATTGATTCAGCCTGTTT
GGCGTTTCCCAGAGTCATCTGATTGGACAGGCATGGGTGCAAGGAAAAATAGGGTACTCAACCTAAGTT
CGGTTCCGATGAATTTCTTATCCCCTGCCCCCTTCTTTAAAAAAGTTAGTGACAAAATAGACAATTTGCA
CATCTTGGCTATGTAATTTCTTGTAAATTTTTATTTAGGAAGTGTGAAGGGAGGTGGCAAGAGTGTGGAG
GCTGACGTGTGAGGGAGGACAGGCGGGAGGAGGTGTGAGGAGGAGGCTCCCGAGGGGAAGGGCGGTGC
CCACACCGGGGACAGCCCGCAGCTCCATTTTCTTATTGCGTGTACCGTTGACTTCCAGGCACGGTTT
GGAAATATTCACATCGCTTCTGTGTATCTTTTACATTTGTTGCTGCTATTGGAGGATCAGTTTTTTG
TTTTACAATGTCATATACTGCCATGTACTAGTTTTAGTTTTCTCTTAGAACATTGTATTACAGATGCCT
TTTTTGTAGTTTTTTTTTTTTTATGTGATCAATTTTACTTAATGTGATTACTGCTCTATTCCAAAA
GGTTGCTGTTTACAATACCTCATGCTTCACTTAGCCATGGTGGACCCAGCGGGCAGGTTCTGCCTGCT
TTGGCGGGCAGACACGCGGGCGGATCCCACACAGGCTGGCGGGGGCCGGCCCCGAGGCCGCTGCGTG
AGAACC GCGCCGTGTC CCGAGAGACCAGGCTGTGTCCCTCTTCTCTTCCCTGCGCCTGTGATGCTGGG
CACTTCATCTGATCGGGGGCGTAGCATCATAGTAGTTTTTACAGCTGTGTTATTCTTTGCGTGTAGCTA
TGGAAGTTGCATAATTATTATTATTATTATAACAAGTGTGTCTTACGTGCCACCACGGCGTTGTAC
CTGTAGGACTCTCATTCGGGATGATTGGAATAGCTTCTGGAATTTGTTCAAGTTTTGGGTATGTTAAT
CTGTTATGTACTAGTGTCTGTTTGTATTGTTTTGTTAATTACACCATAATGCTAATTTAAAGAGACT
CCAAATCTCAATGAAGCCAGCTCACAGTGTGTGTGCCCCGGTCACCTAGCAAGCTGCCGAACCAAAAG
AATTTGCACCCCGCTGCGGGCCACGTGGTTGGGGCCCTGCCCTGGCAGGGTCATCCTGTGCTCGGAGG
CCATCTCGGGCACAGGCCACCCCGCCCCACCCCTCCAGAACACGGCTCACGCTTACCTCAACCATCCT
GGCTGCGGCGTCTGTCTGAACCACGCGGGGGCCTTGAGGGACGCTTTGTCTGTGCTGATGGGGCAAGGG
CACAAGTCTCGGATGTTGTGTGTATCGAGAGGCCAAAGGCTGGTGGCAAGTGACGGGGCACAGCGGAG
TCTGTCTGTGACGCGCAAGTCTGAGGGTCTGGGCGGGGGCGGCTGGGTCTGTGCATTTCTGGTTGCA
CCGCGGCGCTTCCAGCACCAACATGTAACCGGCATGTTTCCAGCAGAAGACAAAAGACAAACATGAA
AGTCTAGAAATAAACTGGTAAAACCCCA

Como se usa en este documento, el término "LMO2" tiene su significado general en la técnica y se refiere al gen del

ES 2 804 308 T3

dominio LIM solamente 2 (similar a rombotina 1). Una secuencia de ADNc típica de LMO2 se representa por la SEQ ID NO:5.

SEQ ID NO: 5 (LMO2_homo sapiens)

```
GAATTCGTCCAAACTGAGGATCACAAGTCTCCACATTCAGTAGGAGGATGAGGGTCTGAGTTAGGAT
TTGGGTCTGCAGGGCTTGCTAAGGAATCCCCTGATGGCCTAGGATTCACGCAGAGCACATCTGGTGT
GAGAGAGCTCGCTGCAAGGGTGAAGGCTCCGCCCTATCAGATAGACAACCAGGCCACCAAGAGGCCAG
CCCTCCAAACCTGGATTTGCAACATCCTCAAAGAACAGCAACGGGCCTTGAGCAGAATTGAGAAGGAA
ATACCCACCTGCCCTCAGCCGTTAAGTGGGCTTTGCTATTCACAAGGGCCTCTGGGTGTCTGGCAG
AGAGGGGAGATGGCACAGGCACCAGGTGCTAGGGTGCCAGGGCCTCCCGAGAAGGAACAGGTGCAAAGC
AGGCAATTAGCCCAGAAGGTATCCGTGGGGCAGGCAGCCTAGATCTGATGGGGGAAGCCACCAGGATTA
CATCATCTGCTGTAACAACCTGCTCTGAAAAGAAGATATTTTTCAACCTGAACTTGACAGTAGCTAGTGGA
GAGGCAGGAAAAAGGAAATGAAACCAGAGACAGAGGGAAGCTGAGCGAAAATAGACCTTCCCGAGAGAG
GAGGAAGCCCGGAGAGAGACGCACGGTCCCTCCCGCCCTAGGCCGCCGCCCTCTCTGCCCTCGG
CGGCGAGCAGCGCGCCGCGACCCGGGCCGAAGGTGCGAGGGGCTCCGGGCGGCCGGGCGGGCGCACACC
ATCCCGCGGGCGGCGGGAGCCGGCGACAGCGCGGAGAGGGACCGGGCGGTGGCGGCGGCGGGACCG
GGATGGAAGGGAGCGCGGTGACTGTCTTGAGCGCGGAGGGGCGAGCTCGCCGGCGGAGCGCCGGAGCA
AGCGGAGGCGCAGGAGCGGCGGCGACGGCGGCGGCGGCGGCGGCCGAGCACCCGAGGGGGTCCGAG
CCCCGGCAGCCGGCCAGCCCCGCGCCACAAAGGGAGCGCCCCGCGCCCGGCACCCCGCTCCCTCCC
CAATGTCTCGGCCATCGAAAGGAAGAGCCTGGACCCTTCAGAGGAACCAGTGGATGAGGTGCTGCAGA
TCCCCCATCCCTGCTGACATGCGGCGGCTGCCAGCAGAACATTGGGGACCGCTACTTCTGAAGGCCA
TCGACCAGTACTGGCACGAGGACTGCCTGAGCTGCGACCTCTGTGGCTGCCGGCTGGGTGAGGTGGGGC
GGCGCCTCTACTACAACTGGGCCGGAAGCTCTGCCGGAGAGACTATCTCAGGCTTTTTGGGCAAGACG
GTCTCTGCGCATCCTGTGACAAGCGGATTCGTGCCCTATGAGATGACAATGCGGGTGAAGACAAAGTGT
ATCACCTGGAATGTTTTCAAATGCGCCGCTGTGAGAAGCATTCTGTGTAGGTGACAGATACCTCCTCA
TCAACTCTGACATAGTGTGCGAACAGGACATCTACGAGTGGACTAAGATCAATGGGATGATATAGGCC
GAGTCCCCGGCATCTTTGGGGAGGTGTTCACTGAAGACCCGCTCCATGGCATCTTCGTCTTCACTC
TTAGGCACTTTGGGGTTTGGGGTAAAGGATTTCTTAGGGGATGGTAGACCTTTATTGGGTAT
CAAGACATAGCATCCAAGTGGCATAATTCAGGGCTGACACTTCAAGGTGACAGAAGGACCAGCCCTTG
AGGGAGAACTTATGGCCACAGCCCATCCATAGTAACCTGACATGATTAGCAGAAGAAAGGAACATTTAGG
GGCAAGCAGGCGCTGTGCTATCATGATGGAATTTTCATATCTACAGATAGAGAGTTGTTGTGTACAGACT
TGTGTGACTTTGACGCTTGCGAACTAGAGATGTGCAATTGATTTCTTTCTTCTTGGCTTTTTAACTC
CCCTGTTTCAATCACTGTCTCCACACAAGGGAAGGACAGAAAGGAGAGTGGCCATTCTTTTTTTCTTG
GCCCCCTTCCAAGGCCTTAAGCTTTGGACCCAAGGAAAACGCATGGAGACGCATTTCCGTTGAGAAAT
GGAAACCACAACCTTTAACCACAACAATTTTAAAGCAATGCTGATGAATCACTGTTTTTAGACACCTT
CATTTTGAGGGGAGGAGTTCCACAGATTGTTTCTATACAAATATAAATCTTAAAAAGTTGTTCAACTAT
TTTATATCTAGATTATATCAAAGTATTTGTGCTGTGTAGAAAAAAAACAGCTCTGCAGGCTTAATA
AAAAATGACAGACTGAAA
```

5

Como se usa en este documento, el término "FOXP1" tiene su significado general en la técnica y se refiere al gen de secuencia forkhead P1. Una secuencia de ADNc típica de FOXP1 se representa por la SEQ ID NO:6.

10 SEQ ID NO:6 (FOXPI_homo sapiens)

ES 2 804 308 T3

GGGGGGTGGGCGCCAGCGCCCCGGCGAACGGCAAAGAGGGAGCCGCTCCCGCTCGGGGGCCGCTGGAG
TGCCAGCGGGAACCCGAAAGTTTGTAAAGAGGAAGAGAGCGCGCGGAGCGAGCGAGCGGGCCGGGGG
CAGCGGCAGCGGCGCCGGGGACCATGGTGTGCTGCCGGCGCCTCCTCCGCGGGCGTGAAGGCGGCGCTCCT
ACTCCCTCCCCGGACTCCGCGGTGTCCCAGAAGCTTTTGTGACAATTCCAGTTTCCGAACAAAACATT
TCGGCAATGGTGAAGGCTTCGATCCCTTCTCTGATTTGCTGTGTCAGCCATGAACGGATGGATGTGATGCC
TGCTAGCCAAAAGGCTTCCCTCTGTGTGTTGTCAGTCTGTGGCATTATGCATGCCCCCTCCCAGTGACC
CCAGGCTTTTTATGGCTGTGAGACACGTTAAAATTTTCAGGGGTAAGACGTGACCTTTTGAGGTGACTAT
AACTGAAGATTGCTTTACAGAAGCCAAAAAGGTTTTTGTAGTCATGATGCAAGAATCTGGGACTGAGAC
AAAAAGTAACGGTTCAGCCATCCAGAATGGGTCCGGCGGCAGCAACCACTTACTAGAGTGCGGCGGTCT
TCGGGAGGGGCGGTCCAACGGAGAGACGCCGGCCGTGGACATCGGGGCAGCTGACCTCGCCACGCCCA
GCAGCAGCAGCAACAGGCAC TTCAGGTGGCAAGACAGCTCCTTCTTCAGCAGCAACAGCAGCAGCAAGT
TAGTGGATTAAAATCTCCCAAGAGGAATGACAAACAACCAGCTCTTCAGGTTCCCGTGTGAGTGGCTAT
GATGACACCTCAAGTTATCACTCCCCAGCAAATGCAGCAGATCCTCCAGCAACAAGTGTGAGCCCTCA
GCAGCTCCAGGTTCTCTCCAGCAGCAGCAGGCCCTCATGCTTCAACAGCAGCAGCTTCAAGAGTTTTA
TAAAAACAACAGGAACAGTTGCAGCTTCAACTTTTACAACAACAACATGCTGGAAAACAGCCTAAAGA
GCAACAGCAGGTGGCTACCCAGCAGTTGGCTTTTCAGCAGCAGCTTTTACAGATGCAGCAGTTACAGCA
GCAGCACCTCTGTCTTTGCAGCGCCAAGGCCTTCTGACAATTCAGCCCGGGCAGCCTG**CCCTTCCCCT**
TCAACCTCTTGCTCAAGGCATGATTCCAACAGAACTGCAGCAGCTCTGGAAAAGAAGTGACAAGTGCTCA
TACTGCAGAAGAAACCACAGGCAACAATCACAGCAGTTTGGATCTGACCACGACATGTGTCTCCTCCTC
TGCACTTCCAAGACCTCCTTAATAATGAACCCACATGCCTCTACCAATGGACAGCTCTCAGTCCACAC
TCCAAAAGGGAAAAGTTTGTCCCATGAGGAGCACCCCATAGCCATCCTCTCTATGGACATGGTGTATG
CAAGTGGCCAGGCTGTGAAGCAGTGTGCGAAGATTTCCAATCATTCTAAAACATCTCAACAGTGAGCA
TGCGCTGGACGATAGAAGTACAGCCCAATGTAGAGTACAAATGCAGGTTGTACAGCAGTTAGAGCTACA
GCTTGCAAAAAGACAAAGAACGCCTGCAAGCCATGATGACCCACCTGCATGTGAAGTCTACAGAACCCAA
AGCCGCCCTCAGCCCTTGAATCTGGTATCAAGTGTCACTCTCTCCAAGTCCGCATCGGAGGCTTCTCC
ACAGAGCTTACCTCATACTCCAACGACCCCAACCGCCCCCTGACTCCCGTCACCCAAGGCCCTCTGT
CATCACAACCACCAGCATGCACACGGTGGGACCCATCCGCGAGGCGGTACTCAGACAAATACAACGTGCC
CATTTTCGTCAGCAGATATTGCGCAGAACCAAGAATTTTATAAGAACGCAGAAGTTAGACCACCATTTAC
ATATGCATCTTTAATTAGGCAGGCCATTTCTCGAATCTCCAGAAAAGCAGCTAACACTAAATGAGATCTA
TAACTGGTTCACACGAATGTTTGCTTACTTCCGACGCAACGCGGCCACGTGGAAGAATGCAGTGCCTCA
TAACTTAGTCTTACAAAGTGTGTTGTCGAGTAGAAAACGTTAAAGGGCAGTATGGACAGTGGATGA
AGTAGAATTCAAAAACGAAGGCCACAAAAGATCAGTGGTAACCCTTCCCTTATTAAAAACATGCAGAG
CAGCCACGCCTACTGCACACCTCTCAATGCAGCTTTACAGGCTTCAATGGCTGAGAATAGTATACCTCT
ATACACTACCGTTCATGGGAAATCCCACTCTGGGCAACTTAGCCAGCGCAATACGGGAAGAGCTGAA
CGGGGCAATGGAGCATACCAACAGCAACGAGAGTGACAGCAGTCCAGGCAGATCTCCTATGCAAGCCGT

ES 2 804 308 T3

GCATCCTGTACACGTCAAAGAAGAGCCCCCTCGATCCAGAGGAAGCTGAAGGGCCCCCTGTCCTTAGTGAC
AACAGCCAACCACAGTCCAGATTTTGACCATGACAGAGATTACGAAGATGAACCAGTAAACGAGGACAT
GGAGTGACTIONATCGGGGCGGGCCAACCCCGAGAATGAAGATTGGAAAAAGGAAAAAAAAAAAAACACGTC
AAAAGTTAGCAGTGAATTTGTTCTCCATTTGTTGTACAGTCTGGAGGATTTTCACTACGTTTTGACAAC
TCTGAAATGIGTTAACTCTTAGTGCCATCAAGAACCCATTTGGGAGTATTTTTGATTTTTCTACTTTT
TGTTGAAAAAGGAATTTGTACTCTGTGCATTGGATGGACTTGTTTGGTACTTGGGATTTTCTCTCTT
AACCGTCAACATCAGTGTGTAATTTGCTAACTGATTCACTTTTAGCAGCAGACTTTGAACTGCAGT
CCTGCCAACGTTGGACACTGAGGACGCCCCGACAGAGCTTGTGCACCTAAGCTGCAGACCAAGCCTTTGC
CCAGAATTTAAGGATTCCAATGGACGACCTATTTGCACAGTACTGCATGTTGATTATCACTGCCTTTAC
TCCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGCTTCCAGTTGGGATGGGGAAGGCCTTTGTGTGTGT
ATTGGGGGAGGGGTAAAAATAATTATCCCAAACTTTTAATGTATTGCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
TCCTTCTACTATACCATTTAAGTTCTGACCTCAGGCCTCCATTTGGGCCGATGGCCTCTTGAGGGCTT
AAAGTTTTCTGTACCTTGTGATGAATGTTAATAGGTGTTTTTATTATACAAAGCTGAATGTCATTTCTC
GTTTGTAGCTTTCTGTCACTCATTCCATCTTCTTCAGACATCACCACGTTTCTCTAAAGTCAGAAAAC
ATTCCGTTTTGGTCTTTTTCAAAAAGGTCCCAAATGCTGCACTCTACACATGAAGGCCCTCTCACACAG
ACGTGACGTCCTGCCAGAAAGAGAATGAATGACAGAAAAAAAAAGAGAGACAACTCTAGGAACAATG
CCGATTCATCCACGCAGCAGTATTGGGGGTGGTTCGGGGGAGGGGTGTTTCGGATTTTCTTTTTTTCT
TTTCTTTTCTTTTTTTTTTTTTTTTGCAGCAACCATTAATAAATGCCACCACATTTCTACCAGCACAAGGAAA
CATAGGCAGCACTGAAAAAAAAAAAAAGCTCATATTAATTAGACTGACAATATGGCCTTGGAAGGCTC
TCCCTTGTGGAACCAAGTTGCCATGGGCCTTGGGTGCTCTGCGATAACGGGTGTGGGTGGTTTTGTTT
GCAAAATGGCCAAAAAAAAAAAAACCGCTTCCCCGAGCAGCTGCCCTGAAAAGTAGGGGTGGCGGGCGG
CGCTGAGTTTATACATTAGTTCAGACCTACTTGGTGGCATTAACTGTTTGAATGCAAATTCGATTTCA
GATTGAACCTGTTAAGGGAGTTAACGAGGGCTGAGTTCAGCAAATGCTAAAGTGTTAATTTCAAATATG
CAAATTTGGTACTGCAGTTTGTATGCAATATTATATACCAACCCAGTATCACAAAACCTCATAGAAG
ATATCATGTAGGCCCTGGGCTTTGGGGGGTCCCAAACATGGTATGCAGAAATGTGATGGTTACAGGTC
AGTACAACCTCAGTCCTTAGAACCCCTCCACACTTCAGCTCTGCACCCACTTTCTGTCTATTTATTTAT
ATAGGACTGTAGTTTTTTTTTAGTTCGAGAGCCTTTCGAAGCTTAATTTATATTCTTTCTTTGTACCTTT
TTTCTAAATATACCAAAGATATTACACAAAGGTAATTTATGTTCTCTGTTTTATGCTTTATCTGATGAA
GCCAAATATCCTCTTATTGTTGATCAAAGGAGGCAAAGAATTTAGAGGCAAATGACAAGCGATAGGCT
ATTGCAACCTGAGAAAGAGAACTGCTCCTTCATCGTAAATTTAGAAGACCAAGTAGATAATGGAACCAA
AGTTGTTACTTTTTTCTAGTAGTTATTTTTCTTTTTCTTTTTGTGTACCTCTACAGAGACCAAACTC
ATTCTCTTAAAGAGATTTTATGGGGCTACTGCAGATAAAAAATAGGACACAATATTAAGGAGCTACAGA
AGGAAGGGAGTCCCATCTCAAAAAAAAAAATGAATGTATGCCACTGCAATTAGAGTATCCAATAAAGGAG
ACAGTTTAGAGTCAGGACAGAAAAGCTTCCATAATTGAACTAGATTACATAATAGTATTTCTAGAAAAA
GAGATATTTTTAGATTGTATGCCACTTTTGTTTAAGAAGTGTGCTGTGATCACTGTATTAATTTGGTT
TATCTTGGCATAATCCTTCAGTTTGTTTTTATTTTTAATTTTTCTTTTTTTCCGATTAGGCTTTGGT
CAGCATTTTTCATTTAAAGAAAAGTAACACTCCCATCCACTCATAAGCTTGGTACAAAACTTCTCTGG
CAGTTACTTTTGAAGCTTCACTCTGCTTTCTGTATAAAGGGCAGTCTGTGGTACGCAAGACTTTAAAA
AATTTCCAGGCAGCTTCATGATGTGCAGGCAG
TAGCCAGACAGGGTCATGGGAAGGGGGCCCTGTGCTTCTAACTGAGTGGTTGCTGGTTAGTTTGGTAT
TCAAAAGAGGATAAAAAATCTGGTAGATTAGTTTCTCAGCATGTGTAGCTAGACATGAGTAAAGATA

ES 2 804 308 T3

ACAGCATGAGAACTGTTAGTACGCATACCTCAGTTCAAACCTTTAGGGAATGATTAATAATTTAAAAA
AAAAACATTTCACTCAGTTGCACTTAGTCGTATGTCTTGCATGCTTAGTCTAAAGACTGTAGCAAAAAA
AAAAAAAAAGAAAAATTAGATTTTACATATCTTTGCAGGTATCACAGCCTTGCAGAAGAACCAACTGAA
AAAAAATTTCTCAGGCTTTACAGCAAGCAAACCTCACATGATTTTTACAATTTCTGATTCTGTATCCCC
TGGGGTTATCCCAGTTGCTTCTTTAGGATGGGGTTTATTACGTTGTACATATATCCCGATGTGTCTGT
GTGAATCTTTGTCTTTTTTGGGGGAGGGCAGAGGGCGGTTCTTTTTTTAGATATTGTTCCATAAAAAGGA
ATAAATGCATACACCTGTTTGTCAAACACCTTTGCTTTTTTGTGCAACTGCTTTATATTAACGATACTA
AAAAAATAAGCTTTGGAAAAAACTACTGTATGTAACGGAATTGCAGAATATGCTGCACATGTATTT
TATTTAGTTATCCTTGTCTTAAGAATATTGGATGACATTTCCCTGACATGTGGGAGGGAGAACTCCCTA
ACTTTTTTTTTCTGCTTTTAACTGTAACATAGTTGAAGATTTCTTTTTTCTGTTCTCATTGATTGGAG
CATTTTGTACAGTTTTTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGCGCGCGTGCCTGTGTGTTAATCTGTTTTT
TGATACATTCCTATCCCTTGTGTTTATCCTACCCTGCCTTCCCTGGCTATCTTAAACAAGTTCATACAT
TTGAAAAGAAAAAAATGTTGTTTAAAAAATGTTTTCTCCTGCTGCAGTAAATATTTTGCATGATGAA
ATTCAGGGTACACTTTTCCAAGTTTATCAGTGAAGTAGTGATTAACAATGGGGAGTGTCAAACCTAT
TGAACTTTTGTATAAAAAAAAAAACTTTACAAGGTGCCAAGATGTAAAGAAAATCTGTTACTTTTTT
TTTCTCAAAGAAAAGCATACATTAGGGAGGTAGTCCCGTGTGTGCAGACAAATGCCTGTCCAGGAATGAG
GATCCAACCTACCTGTCCCTAGAGTCCGTCTTGTAAAGATGAGTTAGGCTGCCCTTGGACCAGCCACAA
AATGGAATATCAAGGCTTATGTACATACGTGAAGAGTTACCACCAGTCCCTGCCACCTTTGGACAGCTCT
AACACCATCCCCAGCATCCAGTCAGACCTAGTAAAGAAAACCTTGGATTCTTAACCCAAGATAGGCTGT
AAATCACTAGCTTTTTTTTCCCTCATGAAAAAAATAGAGTTAAAAAATATTTCCCTCTTTTTCCATATT
CCAGCTGAACTCCGTTTCCAAGGCACAAAGAAGAGTGTGCTTATTCAGATTTTGAATCTTTTTGGTAC
CTTTTGGTTAATGACATAGCCTCCTGAAATCTGGATGTCTTCAAAGTCAGTTTTGCTTCTTTATCCTG
AAAATCAGATTTACAATGCTGAAGGCATTTCTTGGGCCAGTGTAGCTCACGCAATCTCTGCTACCCAT
AAGCCTTGATGAAGATGATACAGTCCGGACTGTGAGCATGGTGTCTCATGTATATGTGCTGCCAGTAAC
AAGAATTTTTTGTGTTTTGTTTTGTTTTGATAAGGCATAAAAGAACTCATTCCCTGACATCAAC
TGTAATTCATCATTCATGTCTGCGGATACAGACAATAAAAAAATGTTGTGTAGTCACTACTAATTA
CTGACATTATAAGCATTTCTCAAATGCAATAAAAAATGCTGGTTGTTACGCTGGTAGTAAAAGTTGCCAC
AGCCTAA

5 Como se usa en este documento, el término "TNFRSF9" tiene su significado general en la técnica y se refiere al miembro 9 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral. Una secuencia de ADNc típica de TNFRSF9 se representa por la SEQ ID NO:7.

SEQ ID NO: 7 (TNFRSF9_homo sapiens)

GTGTTTGACCTGAAGTCCCTCTCGAGCTGCAGAAGCCTGAAGACCAAGGAGTGGAAGTTCTCCGGCAGC
CCTGAGATCTCAAGAGTGACATTTGTGAGACCAGCTAATTTGATTAATAATTTCTCTTGGAAATCAGCTTGC
CTAGTATCATACTGTGCCAGATTTTCATCATGGGAAACAGCTGTTACAACATAGTAGCCACTCTGTTGC
TGTCCTCAACTTTGAGAGGACAAGATCATTGCAGGATCCTTGTAGTAACTGCCAGCTGGTACATTTCT
GTGATAATAACAGGAATCAGATTTGCAGTCCCTGTCCCTCAAATAGTTTCTCCAGCGCAGGTGGACAAA
GGACCTGTGACATATGCAGGCAGTGTAAGGTGTTTTCAGGACCAGGAAGGAGTGTTCCTCCACCAGCA

ATGCAGAGTGTGACTGCACTCCAGGGTTTCACTGCCTGGGGGCAGGATGCAGCATGTGTGAACAGGATT
 GTAAACAAGGTCAAGAACTGACAAAAAAGGTTGTAAAGACTGTTGCTTTGGGACATTTAACGATCAGA
 AACGTGGCATCTGTGACCCCTGGACAACTGTTCTTTGGATGGAAAGTCTGTGCTTGTGAATGGGACGA
 AGGAGAGGGACGTGGTCTGTGGACCATCTCCAGCCGACCTCTCTCCGGGAGCATCCTCTGTGACCCCGC
 CTGCCCCCTGCGAGAGAGCCAGGACACTCTCCGCAGATCATCTCCTTCTTTCTTGCCTGACGTCGACTG
 CGTTGCTCTTCTGCTGTTCTTCTCCTCACGCTCCGTTTCTCTGTTGTTAAACGGGGCAGAAAGAACTCC
 TGTATATATTCAAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCC
 GATTTCCAGAAGAAGAAGAGGAGGATGTGAACGTGAAATGGAAGTCAATAGGGCTGTTGGGACTTTC
 TTGAAAAGAAGCAAGGAAATATGAGTCATCCGCTATCACAGCTTTCAAAAGCAAGAACCACCTCTACA
 TAATACCCAGGATTCCCCAACACACGTTCTTTTCTAAATGCCAATGAGTTGGCCTTTAAAAATGCACC
 ACTTTTTTTTTTTTTTTTGGACAGGGTCTCACTCTGTCAACCAGGCTGGAGTGCAGTGGCACCACCATGGC
 TCTCTGCAGCCTTGACCTCTGGGAGCTCAAGTGATCCTCCTGCCTCAGTCTCCTGAGTAGCTGGAAC
 CAAGGAAGGGCCACCACACCTGACTAACTTTTTTGTTTTTTGTGGTAAAGATGGCATTTCACCATGT
 TGTACAGGCTGGTCTCAAACCTTAGGTTCACTTTGGCCTCCCAAAGTGTGGGATTACAGACATGAAC
 TGCCAGGCCCGCCAAAATAATGCACCACCTTTAACAGAACAGACAGATGAGGACAGAGCTGGTGATAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAGCATTTTCTAGATACCACCTAACAGGTTTGAGCTAGTTTTTTTTGAAATCCAAA
 GAAAATTATAGTTTAAATTCAATTACATAGTCCAGTGGTCCAACATAATTATAATCAAAATCAATGCA
 GGTTTGTTTTTTGGTGCTAATATGACATATGACAATAAGCCACGAGGTGCAGTAAGTACCCGACTAAAG
 TTTCCGTGGGTTCTGTCAATGTAACACGACATGCTCCACCGTCAGGGGGGAGTATGAGCAGAGTGCCTGA
 GTTTAGGGTCAAGGACAAAAACCTCAGGCCGAGGAAAGTTTTGGAAAGAGTTCAAGTGTCTGTATAT
 CCTATGGTCTTCTCATCCTCACACCTTCTGCCTTTGTCTGCTCCCTTTTAAGCCAGGTTACATTCTA
 AAAATCTTAACTTTTAAACATAATATTTTATACCAAAGCCAATAAATGAACTGCATATGA

Como se usa en este documento, el término "BCL6" tiene su significado general en la técnica y se refiere al gen 6 de CLL de linfocitos B/linfoma. Una secuencia de ADNc típica de BCL6 se representa por la SEQ ID NO:8.

5

SEQ ID NO: 8 (BCL6_homo sapiens)

ATACCATCGTCTTGGGCCGGGGAGGAGCCACCTTCAGGCCCTCGAGCCTCGAACCAGAACCTCC
 AAATCCGAGACGCTCTGCTTATGAGGACCTCGAAATATGCCGGCCAGTGAAAAATCTTGTGGCTTTGA
 GGGCTTTTGGTTGGCCAGGGCAGTAAAAATCTCGGAGAGCTGACACCAAGTCCCTCCCTGCCACGTAG
 CAGTGGTAAAGTCCGAAGCTCAAATTCGAGAATTGAGCTCTGTTGATTCCTTAGAACGGGGTTCTTAG
 AAGTGGTGATGCAAGAAGTTTCTAGGAAAGCCGGACACCAGGTTTTGAGCAAAATTTTGGACTGTGAA
 GCAAGGCATTGGTGAAGACAAAAATGGCCTCGCCGGCTGACAGCTGTATCCAGTTCACCCGCCATGCCAG
 TGATGTTCTTCTCAACCTTAATCGTCTCCGGAGTCGAGACATCTTGACTGATGTTGTCATTGTTGTGAG
 CCGTGAGCAGTTTAGAGCC**CATAAAACGGTCTCATGGCCTGCAG**TGGCCTGTTCTATAGCATCTTTAC
AGACCAGTTGAAATGCAACCTTAGTGTGATCAATCTAGATCCTGAGATCAACCTGAGGGATTCTGCAT
 CCTCCTGGACTTCATGTACACATCTCGGCTCAATTTGCCGGGAGGGCAACATCATGGCTGTGATGGCCAC
 GGCTATGTACCTGCAGATGGAGCATGTTGTGGACACTTGCCGGAAGTTTATTAAGGCCAGTGAAGCAGA
 GATGGTTTCTGCCATCAAGCCTCCTCGTGAAGAGTTCTCAACAGCCGGATGCTGATGCCCCAAGACAT
 CATGGCCTATCGGGTCTGAGGTGGTGGAGAACAACCTGCCACTGAGGAGCGCCCTGGGTGTGAGAG

ES 2 804 308 T3

CAGAGCCTTTGCCCCCAGCCTGTACAGTGGCCTGTCCACACCGCCAGCCTCTTATTCCATGTACAGCCA
CCTCCCTGTCAGCAGCCTCCTCTTCTCCGATGAGGAGTTTCGGGATGTCCGGATGCCTGTGGCCAACCC
CTTCCCCAAGGAGCGGGCACTCCCATGTGATAGTGCCAGGCCAGTCCCTGGTGTAGTACAGCCGGCCGAC
TTTGGAGGTGTCCCCCAATGTGTGCCACAGCAATATCTATTACCCAAGGAAACAATCCCAGAAGAGGC
ACGAAGTGATATGCACTACAGTGTGGCTGAGGGCCTCAAACCTGCTGCCCCCTCAGCCCGAAATGCCCC
CTACTTCCCTTGTGACAAGGCCAGCAAAGAAGAAGAGAGACCCTCCTCGGAAGATGAGATTGCCCTGCA
TTTCGAGCCCCCAATGCACCCCTGAACCGGAAGGGTCTGGTTAGTCCACAGAGCCCCAGAAATCTGA
CTGCCAGCCAACTCGCCACAGAGTCTGCAGCAGTAAGAATGCCTGCATCCTCCAGGCTTCTGGCTC
CCCTCCAGCCAAGAGCCCCACTGACCCCAAAGCCTGCAACTGGAAGAAATACAAGTTCATCGTGCTCAA
CAGCCTCAACCAGAATGCCAAACCAGAGGGGCCTGAGCAGGCTGAGCTGGGCCGCTTTCCCCACGAGC
CTACACGGCCCCACTGCCTGCCAGCCACCCATGGAGCCTGAGAACCTTGACCTCCAGTCCCCAACCAA
GCTGAGTGCCAGCGGGGAGGACTCCACCATCCCACAAGCCAGCCGGCTCAATAACATCGTTAACAGGTC
CATGACGGGCTCTCCCCGAGCAGCAGCGAGAGCCACTCACCCTCTACATGCACCCCCCGAAGTGCAC
GTCTGCGGCTCTCAGTCCCCACAGCATGCAGAGATGTGCCTCCACACCGCTGGCCCCACGTTCCCTGA
GGAGATGGGAGAGACCCAGTCTGAGTACTCAGATTCTAGCTGTGAGAACGGGGCCTTCTTCTGCAATGA
GTGTGACTGCCGCTTCTCTGAGGAGGCCTCACTCAAGAGGCACACGCTGCAGACCCACAGTGACAAACC
CTACAAGTGTGACCCTGCCAGGCCTCCTTCCGCTACAAGGGCAACCTCGCCAGCCACAAGACCGTCCA
TACCGGTGAGAAACCCATCGTTGCAACATCTGTGGGGCCAGTTCAACCGGCCAGCCAACCTGAAAAC
CCACACTCGAATTCACCTCTGGAGAGAAGCCCTACAAATGCGAAACCTGCGGAGCCAGATTTGTACAGGT
GGCCACCTCCGTGCCATGTGCTTATCCACACTGGTGAGAAGCCCTATCCCTGTGAAATCTGTGGCAC
CCGTTTCCGGCACCTTCAGACTCTGAAGAGCCACCTGCGAATCCACACAGGAGAGAAACCTTACCATTG
TGAGAAGTGTAACTGCATTTCCGTACAAAAGCCAGCTGCGACTTCACTTGCGCCAGAAGCATGGCGC
CATCACCAACACCAAGGTGCAATACCGCGTGTGAGCCACTGACCTGCCTCCGGAGCTCCCCAAAGCCTG
CTGAAGCATGGAGTGTGATGCTTTCGTCTCCAGCCCCCTTCTCAGAATCTACCCAAAGGATACTGTAAC
ACTTTACAATGTTTCATCCCATGATGTAGTGCCTCTTTCATCCACTAGTGCAAATCATAGCTGGGGGTTG
GGGGTGGTGGGGGTCGGGGCCTGGGGGACTGGGAGCCGCAGCAGCTCCCCCTCCCCACTGCCATAAAA
CATTAAGAAAATCATATTGCTTCTTCTCCTATGTGTAAGGTGAACCATGTCAGCAAAAAGCAAAATCAT
TTTATATGTCAAAGCAGGGGAGTATGCAAAAGTTCTGACTTACTTTAGTCTGCAAAATGAGGAATGTA
TATGTTTTGTGGGAACAGATGTTTCTTTTGTATGTAATGTGCATTCTTTTAAAAGACAAGACTTCAGT
ATGTTGTCAAAGAGAGGGCTTTAATTTTTTAAACCAAGGTGAAGGAATATATGGCAGAGTTGTAAATA
TATAAATATATATATATAAAAATAAATATATATAAACCTAAAAAGATATATTAATAAATATAAACTG
CGTTAAAGGCTCGATTTTGTATCTGCAGGCAGACACGGATCTGAGAATCTTTATTGAGAAAGAGCACTT
AAGAGAATATTTAAGTATTGCATCTGTATAAGTAAGAAAATATTTTGTCTAAAATGCCTCAGTGTATT
TGTATTTTTTTGCAAGTGAAGGTTTACAATTTACAAAGTGTGTATTAATAAAAAACAAAAAGAACAAAA
AATCTGCAGAAGGAAAAATGTGTAATTTTGTCTAGTTTTTCAGTTTTGTATATACCCGTACAACGTGTCC
TCACGGTGCCTTTTTTCACGGAAGTTTTCAATGATGGGCGAGCGTGCACCATCCCTTTTTGAAGTGTAG
GCAGACACAGGGACTTGAAGTTGTACTAACTAACTCTCTTTGGGAATGTTTGTCTCATCCATTCTG
CGTCATGCTTGTGTTATAACTACTCCGGAGACAGGGTTTGGCTGTGTCTAACTGCATTACCGCGTTGT
AAAATATAGCTGTACAAATATAAGAATAAAATGTTGAAAAGTCAAACCTGG

Como se usa en este documento, el término "TNFRSF13B" tiene su significado general en la técnica y se refiere al

miembro 13B de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral. Una secuencia de ADNc típica de TNFRSF13B se representa por la SEQ ID NO:9. TNFRSF13B también se conoce como TACI.

SEQ ID NO: 9 (TNFRSF13B_homo sapiens)

AGCATCCTGAGTAATGAGTGGCCTGGGCCGGAGCAGGCGAGGTGGCCGGAGCCGTGTGGACCAGGAGGA
 GCGCTTTCCACAGGGCCTGTGGACGGGGTGGCTATGAGATCCTGCCCCGAAGAGCAGTACTGGGATCC
 TCTGCTGGGTACCTGCATGTCTGCAAAAACATTTGCAACCATCAGAGCCAGCGCACCTGTGCAGCCTT
CTGCAGGTCACTCAGCTGCCGCAAGGAGCAAGGCAAGTTCTATGACCATCTCCTGAGGGACTGCATCAG
 CTGTGCCTCCATCTGTGGACAGCACCCCTAAGCAATGTGCATACTTCTGTGAGAACAAGCTCAGGAGCCC
 AGTGAACCTTCCACCAGAGCTCAGGAGACAGCGGAGTGGAGAAGTTGAAAACAATTCAGACAACCTCGGG
 AAGGTACCAAGGATTGGAGCACAGAGGCTCAGAAGCAAGTCCAGCTCTCCCGGGGCTGAAGCTGAGTGC
 AGATCAGGTGGCCCTGGTCTACAGCACGCTGGGGCTCTGCCTGTGTGCCGTCTCTGCTGCTTCCGTGT
 GCGGTTGGCCTGCTTCTCAAGAAGAGGGGGATCCCTGCTCTGCCAGCCCCGCTCAAGCCCCGTCA
 AAGTCCGGCCAAGTCTTCCCAGGATCACGCGATGGAAGCCGGCAGCCCTGTGAGCACATCCCCGAGCC
 AGTGGAGACCTGCAGCTTCTGCTTCCCTGAGTGCAGGGCCGCCACGCAGGAGAGCGCAGTCACGCCTGG
 GACCCCCGACCCCACTTGTGCTGGAAGGTGGGGTGGCCACACCAGGACCACAGTCTGCAGCCTTGCCC
 ACACATCCCAGACAGTGGCCTTGGCATTGTGTGTGTGCCTGCCAGGAGGGGGGGCCAGGTGCATAAAT
 GGGGGTCAGGGAGGGAAAGGAGGAGGGAGAGAGATGGAGAGGAGGGGAGAGAGAAAGAGAGGTGGGGAG
 AGGGGAGAGAGATATGAGGAGAGAGAGACAGAGGAGGCAGAGAGGGAGAGAAACAGAGGAGACAGAGAG
 GGAGAGAGAGACAGAGGGAGAGAGAGACAGAGGGGAAGAGAGGCAGAGAGGGAAAAGAGGCAGAGAAGGA
 AAGAGACAGGCAGAGAAGGAGAGAGGCAGAGAGGGAGAGAGGCAGAGAGGGAGAGAGGCAGAGAGACAG
 AGAGGGAGAGAGGGACAGAGAGAGATAGAGCAGGAGGTCCGGGGCACTCTGAGTCCCAGTTCCCAGTGCA
 GCTGTAGGTCGTCATCACCTAACACACGTGCAATAAAGTCTCTGCTGCCGTGCTGCACAGCCCCGAG
 AGCCCCCTCTCCTGGAGAATAAAACCTTTGGCAGCTGCCCTTCCTC

5

Como se usa en este documento, el término "CCND2" tiene su significado general en la técnica y se refiere al gen de ciclina D2. Una secuencia de ADNc típica de CCND2 se representa por la SEQ ID NO:10.

10

SEQ ID NO: 10 (CCND2_homo sapiens)

AGAGCGAGCAGGGGAGAGCGAGACCAGTTTTAAGGGGAGGACCGGTGCGAGTGAGGCAGCCCCGAGGCT
 CTGCTCGCCCACCACCCAATCCTCGCTCCCTTCTGCTCCACCTTCTCTCTGCCCCACCTCTCCCC
 CGAAAACCCCCTATTTAGCCAAAGGAAGGAGGTCAGGGGAACGCTCTCCCTCCCCTTCCAAAAACAA
 AAACAGAAAAACCTTTTTCCAGGCCGGGAAAGCAGGAGGGAGAGGGCCCGCGGGCTGGCCATGGAGC
 TGCTGTGCCACGAGGTGGACCCGGTCCGCAGGGCCGTGCGGGACCGCAACCTGCTCCGAGACGACCGCG
 TCCTGCAGAACCTGCTCACCATCGAGGAGCGCTACCTTCCGCAGTGTCTCTACTTCAAGTGCCTGCAGA
 AGGACATCCAACCTACATGCGCAGAATGGTGGCCACCTGGATGCTGGAGGTCTGTGAGGAACAGAAGT
 GCGAAGAAGAGGTCTTCCCTCTGGCCATGAATTACCTGGACCGTTTCTTGGCTGGGGTCCCGACTCCGA
 AGTCCCATCTGCAACTCCTGGGTGCTGTCTGCATGTTCTGGCCTCCAAACTCAAAGAGACCAGCCCCG

ES 2 804 308 T3

TGACCGCGGAGAAGCTGTGCATTTACACCGACAACCTCCATCAAGCCTCAGGAGCTGCTGGAGTGGGAAC
TGGTGGTGTCTGGGGAAGTTGAAGTGGAACCTGGCAGCTGTCACTCCTCATGACTTCATTGAGCACATCT
TGCGCAAGCTGCCCCAGCAGCGGGAGAAGCTGTCTCTGATCCGCAAGCATGCTCAGACCTTCATTGCTC
TGTGTGCCACCGACTTTAAGTTTGCCATGTACCCACCGTCGATGATCGCAACTGGAAGTGTGGGAGCAG
CCATCTGTGGGCTCCAGCAGGATGAGGAAGTGAGCTCGCTCACTTGTGATGCCCTGACTGAGCTGCTGG
CTAAGATCACCAACACAGACGTGGATTGTCTCAAAGCTTGCCAGGAGCAGATTGAGGCGGTGCTCCTCA
ATAGCCTGCAGCAGTACCGTCAGGACCAACGTGACGGATCCAAGTCGGAGGATGAACTGGACCAAGCCA
GCACCCCTACAGACGTGCGGGATATCGACCTGTGAGGATGCCAGTTGGGCCGAAAGAGAGAGACGCGTC
CATAATCTGGTCTCTTCTTTCTGGTTGTTTTTGTCTTTGTGTTTTAGGGTGAACCTTAAAAAAA
AATTCTGCCCCACCTAGATCATATTTAAAGATCTTTTAGAAGTGAGAGAAAAAGGTCTACGAAAACG
GAATAATAAAAAGCATTTGGTGCCTATTTGAAGTACAGCATAAGGGAATCCCTTGTATATGCGAACAGT
TATTGTTTGATTATGTAAAAGTAATAGTAAAATGCTTACAGGAAAACCTGCAGAGTAGTTAGAGAATAT
GTATGCCTGCAATATGGGAACAAATTAGAGGAGACTTTTTTTTTTTCATGTTATGAGCTAGCACATACAC
CCCCTTGTAGTATAATTTCAAGGAACTGTGTACGCCATTTATGGCATGATTAGATTGCAAAGCAATGAA
CTCAAGAAGGAATTGAAATAAGGAGGGACATGATGGGGAAGGAGTACAAAACAATCTCTCAACATGATT
GAACCATTTGGGATGGAGAAGCACCTTTGCTCTCAGCCACCTGTTACTAAGTCAGGAGTGTAGTTGGAT
CTCTACATTAATGTCCCTCTTGCTGTCTACAGTAGCTGCTACCTAAAAAAAAGATGTTTTATTTTGCCAGT
TGGACACAGGTGATTGGCTCCTGGGTTTCATGTTCTGTGACATCCTGCTTCTTCTTCCAAATGCAGTTC
ATTGCAGACACCACCATATTGCTATCTAATGGGGAAATGTAGCTATGGGCCATAACCAAACTCACATG
AAACGGAGGCAGATGGAGACCAAGGGTGGGATCCAGAATGGAGTCTTTTCTGTTATTGTATTTAAAAGG
GTAATGTGGCCTTGGCATTCTTCTTAGAAAAAACTAATTTTTGGTGCTGATTGGCATGTCTGGTTCA
CAGTTTAGCATTGTTATAAACCATTCATTTCGAAAAGCACTTTGAAAAATTGTTCCCGAGCGATAGATG
GGATGGTTTATGCAAGTCATGCTGAATACTCCTCCCTCTTCTTTTGCCCCCTCCCTTCTGCCCC
AGTCTGGGTTACTCTTCGCTTCTGGTATCTGGCGTTCTTTGGTACACAGTTCTGGTGTTCCTACCAGGA
CTCAAGAGACACCCCTTCTGCTGACATTCCCATCACAACATTCCTCAGACAAGCCTGTAACTAAAAT
CTGTTACCATTCTGATGGCACAGAAGGATCTTAATTCCTATCTATACTTCTCCTTTGGACATGGAAA
GAAAAGTTATGTCTGGTGCAAAGATAGATGGCTGAACATCAGGGTGTGGCATTGTTTCCCTTTTCCGT
TTTTTTTTTTTTTATTGTTGTTGTTAATTTTATTGCAAAGTTGTATTCAGCGTACTTGAATTTTTCTTCC
TCTCCACTTCTTAGAGGCATTCAGTTAGCAAAGAGGTTGGAGCAACAACCTTTTTTTTTTTTTTTGAC
AATTGTAATTGACAGGTAATGAAGCTATTTGTTAAAATATTTGCCTTTTTAAGTAAAAAGAAAAATCA
GAACAGGGCTATTTGAAGAATTATTTTATACACAGATTCTGCCTTGTTCATAGTATGAGGGTTGAAGA
CGGAAAACAATCTAAGGGTCTCTCATTTTTTTAATTTTGTGTTTTCAGTTTGGTTTTTTTTTTTTTT
GCGCTGCTAAGAAGCTAAAGTCATCCATCCTTATTCAGTTGACAGTACCTAGCTGTAATGTTTCACAG
AGTGTGCTGCTATTTTATAAACATTTTTTATAATATATTTTACTGCTTAAATTCCAAGTCTGAAGT
AGATGGTTGAGATATGAGTTCTTCGTACTGAAAAGCCCTCCGTAGTTTGTGTTTCTTCTGGTAGCATA
TTCATGGTTGTTTTTTTTTTTTTTTTTTGGTTTTTTGGTTTTTTTTTTTTTCTCTGATCACATCTTCA
AAGACGGAGTATCTTTACCTCAGGTTTACTGGACAAAATCAATAACTACAAAAGGCAATGATTCACGC
TTTTGTTTTTCATAATACCTCACAACCGTACAGTTTCTGCTTGGGAGCCCATTCGCATGAGGAATACAGA
AGCAGTGTGAGCAGGGCTGACTCCCTCTCAGGTGGAAGGCAGGGCGGTCTCACTCCCAGGGACCTTTTT
GGTCATGGAGGCCATCGGGCTCCAGTTAGACCCTGGTATCCTCATCATGATGGAAAAATACATTGAA
CCAAGGGATCCTCCCTCCCTTCAAGGCAGACGTTCAAGTACAAACATTTATGCGGTAGGCTCAGATGTC

ES 2 804 308 T3

GTAATTTGCACTTAGGTACCAGGTGTCAGGAAACAGACTAAAAAGAATTCCACCAGGCTGTTTGGAGAT
CCTCATCTTGGAGCTTTTTCAAAGCGGGGCTTCATCTGCAAAGGGCCCTTTCATCTTGAAGTTTTTCC
CCTCCGTCTTTCCCTCCCTGGCATGGACACCTTGTGTTTAGGATCATCTCTGCAGGTTTCCTAGGTC
TGAATCTGCGAGTAGATGAACCTGCAGCAAGCAGCGTTTATGGTGCTTCCTTCTCCCTCCTCTGTCTCA
AACTGCGCAGGCAAGCACTATGCAAGCCCAGGCCCTCTGCTGAGCGGTACTAAACGGTCGGGTTTTCAA
TCACACTGAATTGGCAGGATAAGAAAAATAGGTTCAGATAAGTATGGGATGATAGTTGAAGGGAGGTGAA
GAGGCTGCTTCTACAGAGGTGAAATTCCAGATGAGTCAGTCTCTTGGGAAGTGTGTTAGAAAGGTT
CAGGACTTTGTGAGTTAGCATGACCCTAAAATTCTAGGGGATTTCTGGTGGGACAATGGGTGGTGAATT
CTGAAGTTTTGGAGAGGGAAGTGGAGCAGCCAGCAAGTAAGCTAGCCAGAGTTTTCTCAAGAGCCAGCT
TTGCTCAGCACACTCTCCTGGGCCCAAGGAGTCCCACGGAATGGGGAAAAGCGGGAACCCTGGAGTTCT
TGGGAATCTTGGAGCCTAAAGAGAAACCGAGGTGCAAATTCATTTTCATGGTGACTGACCCTTGAGCTTA
AACAGAAGCAGCAAAATGAAAGAACCAGCAAAATAAGGAAGGGCACAAGCCTACCCGACTCTATTTACAG
TCTGTAACCTTCCACTCTTCTGTAGTCCCGAGGCCCTGGGTCTTCTAGCTTTTTCTCTTTCCCATCC
TTGGGGCCTTGTGTGATGATGGGTGTGGGGCTGCCGATGGGAAAAGTCGGGGGTTGTTAGGCTTTTTCTGC
CTGCTCCTGCTTAAACACAAGAAGGAATCCTGGATTTTGCCTCTCCTTAGCTCTTAGTCTCTTTGGTA
GGAGTTTTGTTCCAGAGGAGCTCTCCCCCTTGGATTTGAACTTGCTCTTTTTGTTGTTGTTGTTCTTTC
TCTTCTTTTTCTTACCTCCCACTAAAGGGGTTCCAAATTTATCCTGGTCTTTTTCTACCTTGTGTGTTT
CTATCTCGTCTTACTTCCATCTGTTTTGTTTTTTCTCCATCAGTGGGGGCCGAGTTGTTCCCCCAGCC
TGCCAAATTTTGATCCTTCCCCTCTTTTGGCCAAATCCTAGGGGGAAGAAATCCTAGTATGCCAAAAT
ATATGCTAAGCATAAATAAACTCCATGCGGGTCCATAACAGCCAAGAAGCCTGCAGGAGAAAGCCAAGG
GCAGTTCCTCCCGCAGAACACCCCATGCGTGCTGAGAGGGCAGCTCCTTGAAGAAGGGGCTGTTCTTCC
AGGAGGCCTTATTTGAACTGCCTCAGGACCCCACTGGAGAGCACAGCATGCCTTACTACTGGGTCATC
CTTGGTCTATGTCTCTGTACTGGAGGCTCTGTTCTGCCTCTTATCAGCCAGGTGAGGGGCACACATGG
CTTAAGTGACAAAGCCAGAGGAGAAGACAACCCTGACAGCATCACGCTGCATCCATTGCTAGCAGGAT
TGGCAACTCTTCCAGACGGAGCTGCGCTTCCCTGCAGTCTAGCACCTCTAGGGCCTCTCCAGACTGTGCC
CTGGGAGCTCTGGGACTGAAAGGTTAAGAACATAAGGCAGGATCAGATGACTCTCTCCAAGAGGGCAGG
GGAATTTTTCTCCTATGGGCCACAGGGGACAGGGCTGGGAGAAGAAATAGACTTGCACCTTATGTCATG
TAAATAATTGATTTTCTAGTTCAAGAAGATAATATGGTAGTGTGGGAATTGGAGGTAGGAAGGGGAGG
AAGTCTGAGTAAGCCAGTTGGCTTCTAAGCCAAAAGGATTCCTCTTTGTTTATCTCTGAGACAGTCCAA
CCTTGAGAATAGCTTTAAAAGGGAAATTAATGCTGAGATGATAAAGTCCCCTTAAGCCAACAAACCCTC
TGTAGCTATAGAATGAGTGCAGGTTTCTATTGGTGTGGACTCAGAGCAATTTACAAGAGCTGTTTCATGC
AGCCATCCATTTGTGCAAAAATAGGGTAAGAAGATTCAGAGGATATTTATTACTTCCCTCATAACCACATG
GCTTTTGATGATTCTGGATTCTAAACAACCCAGAATGGTCATTTTCAGGCACAACGATACTACATTCTGTG
TGTGTCTGCTTTTAAACTTGGCTGGGCTATCAGACCCTATTTCTCGGCTCAGGTTTTGAGAAGCCATCAG
CAAATGTGTACGTGCATGCTGTAGCTGCAGCCTGCATCCCTTCGCTGCAGCCTACTTTGGGGAAATAA
AGTGCCTTACTGACTGTAGCCATTACAGTATCCAATGTCTTTTGACAGGTGCCTGTCTTGA AAAACAA
AGTTTCTATTTTTATTTTTAATTGGTTTAGTTCTTAACCTGCTGGCCAACTCTTACATCCCCAGCAAATC
ATCGGGCCATTGGATTTTTTCCATTATGTTTCATACCCCTTATATCATGTACCTCAGATCTCTCTCTCTC
TCCTCTCTCAGTTATGTAGTTTCTTGTCTTGGACTTTTTTTTTTCTTTTCTTTTTCTTTTTTTTTTT
GCTTTAAAACAAGTGTGATGCCATATCAAGTCCATGTTATTCTCTCACAGTGTACTCTATAAGAGGTGT
GGGTGTCTGTTTGGTCAGGATGTTAGAAAGTGTGATAAGTAGCATGATCAGTGTATGCGAAAAGGTTT

ES 2 804 308 T3

TTAGGAAGTATGGCAAAAATGTTGTATTGGCTATGATGGTGACATGATATAGTCAGCTGCCTTTTAAGA
GGTCTTATCTGTTTCAGTGTTAAGTGATTTAAAAAATAATAACCTGTTTTCTGACTAGTTTAAAGATGG
ATTTGAAAATGGTTTTGAATGCAATTAGGTTATGCTATTTGGACAATAAACTCACCTTGACCT

5 Como se usa en este documento, el término "MYC" tiene su significado general en la técnica y se refiere al gen del homólogo oncogénico del virus de la mielocitomatosis aviar v-myc. Una secuencia de ADNc típica de MYC se representa por la SEQ ID NO:11.

SEQ ID NO: 11 (MYC_homo sapiens)

CTGCTCGCGGCCGCCACCGCCGGGCCCCGGCCGTCCCTGGCTCCCCCTCCTGCCTCGAGAAGGGCAGGGC
TTCTCAGAGGCTTGGCGGGAAAAAGAACGGAGGGAGGGATCGCGCTGAGTATAAAAGCCGGTTTTTCGGG
GCTTTATCTAACTCGCTGTAGTAATTCCAGCGAGAGGCAGAGGGAGCGAGCGGGCGGCCGGCTAGGGTG
GAAGAGCCGGGCGAGCAGAGCTGCGCTGCGGGCGTCTGGGAAGGGAGATCCGGAGCGAATAGGGGGCT
TCGCCTCTGGCCCAGCCCTCCCGCTGATCCCCAGCCAGCGGTCCGCAACCCCTGCCGCATCCACGAAA
CTTTGCCCATAGCAGCGGGCGGGCACTTTGCACTGGAACCTACAACACCCGAGCAAGGACGCGACTCTC
CCGACGCGGGGAGGCTATTCTGCCCATTTGGGGACACTTCCCGCCGCTGCCAGGACCCGCTTCTCTGA
AAGGCTCTCCTTGCAGCTGCTTAGACGCTGGATTTTTTTTCGGGTAGTGGAAAACCAGCAGCCTCCCGCG
ACGATGCCCTCAACGTTAGCTTCACCAACAGGAACATGACCTCGACTACGACTCGGTGCAGCCGTAT
TTCTACTGCGACGAGGAGGAGAACTTCTACCAGCAGCAGCAGCAGAGCGAGCTGCAGCCCCGGCGCCC
AGCGAGGATATCTGGAAGAAATTCGAGCTGCTGCCACCCCGCCCCGTGCCCTAGCCGCCGCTCCGGG
CTCTGCTCGCCCTCCTACGTTGCGGTACACCCCTTCTCCCTTCGGGGAGACAACGACGGCGGTGGCGGG
AGCTTCTCCACGGCCGACCAGCTGGAGATGGTGACCGAGCTGCTGGGAGGAGACATGGTGAACCAGAGT
TTCATCTGCGACCCGGACGACGAGACCTTCATCAAAAACATCATCATCCAGGACTGTATGTGGAGCGGC
TTCTCGGCCGCCCAAGCTCGTCTCAGAGAAGCTGGCCTCCTACCAGGCTGCGCGCAAAGACAGCGGC
AGCCCGAACCCCGCCCGCGGCCACAGCGTCTGCTCCACCTCCAGCTTGTACCTGCAGGATCTGAGCGCC
GCCGCTCAGAGTGATCGACCCCTCGGTGGTCTTCCCTACCTCTCAACGACAGCAGCTCGCCCAAG
TCCTGCGCCTCGCAAGACTCCAGCGCCTTCTCTCCGTCTCGGATTTCTCTGCTCTCCTCGACGGAGTCC
TCCCCGAGGGCAGCCCCGAGCCCTGGTGCTCCATGAGGAGACACCGCCACCACCAGCAGCGACTCT
GAGGAGGAACAAGAAGATGAGGAAGAAATCGATGTTGTTTTCTGTGGAAAAGAGGCAGGCTCCTGGCAA
AGGTGAGAGTCTGGATCACCTTCTGCTGGAGGCCACAGCAAACCTCCTCACAGCCACTGGTCTCTCAAG
AGGTGCCACGCTCCACACATCAGCACAACCTACGCAGCGCCTCCCTCCACTCGGAAGGACTATCCTGCT
GCCAAGAGGGTCAAGTTGGACAGTGTGAGTCTTCCAGACAGATCAGCAACAACCGAAAATGCACCAGC
CCCAGGTCCCTCGGACACCGAGGAGAAATGTCAAGAGGCGAACACACAACGCTTTGGAGCGCCAGAGGAGG
AACGAGCTAAAACGGAGCTTTTTTGGCCCTGCGTGACCAGATCCCGGAGTTGGAAAACAATGAAAAGGCC
CCCAAGGTAGTTATCCTTAAAAAAGCCACAGCATAACATCCTGTCCGTCCAAGCAGAGGAGCAAAAGCTC
ATTTCTGAAGAGGACTTGTGCGGAAACGACGAGAACAGTTGAAACACAACTTGAACAGCTACGGAAC
TCTTGTGCGTAAGGAAAAGTAAGGAAAACGATTCCTTCTAACAGAAATGTCCGAGCAATCACCTATGA
ACTTGTTCAAATGCATGATCAAATGCAACCTCACAACCTTGGCTGAGTCTTGGACTGAAAGATTTAG
CCATAATGTAAACTGCCTCAAATTTGGACTTTGGGCATAAAAGAACTTTTTTATGCTTACCATCTTTTTT
TTTTCTTTAACAGATTTGTATTTAAGAAATGTTTTTAAAAAATTTTAAGATTTACACAATGTTTCTCTG

ES 2 804 308 T3

TCCCAGCCACTTGCTTTCTTGGGAAGAAGATATTCGGGAAGTTTTAAAAGAAGAACTGGAACAGACCTA
TTCTCAAAGAGGAAGATGAACCTGCTTACAAAAGCTGCAACAAGAGAATACCGCTTCTGGGAAGAAA
GTCAGAAAATCACTAGTCTTAGATAATTGGGAAAAGAAGAATCAGGCACTCAACTGTTGACTGAAGAC
ATTTTCAGACATGCAGTCAGAAAATAGATTTACTACATCCTTATTAATGATACCATTATTGGAAATACAT
GACAATAGGTGCAACTTGATTCTGAAAAACAAGATATAAATTCACCAACAAAACATATACACTTACT
AAAAAGAAACCAAACCTAACACTTCCAAAGTTGTCAAATTTGGAAAAGAATCTTCAGTCAAATTTGTGAA
TGGGAAACAGTGGTTTATGGGAAGACAGAAGACCAACTTATTATGACTGAAACAAGCAAGAAGATATCTG
AGTACTTACACAGCTACCAGTAGTACTTCAAGAGCTCTCATACTGTAATTGTTATTTAAAATTGATGAAA
TGCCCCACTCCCTTACTGCAGTCTCTACTAAATTAGGTTGCAGTGAATTTTTCTCAATTAGTTGTTTT
TAAAGTTGTAAGATAGCCCTTTTAATACAGCATCTTTTTTCTATTCTATATAGTAGGCAGAAAGCTAGT
AAGTCACTTAAGGGGTAGATAGTTTCATAGTTTATTTTTTAAGAGATGAGATTTTTAAAATTGTTTTT
AAAGAACAAGATGGGAAAATAATAGAATGTTTCATGGATTTCTAAAAGTAAATTTCTCATATATTTTTCTC
ACAAGATATATGTTGCTACTCTCTTGATGCTGCAGTTTTGTTATAGATAGGTGTATGAGTATATATGAT
TTCTGAAATTAGTCTATGTATGGAAAGCACACATGATTTTATGAAGTACTTTTGCCCATGTGCTGATTT
ACTTAGGCTACCATTTACAAAGAAACACATTGAAAAGGAATTTAAAGGAAGGATAGAAAGTTGCACTAC
TAATTTTTTGTTTTTTTTTTCAGAAGCAGTAAAATTAACACAGTGTAAATGTATTTATTTGAGCATA
GTACTGAAAACAAAAAGCATTCAAAAAAGAGTTTTTTCTTTATTAGTAAATAGTATTTTTCTTAATCTCA
GAGGAGCTGAGAGTTTTGTTGAATGTATTGTACAGTATGTAGGAGCAGGAGAAGTTTGTAAATTGGAAA
GAAGTCTGTTTTTATAATTTATTTTTATTTTTAAAGCTTAAATGTAGATATTTATACGTATAACAGGGTG
CCTAGAAGCCAATGTTGTTTCTGTTATTACAGCTAACACAGTAAAGAATAATTTTTGACTTTAAGTATG
AAACAGTAGTAAGTTATAGCTGCAAAGAATACAATATCTATACTGTATGTCACATCTACCTAAATGTTG
CACTATGCCCTTTAAATCATGCTGGTTATAAAGTAGTTCTAAAAATGTACTAAATAATAATTTAATATT
TTCTTTTTAAATTATATCGGGGGTGGTCATATACATTAATCTGGTGATTTGTATATGTGTTTGAATTT
TTGCATTTTGTTTAAAAATAATATGGTACCTTGGTCCCTAAAAACAGTCTGCACCTTAGAAGTTTATAT
TTACTCAGTCTTTCAGAAGTGGAGAACATTATCTTTTATTTATAAAAAATTTTTGTCCTTTTTTAAATG
TTTTGTGTTTCTACAGGTTACAACAGTTGCTTCAGTTGCCTGTTTTAGGTGTTTGCACCTATTTTTAT
TTCTTCTGAAAGAATTTTTATTTGCTTTTGTGGTAGAGATTATATGTAATTTTTTTTTTCAGTCATATAA
TGGTGTGCTGTCAACTTAAACACTGACAGGTAATAGAATTGTACACTGTAGTTTGAATTATTTATAAT
TGACACACTCTCTCCCTCTCCACTCCTGAAGTATGCTGCTATAGAAAAATAGCAGAATCGGCTTGCTGCT
ACGAGAGAAGGAAAGAGCGACCACCTTGCACTGTGTGAAAAGATAAAAAACAAATGATGGCAAGTTC
TCAAGTTAACTAAATGGAATCAACCATTACCAGGCAAATTCCTTGCAAAATACAAAATACTACTATGCCT
TATAAAACAAAATGAAAGCAGGTTAAGATTTTCTGCTCTGTTTGTATGTTAATAGAAATGGAAATACTA
AGTATTTTAAATGCTTAGCTCTTGAACAGTAGACCTAAAAGGGTTTTAAGCTATTTAAATCTACTTGCTA
GTTTTTGCAATATTTTATATATATATATATATTTATATATATATATAGTGAGAAGTGAAGAAAATGTATGGT
ACTAAGATTATGCCTTATTGATAAATAGATAAACCAATTTGAATCCCTTAGCATGTTAAGTATGTTG
ATTGCTTTCTAATTAATGAACTTCTCACAGAAATTTCACTTAGTGAAACCAATGATTGTAGCAAACCTCA
TACTGGATCATTTCAAGTTACCTTGAACATAATAGCACATAATGGTTTTTTGTTGTTGTTGTTTTTAATGT
AGCCCTTACCTGGATATACATAGTCTGCAATCACCAGTATAATATCTTGTAAGGCTATATTTTTTTAA
AGCATATTTTTTCTTGAGCATTAATTTATCCTAAATGGTAATATATTTGTGGATAAGTCTGGGCTTATTG
GACATAATACATATTTGGGTTGGTACTGGTTGAATCCTTCAGTTAACTGCTTTGTTGCTTTTTTGCAAGA
TTTTTTATCTTAAACATGTCAGGCATCTTAAGTCACCTTTTACTGTTTTGTTTCTCTGAGTTTCTTTC

ES 2 804 308 T3

AGTATGTTATACAAATGCCAGACATAACATGTAGCAGCCATACTTGCATGGAACTGACTACACATACA
TAATACTGCATTTTATTTGTAAGGTTTTTCACATTAATACAGCAATTACCCTGACTAAATTGAGTTTTGTG
ATATATGGAAAACCTCATTTGTAAGAGAATCTTGCATACAATGTTGACATATTAACATCCAAAATAAAGC
ATCTGTGTACAAGCTGA

Como se usa en este documento, el término "BCL2" tiene su significado general en la técnica y se refiere al gen 2 de CLL de linfocitos B/linfoma. Una secuencia de ADNc típica de BCL2 se representa por la SEQ ID NO:13.

5

SEQ ID NO: 13 (BCL2_homo sapiens)

ACCACCTCCTTCTCCCCACCCCTCGCCGCACCACACACAGCGCGGGCTTCTAGCGCTCGGCACCCGGCGG
GCCAGGCGCGTCTGCCTTCATTTATCCAGCAGCTTTTCGGAAAATGCATTTGCTGTTTCGGAGTTTAAT
CAGAAGAGGATTCCTGCCTCCGTCCCCGGCTCCTTCATCGTCCCCTCTCCCCTGTCTCTCTCCTGGGGA
GGCGTGAAGCGGTCCCGTGGATAGAGATTCATGCCTGTGCCCGCGCGTGTGTGCGCGCGTGTAAATTGC
CGAGAAGGGGAAAACATCACAGGACTTCTGCGAATACCGGACTGAAAATTGTAATTCATCTGCCGCCG
CGCTGCCTTTTTTTTTTCTCGAGCTCTTGAGATCTCCGTTGGGATTCCTGCGGATTGACATTTCTGTG
AAGCAGAAGTCTGGGAATCGATCTGGAAATCCTCCTAATTTTTACTCCCTCTCCCCGCGACTCCTGATT
CATTGGGAAGTTTCAAATCAGCTATAACTGGAGAGTGTGAAGATTGATGGGATCGTTGCCTTATGCAT
TTGTTTTGGTTTTACAAAAGGAACTTGACAGAGGATCATGCTGTACTTAAAAAATACAACATCACAG
AGGAAGTAGACTGATATTAACAATACTTACTAATAATAACGTGCCTCATGAAATAAAGATCCGAAAGGA
ATTGGAATAAAAATTTCTGCATCTCATGCCAAGGGGAAAACACCAGAATCAAGTGTTCGCGTGATTG
AAGACACCCCTCGTCCAAGAATGCAAAGCACATCCAATAAAATAGCTGGATTATAACTCCTCTTCTTT
CTCTGGGGGCCGTGGGGTGGGAGCTGGGGCGAGAGGTGCCGTTGGCCCCGTTGCTTTTCTCTGGGAA
GGATGGCGCACGCTGGGAGAACAGGGTACGATAACCGGGAGATAGTGATGAAGTACATCCATTATAAGC
TGTGCGCAGAGGGCTACGAGTGGGATGCGGGAGATGTGGGCGCCGCGCCCCGGGGCCGCCCCCGCAC
CGGGCATCTTCTCCTCCCAGCCGGGCACACGCCCCATCCAGCCGCATCCCGGGACCCGGTCCGAGGA
CCTCGCCGCTGCAGACCCCGGTGCCCCGGCGCCGCGGGGCTGCGCTCAGCCCGGTGCCACCTG
TGGTCCACCTGACCTCCGCCAGGCCGGCGACGACTTCTCCCGCCGCTACCGCCGCGACTTCGCCGAGA
TGTCCAGCCAGCTGCACCTGACGCCCTTACC CGCGCGGGGACGCTTTGCCACGGTGGTGGAGGAGCTCT
TCAGGGACGGGGTGAACCTGGGGGAGGATTGTGGCCTTCTTTGAGTTCGGTGGGGTCATGTGTGTGGAGA
GCGTCAACCGGGAGATGTGCCCCCTGGTGGACAACATCGCCCTGTGGATGACTGAGTACCTGAACCGGC
ACCTGCACACCTGGATCCAGGATAACGGAGGCTGGGATGCCTTTGTGGAACTGTACGGCCCCAGCATGC
GGCCTCTGTTTGAATTTCTCCTGGCTGTCTCTGAAGACTCTGCTCAGTTTGGCCCTGGTGGGAGCTTGCA
TCACCTGGGTGCCATATCTGGGCCACAAGTGAAGTCAACATGCCTGCCCCAAACAAATATGCAAAGGT
TCACTAAAGCAGTAGAAATAATATGCATTGTGAGTGTGATGATGACATGAAACAAAGCTGCAGGCTGTTTAA
GAAAAATAACACACATATAACATCACACACACAGACAGACACACACACACAACAATTAACAGTCT
TCAGGCAAAACGTGCAATCAGCTATTTACTGCCAAAGGGAAATATCATTATTTTTTACATTATTAAGA
AAAAAGATTTATTTATTTAAGACAGTCCCATCAAACTCCTGTCTTTGGAAATCCGACCACTAATTGC
CAAGCACCGCTTCGTGTGGCTCCACCTGGATGTTCTGTGCCTGTAAACATAGATTTCGCTTTCCATGTTG
TTGGCCGGATCACCATCTGAAGAGCAGACGGATGGAAAAGGACCTGATCATTGGGGAAGCTGGCTTTC
TGGCTGCTGGAGGCTGGGGAGAAGGTGTTCACTTGCATTTCTTTGCCCTGGGGGCTGTGATATTA

ACAGAGGGAGGGTTCTGTGGGGGAAGTCCATGCCTCCCCTGGCCTGAAGAAGAGACTCTTTGCATATG
 ACTCACATGATGCATACCTGGTGGGAGGAAAAGAGTTGGGAACCTCAGATGGACCTAGTACCCACTGAG
 ATTTCCACGCCGAAGGACAGCGATGGGAAAAATGCCCTTAAATCATAGGAAAGTATTTTTTTAAGCTAC
 CAATTGTGCCGAGAAAAGCATTTTAGCAATTTATACAATATCATCCAGTACCTTAAGCCCTGATTGTGT
 ATATTCATATATTTTGGATACGCACCCCCCAACTCCCAATACTGGCTCTGTCTGAGTAAGAAACAGAAT
 CCTCTGGAACCTTGAGGAAGTGAACATTTTCGGTACTTCCGCATCAGGAAGGCTAGAGTTACCCAGAGCA
 TCAGGCCGCCACAAGTGCCTGCTTTTAGGAGACCGAAGTCCGCAGAACCTGCCTGTGTCCCAGCTTGGGA
 GGCTGGTCTTGAACTGAGCCGGGGCCCTCACTGGCCTCCTCCAGGGATGATCAACAGGGCAGTGTGG
 TCTCCGAATGTCTGGAAGCTGATGGAGCTCAGAATCCACTGTCAAGAAAGAGCAGTAGAGGGGTGTGG
 CTGGCCTGTCACCCTGGGGCCCTCCAGGTAGGCCCGTTTTTCACGTGGAGCATGGGAGCCACGACCCTT
 CTTAAGACATGTATCACTGTAGAGGGAAGGAACAGAGGCCCTGGGCCCTTCCATCAGAAGGACATGGT
 GAAGGCTGGGAACGTGAGGAGAGGCAATGGCCACGGCCCATTTTGGCTGTAGCACATGGCACGTTGGCT
 GTGTGGCCTTGGCCACCTGTGAGTTTAAAGCAAGGCTTTAAATGACTTTGGAGAGGGTCACAAATCCT
 AAAAGAAGCATTGAAGTGAAGTGCATGGATTAATTGACCCCTGTCTATGGAATTACATGTA AACATT
 ATCTTGTCACTGTAGTTTGGTTTTATTTGAAAACCTGACAAAAAAAAGTTCAGGTGTGGAATATGGG
 GGTATCTGTACATCCTGGGGCATTAAAAAAA

5 Como se usa en este documento, el término "MS4A1" tiene su significado general en la técnica y se refiere al miembro 1 de la subfamilia A de 4 dominios transmembranarios. Una secuencia de ADNc típica de MS4A1 se representa por la SEQ ID NO:14.

SEQ ID NO: 14 (MS4AI_homo sapiens)

ACCCTCCCAGTGTGCTTGAGAAACAACTGCACCCACTGAACTCCGCAGCTAGCATCCAAATCAGCCCT
 TGAGATTTGAGGCCCTTGAGACTCAGGAGTTTTGAGAGCAAAATGACAACACCAGAAATTCAGTAAAT
 GGGACTTTCCCGCAGAGCCAATGAAAGGCCCTATTGCTATGCAATCTGGTCCAAAACCACTCTTCAGG
 AGGATGTCTTCACTGGAACCTTGTAAATAGCTGGCATCGTTGAGAATGAATGGAAAAGAACGTGCTCCAGA
 CCCAAATCTAACATAGTTCTCCTGTCAGCAGAAGAAAAAAGAACAGACTATTGAAAATAAAGAAGAA
 GTGGTTGGGCTAACTGAAACATCTTCCCAACCAAGAATGAAGAAGACATTGAAATTTATCCAAATCCAA
 GAAGAGGAAGAAGAAGAAACAGAGACGAACCTTCCAGAACCTCCCAAGATCAGGAATCCTCACCAATA
 GAAAATGACAGCTCTCCTTAAGTGATTTCTTCTGTTTTCTGTTTTCTTTTTTAAACATTAGTGTTCATA
 GCTTCCAAGAGACATGCTGACTTTTCAATTTCTTGAGGTACTCTGCACATACGCACCACATCTCTATCTGG
 CCTTTGCATGGAGTGACCATAGCTCCTTCTCTTTACATTGAATGTAGAGAATGTAGCCATTGTAGCAG
 CTTGTGTTGTACGCTTCTTCTTTTGGAGCAACTTTCTTACTGAAAGAAAGGCAGAATGAGTGCTTCAG
 AATGTGATTTCTACTAACCTGTTCTTGGATAGGCTTTTTTAGTATAGTATTTTTTTTTTGTCAATTTCT
 CCATCAACAACCAGGGAGACTGCACCTGATGGAAAAGATATATGACTGCTTCATGACATTCCTAAACTA
 TCTTTTTTTTTATTCCACATCTACGTTTTTTGG

10 Como se usa en este documento, la expresión "secuencia de ácido nucleico diana" se refiere a una secuencia de ácido nucleico específica del gen para el que se busca la determinación del nivel de expresión (es decir, NEK6, IRF4, IGHM, CCND1, LMO2, FOXP1, TNFRSF9, BCL6, TNFRSF13B, CCND2, MYC, MYBL1, BCL2 y MS4A1). De acuerdo con la invención, la secuencia de ácido nucleico diana consiste en 2 segmentos que están sustancialmente adyacentes. Como se usa en este documento, la expresión "sustancialmente adyacente" se usa en referencia a moléculas de ácido nucleico que están en cercana proximidad entre sí.
 15

MLPA es un método bien conocido para determinar los niveles de expresión de genes en un ensayo múltiple realizado en un solo tubo. El protocolo general para MLPA se describe en Schouten, J. P. *et al.*, (2002) Nucl. Acid Res. 30, e57,

en www.mplpa.com y también puede encontrarse en la patente de los Estados Unidos n.º 6 955 901. Se diseñan sondas de MLPA que hibridan con las secuencias de ácido nucleico diana específicas para los genes de interés (es decir, NEK6, IRF4, IGHM, CCND1, LMO2, FOXP1, TNFRSF9, BCL6, TNFRSF13B, CCND2, MYC, MYBL1, BCL2, o MS4A1). Cada sonda está realmente en dos partes, de las que ambas hibridarán con el ADNc diana en cercana proximidad entre sí. Cada parte de la sonda porta la secuencia para uno de los cebadores de PCR. Solamente cuando las dos partes de la sonda de MLPA hibridan con el ADN diana en cercana proximidad entre sí, las dos partes se ligarán juntas y, por tanto, formarán un molde de ADN completo para el par de cebadores de PCR usado. Por tanto, con el ensayo de RT-MLPA de la presente invención, es posible realizar una reacción de PCR múltiple en que se cuantifican simultáneamente los niveles de expresión de al menos los 10 genes. El método, por tanto, es muy sensible.

Además, las reacciones de MLPA requieren una pequeña cantidad de ADNc. En contraste con, por ejemplo, FISH y las micromatrices BAC o incluso RT-PCR, las secuencias detectadas son pequeñas (aproximadamente 60 nucleótidos), y RT-MLPA, por tanto, está particularmente adaptada para el análisis de muestras de ARN parcialmente degradadas, por ejemplo, obtenidas de tejidos incluidos en parafina fijados con formol. En comparación con otras técnicas, una reacción de MLPA es rápida, barata y muy simple de realizar. El equipo necesario está presente en la mayoría de laboratorios de biología molecular.

El método de la presente comprende las siguientes etapas de i) preparar una muestra de ADNc a partir de la muestra de tejido tumoral, ii) incubar la muestra de ADNc de la etapa i) con una mezcla de al menos 10 pares diferentes de sondas específicas de una secuencia de ácido nucleico diana de NEK6, IRF4, IGHM, LMO2, FOXP1, TNFRSF9, BCL6, TNFRSF13B, CCND2 y MYBL1, iii) conectar (es decir, ligar) la primera sonda con la segunda sonda de las partes de sondas, iv) amplificar las sondas ligadas producidas en la etapa iii) y v) detectar y cuantificar los amplicones producidos en la etapa iv).

En algunas realizaciones, la muestra de ADNc también se incuba con un par de sondas específicas para una secuencia nucleica diana de CCND1.

En algunas realizaciones, la muestra de ADNc también se incuba con un par de sondas específicas para una secuencia nucleica diana de MS4A1.

En algunas realizaciones, la muestra de ADNc también se incuba con un par de sondas específicas para una secuencia nucleica diana de MYC.

En algunas realizaciones, la muestra de ADNc también se incuba con un par de sondas específicas para una secuencia nucleica diana de BCL2.

En algunas realizaciones, el método de la presente comprende las siguientes etapas de i) preparar una muestra de ADNc a partir de la muestra de tejido tumoral, ii) incubar la muestra de ADNc de la etapa i) con una mezcla de al menos 14 pares diferentes de sondas específicas de secuencias de ácido nucleico diana de NEK6, IRF4, IGHM, LMO2, FOXP1, TNFRSF9, BCL6, TNFRSF13B, CCND2 y MYBL1, iii) conectar (es decir, ligar) la primera sonda con la segunda sonda de las partes de sondas, iv) amplificar las sondas ligadas producidas en la etapa iii) y v) detectar y cuantificar los amplicones producidos en la etapa iv).

Típicamente, la muestra de ADNc se prepara de la siguiente manera. El ARNm contenido en la muestra de tejido tumoral se extrae de acuerdo con métodos convencionales, por ejemplo, usando enzimas líticas o soluciones químicas o se extrae mediante resinas de unión a ácido nucleico siguiendo las instrucciones del fabricante. Luego, se realiza la síntesis del ADNc de acuerdo con métodos convencionales que implican retrotranscriptasa. En algunas realizaciones, se usan cebadores hexaméricos aleatorios (en lugar de cebadores específicos de gen) para la síntesis del ADNc. Los cebadores hexaméricos aleatorios son bien conocidos en la técnica y típicamente están disponibles en el mercado en FISCHER.

De acuerdo con la invención, el par de sondas consiste en:

- una primera sonda que tiene
 - una región específica de diana (L) complementaria al primer segmento de la secuencia de ácido nucleico diana y
 - una región de cola (TL) en el extremo 5' de la región específica de diana (L) que no es complementaria a dicha secuencia de ácido nucleico diana,
- una segunda sonda que tiene
 - una región específica de diana (R) complementaria al segundo segmento de la secuencia de ácido nucleico diana y;
 - una región de cola (TR) en el extremo 3' de la región específica de diana (R) que no es complementaria a dicha secuencia de ácido nucleico diana

- Como se usa en este documento, "sonda" se refiere a una secuencia conocida de un ácido nucleico que puede unirse selectivamente a una secuencia de ácido nucleico diana. Más específicamente, el término "sonda" se refiere a un oligonucleótido diseñado para que sea suficientemente complementario a una secuencia de una hebra de un ácido nucleico que se tiene que sondear, de modo que la sonda y la hebra de ácido nucleico hibridarán en condiciones de rigurosidad seleccionadas. Típicamente, las sondas de la presente invención se sintetizan químicamente. De acuerdo con la invención, las primeras sondas y las segundas sondas pueden formar una sonda ligada después de la etapa de ligamiento (etapa iii) como se explica posteriormente en este documento. Como se usa en este documento, una "sonda ligada" se refiere al producto final de una reacción de ligamiento entre el par de sondas. Por consiguiente, las sondas están en suficiente proximidad para permitir que el extremo 3' de la primera sonda se ponga en yuxtaposición con el extremo 5' de la segunda sonda de modo que puedan ligarse mediante una enzima ligasa. En otras palabras, el extremo 5' y el extremo 3' de las dos sondas, hibridando la primera con el primer segmento y la segunda sonda con el segundo segmento, están suficientemente cerca entre sí para permitir la conexión de los extremos de ambas sondas entre sí. En algunas realizaciones, el extremo 5' terminal de la región específica de diana (R) se fosforila para permitir el ligamiento como se describe posteriormente en este documento.
- En algunas realizaciones, las regiones específicas de diana (L) y (R) del par de sondas de la presente invención son suficientemente largas para permitir la hibridación a temperaturas elevadas (por ejemplo, 60 °C). Típicamente, la longitud de la región complementaria es de al menos 20 nucleótidos.
- En algunas realizaciones, las regiones específicas de diana (L) y (R) del par de sondas de la presente invención se diseñan entre límites de exones para evitar amplificaciones indeseadas de ADN genómico durante la etapa iv).
- Las regiones específicas de diana (L) y (R) del par de sondas específicas para NEK6 se diseñan entre el exón 2 y el exón 3 de la SEQ ID NO: 1.
- Las regiones específicas de diana (L) y (R) del par de sondas específicas para IRF4 se diseñan entre el exón 6 y el exón 7 de la SEQ ID NO: 2.
- Las regiones específicas de diana (L) y (R) del par de sondas específicas para IGHM se diseñan entre el exón 2 y el exón 3 de la SEQ ID NO: 3.
- En algunas realizaciones, las regiones específicas de diana (L) y (R) del par de sondas específicas para CCND1 se diseñan entre el exón 3 y el exón 4 de la SEQ ID NO: 4.
- Las regiones específicas de diana (L) y (R) del par de sondas específicas para LMO2 se diseñan entre el exón 5 y el exón 6 de la SEQ ID NO: 5.
- Las regiones específicas de diana (L) y (R) del par de sondas específicas para FOXP1 se diseñan entre el exón 10 y el exón 11 de la SEQ ID NO: 6.
- Las regiones específicas de diana (L) y (R) del par de sondas específicas para TNFRSF9 se diseñan entre el exón 3 y el exón 4 de la SEQ ID NO: 7.
- Las regiones específicas de diana (L) y (R) del par de sondas específicas para BCL6 se diseñan entre el exón 3 y el exón 4 de la SEQ ID NO: 8.
- Las regiones específicas de diana (L) y (R) del par de sondas específicas para TNFRSF13B se diseñan entre el exón 2 y el exón 3 de la SEQ ID NO: 9.
- Las regiones específicas de diana (L) y (R) del par de sondas específicas para CCND2 se diseñan entre el exón 1 y el exón 2 de la SEQ ID NO: 10.
- En algunas realizaciones, las regiones específicas de diana (L) y (R) del par de sondas específicas para MYC se diseñan entre el exón 1 y el exón 2 de la SEQ ID NO: 11.
- Las regiones específicas de diana (L) y (R) del par de sondas específicas para MYBL1 se diseñan entre el exón 10 y el exón 11 de la SEQ ID NO: 12.
- En algunas realizaciones, las regiones específicas de diana (L) y (R) del par de sondas específicas para BCL2 se diseñan entre el exón 1 y el exón 2 de la SEQ ID NO: 13.
- En algunas realizaciones, las regiones específicas de diana (L) y (R) del par de sondas específicas para MS4A1 se diseñan entre el exón 5 y el exón 6 de la SEQ ID NO: 14.
- El par de sondas específicas para NEK6 consiste en una primera sonda que tiene su región específica de diana (L) como se expone por la SEQ ID NO:15 (CCTGTGCATCCTCCTGACCCACAG) y una segunda sonda que tiene su

región específica de diana (R) como se expone por la SEQ ID NO:16 (AGGCATCCCAACACGCTGTCTTT).

El par de sondas específicas para IRF4 consiste en una primera sonda que tiene su región específica de diana (L) como se expone por la SEQ ID NO:17 (CTGCCGAAGCCTTGGCGTTCTCAG) y una segunda sonda que tiene su
5 región específica de diana (R) como se expone por la SEQ ID NO:18 (ACTGCCGGCTGCACATCTGCCTGTA).

El par de sondas específicas para IGHM consiste en una primera sonda que tiene su región específica de diana (L) como se expone por la SEQ ID NO:19 (GCGTCCTCCATGTGTGGCCCCG) y una segunda sonda que tiene su región
10 específica de diana (R) como se expone por la SEQ ID NO:20 (ATCAAGACACAGCCATCCGGGTCTTC).

En algunas realizaciones, el par de sondas específicas para CCND1 consiste en una primera sonda que tiene su región específica de diana (L) como se expone por la SEQ ID NO:21 (ACCTTCGTTGCCCTCTGTGCCACAG) y una
15 segunda sonda que tiene su región específica de diana (R) como se expone por la SEQ ID NO:22 (ATGTGAAGTTCATTTCCAATCCGCCCT).

El par de sondas específicas para LMO2 consiste en una primera sonda que tiene su región específica de diana (L) como se expone por la SEQ ID NO:23 (CGGAAGCTCTGCCGGAGAGACTATCTCAG) y una segunda sonda que tiene
20 su región específica de diana (R) como se expone por la SEQ ID NO:24 (GCTTTTTGGCAAGACGGTCTCTGC).

El par de sondas específicas para FOXP1 consiste en una primera sonda que tiene su región específica de diana (L) como se expone por la SEQ ID NO:25 (CCCTTCCCCTTCAACCTCTTGCTCAAG) y una segunda sonda que tiene su
25 región específica de diana (R) como se expone por la SEQ ID NO:26 (GCATGATTCCAACAGAACTGCAGCAGC).

El par de sondas específicas para TNFRSF9 consiste en una primera sonda que tiene su región específica de diana (L) como se expone por la SEQ ID NO:27 (GGACCTGTGACATATGCAGGCAGTGTAAG) y una segunda sonda que
30 tiene su región específica de diana (R) como se expone por la SEQ ID NO:28 (GTGTTTTCAGGACCAGGAAGGAGTGTTCC).

El par de sondas específicas para BCL6 consiste en una primera sonda que tiene su región específica de diana (L) como se expone por la SEQ ID NO:29 (CATAAAACGGTCCCTCATGGCCTGCAG) y una segunda sonda que tiene su
35 región específica de diana (R) como se expone por la SEQ ID NO:30 (TGGCCTGTTCTATAGCATCTTTACAGACCAGTTG).

El par de sondas específicas para TNFRSF13B consiste en una primera sonda que tiene su región específica de diana (L) como se expone por la SEQ ID NO:31 (GCGCACCTGTGCAGCCTTCTGCA) y una segunda sonda que tiene su
40 región específica de diana (R) como se expone por la SEQ ID NO:32 (GGTCACTCAGCTGCCGCAAGGAGC).

El par de sondas específicas para CCND2 consiste en una primera sonda que tiene su región específica de diana (L) como se expone por la SEQ ID NO:33 (GACCTTCATTGCTCTGTGTGCCACCG) y una segunda sonda que tiene su
45 región específica de diana (R) como se expone por la SEQ ID NO:34 (ACTTTAAGTTTGCCATGTACCCACCGTCGA).

En algunas realizaciones, el par de sondas específicas para MYC consiste en una primera sonda que tiene su región específica de diana (L) como se expone por la SEQ ID NO:35 (TCGGGTAGTGAAAACAGCAGCCTC) y una
50 segunda sonda que tiene su región específica de diana (R) como se expone por la SEQ ID NO:36 (CCGCGACGATGCCCTCAACGTTA).

El par de sondas específicas para MYBL1 consiste en una primera sonda que tiene su región específica de diana (L) como se expone por la SEQ ID NO:37 (CCAGAAATTTGCAGAGACTCTAGAATTATTGAATCT) y una segunda sonda
55 que tiene su región específica de diana (R) como se expone por la SEQ ID NO:38 (GATCCTGTAGCATGGAGTGACGTTACCAGTTTT).

En algunas realizaciones, el par de sondas específicas para BCL2 consiste en una primera sonda que tiene su región específica de diana (L) como se expone por la SEQ ID NO:39 (CCTGGATCCAGGATAACGGAGGCTGG) y una
60 segunda sonda que tiene su región específica de diana (R) como se expone por la SEQ ID NO:40 (GATGCCTTTGTGGAAGTGTACGGCC).

En algunas realizaciones, el par de sondas específicas para MS4A1 consiste en una primera sonda que tiene su región específica de diana (L) como se expone por la SEQ ID NO:41 (TTCTTCATGAGGGAATCTAAGACTTTGGGG) y una
65 segunda sonda que tiene su región específica de diana (R) como se expone por la SEQ ID NO:42 (GCTGTCCAGATTATGAATGGGCTCTTCCAC).

De acuerdo con la invención, la región de cola TR y la secuencia del complemento inverso o la región de cola TL de las sondas se diseñan de modo que puedan hibridar con un cebador.

En algunas realizaciones, las regiones de cola (TL) y (TR) pueden ser de cualquier tamaño, y típicamente comprenden una secuencia de ácido nucleico con una longitud de al menos 15 nucleótidos.

5 En algunas realizaciones, la región de cola (TL) de las primeras sondas es idéntica para cada par de sondas y las regiones de cola (TR) de la segunda sonda son también idénticas para cada par de sondas de modo que la amplificación de los ensamblajes de cebadores durante la etapa iv) se realiza con solamente un par de cebadores y, por tanto, excluyendo cualquier sesgo en la amplificación de las sondas debido a las diferencias de secuencia en los cebadores.

10 En algunas realizaciones, los pares de sondas de la presente invención comprenden primeras sondas que tienen la misma región de cola (TL) como se expone por la SEQ ID NO:43 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGA).

En algunas realizaciones, los pares de sondas de la presente invención comprenden segundas sondas que tienen la misma región de cola (TR) como se expone por la SEQ ID NO:44 (TCCAACCCTTAGGGAACCC).

15 En algunas realizaciones, las sondas de la presente invención comprenden una región espaciadora colocada entre la región específica de diana y la región de cola. La región espaciadora puede ser de cualquier tamaño, y típicamente comprende un ácido nucleico con una longitud de al menos 1 nucleótido (por ejemplo, A, C, T o G). Variando el tamaño de la región espaciadora, se pueden diseñar fácilmente sondas que comprenden la misma capacidad de hibridación (en las que la longitud de la región de complementariedad con la secuencia de ácido nucleico diana y el contenido de CG/AT se ajustan entre sí), mientras aún pueden discriminar los amplicones resultantes por tamaño. En algunas realizaciones, la región espaciadora comprende una pluralidad de repeticiones trinucleotídicas (por ejemplo, repeticiones TAC). Las regiones espaciadoras son de particular interés en la amplificación múltiple como se explica posteriormente en este documento para permitir la discriminación de los diferentes amplicones que pueden resultar de dicha amplificación. La discriminación se conseguirá, de hecho, porque el tamaño de cada amplicón que puede producirse es diferente.

25 En algunas realizaciones, la región espaciadora se selecciona del grupo que consiste en TAC (SEQ ID NO: 45), TACT (SEQ ID NO:46), TACTA (SEQ ID NO:47), TACTACT (SEQ ID NO:48), TACTACTACT (SEQ ID NO:49), TACTACTACTA (SEQ ID NO:50), TACTACTACTAC (SEQ ID NO:51), TACTACTACTACTA (SEQ ID NO:52) y TACTACTACTACTACT (SEQ ID NO:53).

30 El par de sondas específicas para NEK6 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:54 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGACCTGTGCATCCTCCTGACCCACAG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:55 (AGGCATCCAACACGCTGTCTTTTCCAACCCTT AGGGAACCC).

35 El par de sondas específicas para IRF4 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:56 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATCTGCCGAAGCCTTGCGTTCCTCAG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:57 (ACTGCCGGCTGCACATCTGCCTGT ATCCAACCCTT AGGGAACCC).

40 El par de sondas específicas para IGHM consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:58 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATGCGTCCTCCATGTGTGGCCCCG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:59 (ATCAAGACACAGCCATCCGGTCTTCTACTATCCAACCCTTAGGGAACCC).

45 En algunas realizaciones, el par de sondas específicas para CCND1 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:60 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATACCTTCGTTGCCCTCTGTGCCACAG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:61 (ATGTGAAGTTCATTTCCAATCCGCCCTTACTTCCAACCCTTAGGGAACCC).

50 El par de sondas específicas para LMO2 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:62 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGACGGAAGCTCTGCCGGAGAGACTATCTCAG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:63 (GCTTTTTGGGCAAGACGGTCTCTGCTACTATCCAACCCTTAGGGAACCC).

El par de sondas específicas para FOXP1 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:64 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGACCCTTCCCCTTCAACCTCTTGCTCAAG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:65 (GCATGATCCAACAGAAGTGCAGCAGCTACTACTACTCCAACCCTTAGGGAACC C).

55 El par de sondas específicas para TNFRSF9 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:66 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATACGGACCTGTGACATATGCAGGCAGTGTAAG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:67 (GTGTTTTCAGGACCAGGAAGGAGTGTCTACTCCAACCCTT AGGGAACCC).

60 El par de sondas específicas para BCL6 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:68 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATACTACTACTATAAAACGGTCCTCATGGCCTGC AG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:69 (TGGCCTGTTCTATAGCATCTTTACAGACCAGTTGTCCAACCCTTAGGGAACCC).

65 El par de sondas específicas para TNFRSF13B consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:70 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATACTACTACTACTAGCGCACCTGTGCAGCCTTCTG CA) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:71 (GGTCACTCAGCTGCCGCAAGGAGCTACTACTACTACTCCAACCCTTAGGGAACC C).

El par de sondas específicas para CCND2 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:72 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATACTACTGACCTTCATTGCTCTGTGTGCCACC G) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:73 (ACTTTAAGTTTGCCATGTACCCACCGTCGATACTACTATCCAACCCTTAGGGAAC CC).

5 En algunas realizaciones, el par de sondas específicas para MYC consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:74 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATACTACTTCCGGTAGTGAAAAACCAGCA GCCTC) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:75 (CCGCGACGATGCCCTCAACGTTATACTACTACTACTATCCAACCCTTAGGGAAC CC).

10 El par de sondas específicas para MYBL1 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:76 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGACCAGAATTTGCAGAGACTCTAGAACTTATTG AATCT) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:77 (GATCCTGTAGCATGGAGTGACGTTACCAGTTTTTACTACTTCCAACCCTTAGGGA ACCC).

15 En algunas realizaciones, el par de sondas específicas para BCL2 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:78 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATACTACTACTACCCTGGATCCAGGATAACGG AGGCTGG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:79 (GATGCCTTTGTGGAAGTGTACGGCCTACTACTACTACTTCCAACCCTTAGGG AACCC).

20 En algunas realizaciones, el par de sondas específicas para MS4A1 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:80 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATACTACTACTATTCTTCATGAGGGAATCTAAG ACTTTGGGG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:81 (GCTGTCCAGATTATGAATGGGCTCTCCACTACTACTACTATCCAACCCTTAGGG AACCC).

25 En algunas realizaciones, la muestra de ADNc también se está incubando con una mezcla de sondas competidoras.

Como se usa en este documento, la expresión "sonda competidora" se refiere a una sonda específica para la secuencia de ácido nucleico diana, en la que la sonda no contiene una región de cola como se define anteriormente. La sonda competidora es adecuada para normalizar las señales de amplificación de la secuencia de ácido nucleico diana durante la etapa de amplificación de la presente invención.

30 En algunas realizaciones, la muestra de ADNc también se incuba con al menos una sonda competidora específica para NEK6 o IRF4.

35 En algunas realizaciones, la muestra de ADNc se incuba con una sonda competidora específica para NEK6. En algunas realizaciones, la muestra de ADNc se incuba con una sonda competidora específica para NEK6 que es la SEQ ID NO:82 (AGGCATCCCAACACGCTGTCTTT).

40 En algunas realizaciones, la muestra de ADNc se incuba con una sonda competidora específica para IGHM. En algunas realizaciones, la muestra de ADNc se incuba con una sonda competidora específica para IGHM que es la SEQ ID NO:83 (ATCAAGACACAGCCATCCGGGTCTTC).

45 En algunas realizaciones, la muestra de ADNc se incuba con los pares de sondas específicas para los cinco genes GCB (LMO2, MYBL1, BCL6, NEK6, TNFRSF9) y los cinco genes ABC (IRF4, FOXP1, IGHM, TNFRSF13B, CCND2) y 2 sondas competidoras para NEK6 e IGHM.

50 En algunas realizaciones, la muestra de ADNc se incuba con los pares de sondas específicas para los cinco genes GCB (LMO2, MYBL1, BCL6, NEK6, TNFRSF9), los cinco genes ABC (IRF4, FOXP1, IGHM, TNFRSF13B, CCND2), los 2 genes pronósticos (MYC y BCL2) y los 2 genes de control (CCND1 y MS4A1) y las 2 sondas competidoras para NEK6 e IGHM.

55 En algunas realizaciones, la muestra de ADNc se incuba con las secuencias de ácido nucleico SEQ ID NO:54-73 (sondas específicas para LMO2, MYBL1, BCL6, NEK6, TNFRSF9, IRF4, FOXP1, IGHM, TNFRSF13B, CCND2, MYC, BCL2, CCND1 y MS4A1) y con los ácidos nucleicos SEQ ID NO:82-83 (sondas competidoras para NEK6 e IGHM).

Típicamente, las sondas del mismo par de sondas están presentes en la mezcla en cantidades sustancialmente iguales, aunque dichas cantidades pueden diferir entre sí, por ejemplo, dependiendo de las características de hibridación de las regiones específicas de diana con la secuencia de ácido nucleico diana.

60 Típicamente, la cantidad de sondas en la mezcla es de menos de 10 femtomoles. En algunas realizaciones, la cantidad de las sondas en la mezcla es de aproximadamente 3 femtomoles.

En algunas realizaciones, la relación molar entre las sondas y la correspondiente sonda competidora varía de 1 a 4.

65 De acuerdo con la invención, la muestra de ADNc se incuba con los pares de sondas y opcionalmente con las sondas competidoras durante un tiempo suficiente para permitir la hibridación de las sondas con las 14 secuencias de ácido

nucleico diana.

Típicamente, la hibridación de las sondas con las secuencias de ácido nucleico diana es más rápida en tampones de elevada fuerza iónica. La concentración salina del tampón tiene que reducirse, sin embargo, a menos de aproximadamente 150 mM después de la reacción de hibridación para una actividad ligasa óptima. La inclusión de determinados productos químicos tales como polímeros de polietilenglicol o proteínas tales como BSA puede aumentar tanto la actividad de ligamiento, así como la velocidad de hibridación de la sonda y no interfiere por debajo de determinados límites con las reacciones de ligamiento y amplificación. De acuerdo con la invención, es posible obtener una llamada "reacción en un tubo" mediante selección cuidadosa de las condiciones de reacción de hibridación, ligamiento y amplificación.

La duración de la hibridación de la sonda es muy importante. Algunas sondas hibridarán más rápido que otras. Esto se debe a una diferencia en la longitud de la secuencia de hibridación; la presencia o ausencia de regiones con un elevado % de G/C (pinzas de GC); la estructura secundaria de las sondas y/o la secuencia de ácido nucleico diana, etc. De acuerdo con la invención, debe tenerse cuidado de que la hibridación de cada sonda sea completa, o de que la hibridación de ninguna de las sondas sea completa. La hibridación de las sondas con las secuencias de ácido nucleico diana depende de la concentración y se realiza típicamente en un pequeño volumen del orden de 8 µl y a temperaturas de 50-65 °C para evitar la hibridación de las sondas con dianas no específicas. Para evitar la evaporación, se prefiere el uso de un termociclador con tapa calentada.

En algunas realizaciones, la muestra de ADNc se incuba con los pares de sondas y opcionalmente con la sonda competidora durante aproximadamente 60 min, pero también puede ser conveniente un tiempo más largo.

Típicamente, la etapa de ligamiento (iii) se realiza con una ligasa de ácido nucleico termoestable activa a temperaturas de 50 °C o mayores, pero que puede inactivarse rápidamente por encima de aproximadamente 95 °C. Una vez las sondas se han conectado, se prefiere que no haya esencialmente nada de actividad conectora presente durante la amplificación, ya que esto no es necesario y únicamente puede introducir ambigüedad en el método. Como las etapas de amplificación posteriores habitualmente requieren desnaturalización repetida del ácido nucleico de molde a temperaturas por encima de 95 °C, se prefiere eliminar la actividad conectora a través de dicha incubación térmica. Para evitar la hibridación de las sondas con secuencias únicamente complementarias parcialmente, se recomienda particularmente realizar la reacción de ligamiento a temperaturas de al menos 50 °C. La presente invención, por lo tanto, proporciona en un aspecto un método en el que el ligamiento de las sondas hibridadas con el ácido nucleico diana se realiza mediante una enzima de ligamiento de ácido nucleico termoestable, es decir, con una actividad óptima mayor de al menos 50 °C, en condiciones adecuadas, en el que al menos un 95 % de la actividad de ligamiento de dicha enzima de ligamiento se inactiva incubando dicha muestra, por ejemplo, durante 10 minutos a una temperatura de aproximadamente 95 °C.

Típicamente, la ligasa se selecciona del grupo que consiste en ADN ligasas. Las ADN ligasas son enzimas que pueden formar un enlace fosfato covalente entre dos oligonucleótidos unidos en sitios adyacentes en una hebra complementaria. Estas enzimas usan NAD o ATP como cofactor para cerrar las mellas en ADNbc. Como alternativa, puede usarse autoligamiento químico de los extremos de ADN modificados para ligar dos oligonucleótidos unidos en sitios adyacentes en una hebra complementaria (Xu, Y. y Kool, E. T. (1999), *Nucleic Acid Res.* 27, 875-881). Tanto el ligamiento químico, así como el enzimático, es mucho más eficaz sobre complejos de sonda-ácido nucleico diana perfectamente coincidentes en comparación con los complejos en que uno o los dos oligonucleótidos forman un emparejamiento incorrecto con el ácido nucleico diana en, o cerca del sitio de ligamiento (Wu, D. Y. y Wallace, R. B. (1989) *Gene*, 76, 245-254; Xu, Y. y Kool, E. T. (1999), *Nucleic Acid Res.* 27, 875-881).

En algunas realizaciones, se usa una ligasa que permanece activa a 50-65 °C durante tiempos prolongados, pero que puede inactivarse fácilmente a las mayores temperaturas usadas durante una reacción de PCR. Las únicas ligasas disponibles en el mercado actualmente son enzimas que funcionan únicamente a temperaturas por debajo de 50 °C, tal como la ADN ligasa codificada por *E. coli* y por el fago T4, y las enzimas termoestables que tienen una semivida de más de 30 minutos a temperaturas de 95 °C, tal como la ADN ligasa codificada por *Thermus aquaticus*. Por ejemplo, la ligasa es "ligasa 65" que está disponible en el mercado en MRC Holland. La ligasa 65 es activa a 60-65 °C. En contraste con la ADN ligasa Tth y Taq, sin embargo, la actividad de la ligasa 65 se destruye en más de un 90 % por incubación en el tampón de reacción óptimo durante 10 minutos a 95 °C.

La etapa de ligamiento habitualmente se realiza en un volumen relativamente pequeño de 40 µl, aunque volúmenes más grandes, así como un aumento del volumen de la mezcla de reacción en etapas de reacción posteriores, se toleran.

En algunas realizaciones, la duración de la etapa de ligamiento varía de 10 min a 30 min. Típicamente, la duración de la etapa es de aproximadamente 15 min.

De acuerdo con la invención, la amplificación se inicia incubando la muestra con una cantidad de un primer cebador (U1) específico para la región de cola (TL) y una cantidad de un segundo cebador (U2) específico para la región de cola (TR).

Como se usa en este documento, el término "cebador" se refiere a un oligonucleótido, ya sea de origen natural como en una digestión de restricción purificada o producido sintéticamente, que puede actuar como punto de inicio de la síntesis de secuencias de ácido nucleico cuando se coloca en condiciones en que se induce la síntesis de un producto de prolongación de cebador que es complementario a una hebra de ácido nucleico, es decir, en presencia de diferentes trifosfatos nucleotídicos y una polimerasa en un tampón apropiado ("tampón" incluye pH, fuerza iónica, cofactores etc.) y a una temperatura adecuada. Uno o más de los nucleótidos del cebador pueden modificarse, por ejemplo, por adición de un grupo metilo, un resto de biotina o digoxigenina, una marca fluorescente o usando nucleótidos radioactivos. Una secuencia cebadora no tiene que reflejar la secuencia exacta del molde. Por ejemplo, un fragmento de nucleótidos no complementario puede fijarse al extremo 5' del cebador, siendo el resto de la secuencia cebadora sustancialmente complementario a la hebra.

En algunas realizaciones, el par de cebadores es ILLU1 (SEQ ID NO: 84) (GGGTTCCCTAAGGGTTGGA) e ILLU2 (SEQ ID NO: 85) (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGA).

Típicamente, el cebador (por ejemplo, ILLU2) de la presente invención se marca en su extremo 5' con un fluoróforo. Los fluoróforos adecuados incluyen, aunque sin limitación, 5- o 6-carboxifluoresceína (FAM™); Alexa Fluor 405, 430, 488, 532, 546, 555, 568, 594, 633, 647 o 660; Cy2; Cy3; Cy3.5; Cy5; Cy5.5; Cy7; hidroxycumarina; metoxicumarina; aminocumarina; fluoresceína; HEX; R-ficoeritrina; rodamina Red-X; ROX; Red 613; Texas Red; alofococianina; TruRed; BODIPY 630/650; BODIPY 650/665; BODIPY-FL; BODIPY-R6G; BODIPY-TMR; BODIPY-TRX; carboxifluoresceína; Cascade Blue; 6-JOE; lisamina rodamina B; Oregon Green 488, 500 o 514; Pacific Blue; REG; verde de rodamina; SpectrumAqua; TAMRA; TET; y tetrametilrodamina.

Como se usa en este documento, "amplificación" se refiere al aumento en el número de copias de un ácido nucleico particular. Las copias de un ácido nucleico particular preparado *in vitro* en una reacción de amplificación se denominan "amplicones" o "productos de amplificación".

Por consiguiente, después de la reacción de ligamiento, la sonda ligada puede amplificarse con el uso de dos cebadores, dNTP y una polimerasa, siendo un cebador complementario a una secuencia de la región de cola y correspondiendo el otro cebador a la secuencia de la segunda región de cola.

Como se explica anteriormente, aunque es posible que la primera sonda de un par diferente de sondas tenga diferentes secuencias de la región de cola, lo que implica que tiene que usarse una pluralidad de primeros cebadores diferentes en la etapa de amplificación, es muy preferido que las primeras regiones de cola de las primeras sondas del par diferente de sondas sean idénticas, de modo que tenga que usarse solamente un primer cebador en la reacción de amplificación. Por tanto, puede evitarse completamente un sesgo en la amplificación debido a una diferencia en la secuencia de diferentes cebadores usados para la amplificación, provocando una amplificación sustancialmente uniforme para todos los ensamblajes de sonda. De acuerdo con la invención, sin embargo, también es posible que varias primeras sondas de ácido nucleico comprendan la misma región de cola, primeras que las primeras sondas que pertenecen a otro par de sondas pueden comprender otra primera región de cola.

El método preferido para la amplificación es PCR. Las condiciones típicas incluyen un tiempo de elongación suficientemente largo y la presencia de una concentración mayor de polimerasa Taq que en reacciones normales de PCR. También pueden usarse otros métodos de amplificación distintos de PCR, tales como NASBA o 3SR (Guatelli *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874-1878, 1990) en combinación con la presente invención.

En algunas realizaciones, la ligasa y la polimerasa se añaden simultáneamente y en las que la ligasa es activa a temperaturas moderadas y se inactiva a altas temperaturas, mientras la polimerasa se activa solamente después de la etapa de calentamiento.

Como la composición del tampón durante la reacción de ligamiento es muy similar a un tampón de PCR convencional, es posible usar el volumen completo de la reacción de ligamiento e iniciar la reacción de amplificación mediante la adición de cebadores, dNTP, una pequeña cantidad de un detergente no iónico tal como Triton X-100 al 0,01 % y una polimerasa termoestable tal como polimerasa Taq. La presencia de otros compuestos tales como betaína, se sabe que mejora algunas reacciones de amplificación por PCR múltiple y no inhiben gravemente la reacción de ligamiento.

Para la mayoría de experimentos, es ventajoso usar condiciones de PCR que eviten el sesgo en la amplificación de algunos amplicones. A este respecto es importante que las concentraciones de los amplicones durante las últimas fases de la reacción de amplificación no alcancen concentraciones muy elevadas. Esto puede conseguirse usando solamente cantidades bajas de uno de los cebadores de PCR. Un sesgo en la amplificación de algunos amplicones se deberá a una cinética de renaturalización más rápida de algunos amplicones después de cada ciclo de desnaturalización y el desplazamiento de los cebadores de PCR por la hebra complementaria del amplicón. A este respecto es importante también la naturaleza del primer nucleótido después del cebador de PCR, siendo G o C el primer nucleótido preferido. Este desplazamiento puede reducirse cuando se usan cebadores de PCR que contienen uno o más residuos de ACB en su extremo 3'. Los residuos de ANB (ácido nucleico bloqueado) tienen una termoestabilidad mejorada de las dobles hebras hacia hebras de ADN complementarias (Wahlestedt, C. *et al.*

Proc.Natl.Acad.Sci.USA 97, 5633-38).

En algunas realizaciones, es ventajoso usar condiciones de PCR que promuevan la amplificación de moldes infrecuentes en comparación con la amplificación de moldes más abundantes para obtener amplificaciones de intensidad casi igual para las diferentes secuencias diana de ácido nucleico. Estas condiciones de PCR típicamente incluyen: (1) El uso de concentraciones salinas mayores que promueven la hibridación de hebras complementarias y reducen la actividad polimerasa; (2) Altas concentraciones de cebadores (3) Temperaturas reducidas de hibridación/prolongación durante los últimos ciclos de PCR; (4) Aditivos al tampón de PCR tales como betaina y DMSO.

Típicamente, la relación molar entre el cebador y la sonda es preferiblemente de al menos 200, más preferiblemente de al menos 500, incluso más preferiblemente de al menos 1000 y mucho más preferiblemente de al menos 2000. Cuanto mayor sea dicha relación, más conjuntos de cebadores diferentes podrán usarse para la detección de un número correspondiente de diferentes amplicones. Sin embargo, como se indica anteriormente, tienen que evitarse las reacciones de amplificación inespecíficas como resultado de altas concentraciones de cebador. Con eso, la concentración de cebador preferiblemente está por debajo de 50 pmoles, más preferiblemente por debajo de 20 pmoles en un volumen de reacción de 10-100 µl. La etapa de amplificación se realiza habitualmente en un volumen de 20-150 µl; para esto, el volumen opcionalmente más pequeño de la mezcla de reacción en la etapa de ligamiento se completa habitualmente hasta el volumen deseado para la amplificación añadiendo los ingredientes adicionales para la reacción de amplificación.

En algunas realizaciones, la duración de la etapa de amplificación varía de 60 min a 120 min. Típicamente, la duración de la etapa es de aproximadamente 90 min.

Puede usarse cualquier método bien conocido en la técnica para detectar y cuantificar la cantidad de los amplicones. Típicamente, se usan cebadores fluorescentes junto con un sistema de detección de fluorescencia. La detección de la fluorescencia durante el proceso de termociclado puede realizarse, por ejemplo, con el uso de un analizador de electroforesis capilar. En la electroforesis capilar, se examinan las longitudes de los amplicones permitiendo que migren a través de un tubo delgado relleno de gel y midiendo el periodo de tiempo requerido para que la muestra migre una determinada distancia (por ejemplo, hasta el final de un capilar). Tras la electroforesis capilar, se habitual detectar el amplicón usando un detector de señales de fluorescencia que se instala al final de un capilar. Los aparatos para realizar electroforesis capilar son bien conocidos. Hay muchas referencias disponibles que describen el aparato básico y varios instrumentos de electroforesis capilar están disponibles en el mercado, por ejemplo, en Applied Biosystems (Foster City, Calif.). Referencias ejemplares que describen el aparato de electroforesis capilar y su funcionamiento incluyen Jorgenson, *Methods* 4:179-90 (1992); Colburn *et al.*, *Applied Biosystems Research News*, tema 1 (invierno de 1990); y similares.

En algunas realizaciones, la duración de la etapa para detectar y cuantificar los amplicones varía de 15 min a 45 min. Típicamente, la duración de la etapa es de aproximadamente 30 min.

En algunas realizaciones, el método de la presente invención comprende además una etapa que consiste en calcular una puntuación que representa la probabilidad de que el DLBCL pertenezca a una clase particular (ABC frente a GCB).

Como se describe en el ejemplo, la puntuación puede ser el resultado de una adaptación de la puntuación pronóstica lineal (LPS) definida por Wright *et al.* (Wright *et al.* Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Ago 19; 100(17): 9991-6.) y una prueba diagnóstica bayesiana. De hecho, el experto en la materia puede adoptar la suposición de que las distribuciones de las puntuaciones dentro de los grupos GCB y ABC siguen distribuciones normales, lo que permite estimar la probabilidad, para cada caso, de que pertenezca a uno u otro subtipo. Para equilibrar el sobrepeso de los genes más altamente expresados (un fenómeno marginal en los valores normalizados y sometidos a transformación logarítmica en exceso usados en la publicación de Wright que ya no es despreciable con los valores en escala lineal manipulados aquí), pueden aplicarse factores de gradación para tener en cuenta las diferencias en los intervalos de expresión entre los diferentes genes, dividiendo los valores estadísticos t por la expresión media de sus correspondientes genes en la serie de capacitación.

En algunas realizaciones, la puntuación (LPS) se calcula mediante la fórmula:

$$LPS(X) = \sum_{g \in G} \left(\frac{t_g}{m_g} * X_g \right) \text{ en la que } X_g = \frac{H_g}{\frac{1}{n} * \sum_{j \in J} H_j}$$

y en la que G representa el conjunto de 10 genes GCB-ABC, J representa el conjunto de $n = 14$ genes medidos, t_g representa el valor estadístico t generado por un ensayo de la t para la diferencia en la expresión del gen g entre los casos de GCB y de ABC en la serie de capacitación, m_g representa la media aritmética de las expresiones génicas para el gen g en la serie de capacitación y X_g representa la expresión génica del gen g en la muestra considerada. La expresión génica X_g del gen g en una muestra dada se calcula como la altura máxima H_g del pico de fluorescencia medido para el gen g dividida por la media aritmética de los 14 picos medidos para la muestra considerada.

En algunas realizaciones, los valores de t_g y m_g se definen de acuerdo con la tabla A:

Tabla A.

Gen (g)	t_g	m_g
NEK6	-6,09456	0,37762
MYBL1	-4,00549	0,30712
LMO2	-8,80942	0,79006
TACI	4,46992	0,41455
TNFRSF9	-2,50028	0,34052
BCL6	-3,16453	0,44348
CCND2	2,7198	0,70859
IRF4	5,35073	1,95678
IGHM	5,0939	2,87208
FOXP1	2,67211	1,63401

5 En algunas realizaciones, el método de la presente invención comprende además las etapas de comparar la puntuación (LPS) con puntuaciones obtenidas con el mismo método en una serie de capacitación de casos GCB y ABC clasificados por un método de referencia, y calcular, para cada muestra, la probabilidad de que pertenezcan a los grupos GCB y ABC:

$$P(X \in ABC) = \frac{\Phi(LPS(X), \hat{\mu}_{ABC}, \hat{\sigma}_{ABC}^2)}{\Phi(LPS(X), \hat{\mu}_{ABC}, \hat{\sigma}_{ABC}^2) + \Phi(LPS(X), \hat{\mu}_{GCB}, \hat{\sigma}_{GCB}^2)}$$

$$P(X \in GCB) = 1 - P(X \in ABC)$$

15 en el que $\Phi(x, \mu, \sigma^2)$ representa la función de densidad de probabilidad de una distribución normal de la media μ y la desviación típica σ^2 , μ_{ABC} y μ_{GCB} representan respectivamente las medias aritméticas de las puntuaciones LPS en los casos ABC y GCB de la serie de capacitación, σ_{ABC}^2 y σ_{GCB}^2 representan respectivamente las desviaciones típicas de las puntuaciones LPS en los casos ABC y GCB de la serie de capacitación. Las muestras para las que la probabilidad de que pertenezcan al grupo ABC es mayor que un umbral de confianza predeterminado (por ejemplo, 90 %) se clasifican finalmente como ABC, y respectivamente para el grupo GCB. Las muestras que no se logran clasificar como uno de estos dos grupos se denominan "no clasificadas". En algunas realizaciones, los valores de μ y σ^2 se determinan como se describe en la tabla B:

Tabla B.

	ABC	GCB
μ	18,72886	-33,53634
σ^2	10,21838	18,12447

25 El método de la presente invención, por tanto, es particularmente adecuado para determinar si un sujeto es elegible o no para un tratamiento. Los tratamientos de DLBCL son bien conocidos en la técnica (Mark Roschewski, Louis M. Staudt y Wyndham H. Wilson. Diffuse large B-cell lymphoma-treatment approaches in the molecular era. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 11, 12-23 (2014)). El tratamiento basal incluye administrar al sujeto ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona y rituximab (R-CHOP) o etopósido, doxorubicina, ciclofosfamida, vincristina, prednisona y rituximab (DA - EPOCH-R). Los sujetos con GCB DLBCL tienen mejor pronóstico que aquellos con ABC DLBCL cuando se tratan con R-CHOP o con DA-EPOCH-R. Los inhibidores de la histona-lisina N-metiltransferasa EZH2 (EZH2) (por ejemplo, GSK126 y EII E7438) podrían ser particularmente adecuados para el tratamiento de GCB-DLBCL. Los inhibidores de la ruta de PI3K/Akt/mTOR (por ejemplo, LY294002, everólimus, temsirálimus, Idelalisib también conocido como CAL-101 o MK-2206) podrían ser particularmente adecuados para el tratamiento de GCB-DLBCL. Los inhibidores de BCL2 (por ejemplo, Navitoclax (ABT-263), ABT-199 o ABT-737) podrían ser particularmente adecuados para el tratamiento de GCB-DLBCL. Los inhibidores de BCL6 (por ejemplo, el inhibidor de molécula pequeña 79-6) podría ser particularmente adecuado para el tratamiento de GCB-DLBCL. Los inhibidores de la ruta de NF- κ B podrían ser particularmente adecuados para el tratamiento de ABC-DLBCL. Los inhibidores de la ruta de NF- κ B típicamente incluyen, aunque sin limitación, inhibidores de la I κ B cinasa (IKK) e inhibidores del proteasoma

(por ejemplo, Bortezomib, Carfilzomib). Por ejemplo, Bortezomib más DA-EPOCH (o R-CHOP) provocaron mayores tasas de respuesta y supervivencia en pacientes con ABC-DLBCL en comparación con GCB-DLBCL. La lenalidomida, también podría ser particularmente adecuada para el tratamiento de ABC-DLBCL. El Ibrutinib, antiguamente PCI-32765, que es un inhibidor oral de molécula pequeña que inhibe selectiva e irreversiblemente la tirosina cinasa Bruton (BTK) a través de unión covalente mediante la cisteína-481, también sería particularmente adecuado para el tratamiento de ABC-DLBCL. La enzastaurina o sotrastaurina, que son inhibidores de PKC-β, podrían ser particularmente adecuados para el tratamiento de ABC-DLBCL. Los inhibidores de JAK-1 y JAK-2 (por ejemplo, Ruxolitinib) también podrían ser particularmente adecuados para el tratamiento de ABC-DLBCL.

En algunas realizaciones, el método de la presente invención no solamente es particularmente adecuado para clasificar el DLBCL del sujeto en un GCB-DLBCL o en un ABC-DLBCL, sino que también puede ser adecuado para determinar si el sujeto conseguirá una respuesta con un anticuerpo anti-CD20 so el nivel de expresión de MS4A1 se incluye en el ensayo de RT-MPLPA. Los ejemplos de anticuerpos específicos para el antígeno CD20 incluyen: "C2B8" que ahora se denomina "Rituximab" ("RITUXAN®") (patente de Estados Unidos n.º 5 736 137), un anticuerpos quimérico pan-B dirigido a CD20; el anticuerpo murino 2B8 marcado con itrio-[90] denominado "Y2B8" o "Ibritumomab Tiuxetan" ZEVALIN® (patente de Estados Unidos n.º 5 736 137), un mAb murino IgG1 kappa unido covalentemente a MX-DTPA para quelar itrio-[90]; IgG2a murina "BI", también denominada "Tositumomab", opcionalmente marcada con ¹³¹I radioactivo para generar el anticuerpo "131 I-B1" (yodo 131 tositumomab, BEXXAR™) (patente de Estados Unidos n.º 5 595 721); anticuerpo monoclonal murino "1 F5" (Press *et al.* Blood 69 (2):584-591 (1987) y variantes del mismo, incluyendo 1 F5 "parcheado en la región flanqueante" o humanizado (documento WO003/002607, Leung, S.; ATCC depósito HB-96450); anticuerpo 2H7 murino y 2H7 quimérico (patente de Estados Unidos n.º 5 677 180); 2H7 humanizado, también conocido como ocrelizumab (PRO-70769); ofatumumab (Arzerra), una IgG1 completamente humana contra un epítipo novedoso en CD20 huMax-CD20 (Genmab, Dinamarca; documento WO2004/035607 (U.S. 10/687 799); AME-133 (ocaratzumab; Applied Molecular Evolution), un mAb completamente humanizado y optimizado IgG1 contra CD20; anticuerpo A20 o variantes del mismo tal como anticuerpos A20 quimérico o humanizado (cA20, hA20, respectivamente) (documento U.S. 10/366 709); y anticuerpos monoclonales L27, G28-2, 93-1 B3, B-CI o NU-B2 disponibles en el International Leukocyte Typing Workshop (Valentine *et al.*, En: Leukocyte Typing III (McMichael, Ed., pág. 440, Oxford University Press (1987)). Además, los anticuerpos adecuados incluyen, por ejemplo, anticuerpos GA101 (obinutuzumab), un anticuerpo anti-CD20 humanizado de tercera generación de Biogen Idec/Genentech/Roche. Además, BLX-301 de Biorex Therapeutics, un anticuerpo anti-CD20 humanizado con glucosilación optimizada o veltuzumab (hA20), un anticuerpo anti-CD20 humanizado de 2.ª generación de Immunomedics o DXL625, derivados de veltuzumab, tales como los anticuerpos hexavalentes biespecíficos de IBC Pharmaceuticals (Immunomedics) que está compuestos de una IgG anti-CD20 divalente de veltuzumab y un par de dímeros estabilizados de Fab derivados de milatuzumab, un mAb anti-CD20 potenciado con tecnología de reticulación dinámica de InNexus, de InNexus Biotechnology ambos son anticuerpos anti-CD20 humanizados que son adecuados. Anticuerpos adecuados adicionales son BM-ca (un anticuerpo anti-CD20 humanizado (Int J Oncol. 2011 Feb; 38(2): 335-44)), C2H7 (un anticuerpos quimérico anti-CD20 (Mol Immunol. 2008 May; 45(10): 2861-8)), PRO131921 (un anticuerpo anti-CD20 de tercera generación desarrollado por Genentech), Reditux (una versión biosimilar de rituximab desarrollada por Dr Reddy's), PBO-326 (una versión biosimilar de rituximab desarrollada por Probiomed), una versión biosimilar de rituximab desarrollada por Zenotech, TL-01 1 (una versión biosimilar de rituximab desarrollada por Teva), CMAB304 (una versión biosimilar de rituximab desarrollada por Shanghai CP Guojian), GP-2013 (una versión biosimilar de rituximab desarrollada por Sandoz (Novartis)), SAIT-101 (una versión biosimilar de rituximab desarrollada por Samsung BioLogics), una versión biosimilar de rituximab desarrollada por Intas Biopharmaceuticals, CT-P10 (una versión biosimilar de rituximab desarrollada por Celltrion), una versión biosimilar de rituximab desarrollada por Biocad, Ublituximab (LFB-R603, un mAb producido de forma transgénica dirigido a CD20 desarrollado por GTC Biotherapeutics (LFB Biotechnologies)), PF-05280586 (una supuesta versión biosimilar de rituximab desarrollada por Pfizer), Lymphomun (Bi-20, un anticuerpo trifuncional anti-CD20 y anti-CD3, desarrollado por Trion Pharma), una versión biosimilar de rituximab desarrollada por Natco Pharma, una versión biosimilar de rituximab desarrollada por iBio, una versión biosimilar de rituximab desarrollada por Gedeon Richter/Stada, una versión biosimilar de rituximab desarrollada por Curaxys, una versión biosimilar de rituximab desarrollada por Coherus Biosciences/Daiichi Sankyo, una versión biosimilar de rituximab desarrollada por BioXpress, BT-D004 (una versión biosimilar de rituximab desarrollada por Protheon), AP-052 (una versión biosimilar de rituximab desarrollada por Arogen), una versión biosimilar de ofatumumab desarrollada por BioXpress, MG-1 106 (una versión biosimilar de rituximab desarrollada por Green Cross), IBI-301 (un anticuerpo monoclonal humanizado contra CD20 desarrollado por Innovent Biologies), BVX-20 (un mAb humanizado contra CD20 desarrollado por Vaccinex), 20-C2-2b (un mAb-IFNalfa biespecífico dirigido a CD20 y antígeno-DR de leucocitos humanos (HLA-DR) desarrollado por Immunomedics), MEDI-552 (desarrollado por MedImmune/AstraZeneca), los conjugados anti-CD20/estreptavidina desarrollados por NeoRx (ahora Poniard Pharmaceuticals), los anticuerpos anti-CD20 humano de segunda generación desarrollados por Favril (ahora MMRGlobal), TRU-015, un fragmento de anticuerpo anti-CD20 desarrollado por Trubion/Emergent BioSolutions.

El método de la presente invención es particularmente adecuada para predecir el tiempo de supervivencia del sujeto cuando el ensayo también comprende un medio para determinar la expresión de MYC y/o BCL2. En algunas realizaciones, el nivel o los niveles de expresión de MYC y/o BCL2 se comparan con sus valores de referencia predeterminados respectivos, en los que, cuando el nivel o los niveles de expresión de MYC y/o BCL6 son mayores de sus valores de referencia predeterminados respectivos, se concluye que el sujeto tendrá un mal pronóstico (es decir, la duración de la supervivencia sin enfermedad (DFS) o la supervivencia global (OS) o ambas).

La presente invención también se refiere a un kit para realizar el método de la presente invención como se define en las reivindicaciones.

5 En algunas realizaciones, el kit de la presente invención comprende las sondas SEQ ID NO:54-73 y las sondas competidoras SEQ ID NO:82-83.

En algunas realizaciones, el kit de la presente invención comprende los cebadores hexaméricos aleatorios adecuados para la síntesis de ADNc como se describe anteriormente.

10 En algunas realizaciones, el kit de la presente invención comprende cualquier medio adecuado para realizar la etapa de ligamiento. En particular, el kit de la invención comprende una ligasa como se describe anteriormente.

15 En algunas realizaciones, el kit de la presente invención comprende cualquier medio adecuado para realizar la etapa de amplificación como se describe anteriormente. En particular, el kit de la presente invención comprende al menos un par de cebadores como se describe anteriormente. En algunas realizaciones, el par de cebadores es ILLU1 (SEQ ID NO: 84) (GGGTTCCCTAAGGGTTGGA) e ILLU2 (SEQ ID NO: 85) (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGA). El kit de la presente invención puede comprender además tampón, dNTP, detergentes, una polimerasa tal como polimerasa Taq o cualquier agente adicional tal como betaína.

20 En algunas realizaciones, el kit de la invención comprende cualquier medio para calcular la puntuación como se describe anteriormente. En particular, el kit de la presente invención puede comprender además un programa informático adecuado para calcular la puntuación como se describe anteriormente y opcionalmente interpretar los resultados para determinar el modo en que se clasificará el DLCL del sujeto.

25 La presente divulgación se refiere al programa informático que puede implementarse en cualquier sistema (por ejemplo, un ordenador) para calcular la puntuación como se describe anteriormente y opcionalmente interpretar los resultados para determinar el modo en que se clasificará el DLCL del sujeto.

30 La invención se ilustrará adicionalmente mediante las siguientes figuras y ejemplos. Sin embargo, estos ejemplos y figuras no deben interpretarse de ninguna manera como limitantes del alcance de la presente invención.

Descripción de las figuras

35 **Figura 1: Descripción de las cohortes analizadas.**

Se indica la estructura general y las superposiciones entre las diferentes cohortes, junto con sus características principales (recuento de muestra, tipo de material, patrón de GEP cuando esté disponible). Las cohortes de nuestra institución (A) están separadas de la cohorte externa (B) para resaltar su independencia.

40 **Figura 2: Perfiles de RT-MLPA representativos.**

Los perfiles de RT-MLPA generados por el programa informático especializado se presentan para dos muestras representativas (GCB en el panel superior, ABC en el panel inferior). Para cada muestra, se proporciona un perfil de análisis por fragmento (intensidad de la fluorescencia como una función de los tamaños de fragmentos de PCR) en el panel de la izquierda, con los intervalos explorados para los picos relacionados con gen resaltados por diversos colores (azul para genes relacionados con ABC, naranja para genes relacionados con GCB, verde para el control interno MS4A1 y gris para otros genes relevantes en diagnóstico o pronóstico). Los marcadores de tamaño, que se usan para la alineación de los perfiles y la estimación del tamaño de los fragmentos (canal ROX), se presentan usando líneas de puntos que indican su tamaño teórico. El panel de la derecha ilustra la predicción realizada mediante la prueba diagnóstica RT-MLPA, que muestra la superposición de la puntuación de la muestra en las distribuciones teóricas de las puntuaciones en los subgrupos de ABC y GCB.

Figura 3: Capacitación y validación de la prueba diagnóstica RT-MLPA.

55 (A) Las puntuaciones de las muestras de GCB y ABC de la serie de capacitación se presentan como barras verticales, por debajo de las funciones de densidad estimadas usadas en el modelo de predicción. (B) y (C) presentan la expresión de los 8 genes incluidos en la prueba diagnóstica GCB-ABC en la serie de capacitación (B) y validación (C) como gráficos cromáticos, junto con las clases esperadas calculadas usando la tecnología DASL (panel central) y la probabilidad predicha de que pertenezcan a cada uno de los grupos (panel superior). Las muestras (columnas) están ordenadas por puntuaciones de RT-MLPA ascendentes, mientras que los genes (filas) están ordenados por su potencia discriminadora (valor estadístico t presentado en la derecha). Las barras negras verticales dividen las muestras de acuerdo con el grupo que se ha predicho al que pertenecen (GCB, sin clasificar y ABC de izquierda a derecha).

Figura 4: Validación independiente de la prueba diagnóstica RT-MLPA en muestras Affymetrix

65 La expresión de los 8 genes incluidos en la prueba diagnóstica GCB-ABC en una serie independiente de 64 muestras congeladas se presenta como un gráfico cromático, junto con las clases esperadas calculadas usando matrices Affymetrix U133+2 (panel central) y la probabilidad predicha de que pertenezcan a cada uno de los grupos

(panel superior). Las muestras (columnas) están ordenadas por puntuaciones de RT-MLPA ascendentes, mientras que los genes (filas) están ordenados por su potencia discriminadora (valor estadístico t presentado en la derecha). Las barras negras verticales dividen las muestras de acuerdo con el grupo que se ha predicho al que pertenecen (GCB, sin clasificar y ABC de izquierda a derecha).

5

Figura 5: Rendimientos de la prueba diagnóstica RT-MLPA en muestras de FFPE.

La expresión de los 8 genes incluidos en la prueba diagnóstica GCB-ABC en una serie de 28 muestras de FFPE se presenta como un gráfico cromático, junto con las clases esperadas calculadas usando la tecnología DASL sobre muestras congeladas coincidentes (panel central) y la probabilidad predicha de que pertenezcan a cada uno de los grupos (panel superior). Las muestras (columnas) están ordenadas por puntuaciones de RT-MLPA ascendentes, mientras que los genes (filas) están ordenados por su potencia discriminadora (valor estadístico t presentado en la derecha). Las barras negras verticales dividen las muestras de acuerdo con el grupo que se ha predicho al que pertenecen (GCB, sin clasificar y ABC de izquierda a derecha).

10

Figura 6: Rendimientos de la prueba diagnóstica RT-MLPA en comparación con IHC.

La expresión de los 8 genes incluidos en la prueba diagnóstica GCB-ABC en una serie de 100 muestras congeladas se presenta como un gráfico cromático, junto con los resultados del algoritmo inmunohistoquímico de Hans (panel central) y la probabilidad predicha de que pertenezcan a cada uno de los grupos (panel superior). Las muestras (columnas) están ordenadas por puntuaciones de RT-MLPA ascendentes, mientras que los genes (filas) están ordenados por su potencia discriminadora (valor estadístico t presentado en la derecha). Las barras negras verticales dividen las muestras de acuerdo con el grupo que se ha predicho al que pertenecen (GCB, sin clasificar y ABC de izquierda a derecha).

15

20

Figura 7: Desenlaces de los pacientes de acuerdo con la agrupación basada en RT-MLPA.

Se presenta la supervivencia sin progresión (columna de la izquierda) y global (columna de la derecha) de una serie de 135 pacientes tratados con una combinación de rituximab y quimioterapia de acuerdo con diversos factores de agrupación: subgrupo de GCB-ABC, predicho por RT-MLPA (A), expresiones de *LMO2* (B), *BCL6* (C) y *TNFRSF13B* (D) medidas por RT-MLPA de acuerdo con sus respectivas medianas, MYC+ BCL2+ frente al resto de la cohorte (E), definida por una expresión de RT-MLPA mayor de 1,284 para MYC y 0,256 para BCL2. Los valores de p de orden logarítmico sin procesar se presentan en los paneles de leyenda respectiva.

25

30

Figura S1: Secuencia de trabajo del procedimiento experimental de RT-MLPA.

El procedimiento para la preparación de las sondas de RT-MLPA y la mezcla competidora se describe en el panel superior. Siguiendo este protocolo, la mezcla final permite ensayar más de 600 muestras, y la mezcla concentrada más de 6000 muestras. La secuencia de trabajo experimental, que consiste en cuatro etapas, específicamente, retrotranscripción, hibridación, ligamiento y PCR/análisis, se detalla en el panel inferior.

35

Figura S2: Reproducibilidad y robustez de la prueba diagnóstica RT-MLPA.

Las puntuaciones de RT-MLPA obtenidas para 10 réplicas de dos muestras congeladas (ARN 9260 y 9402, GCB y ABC respectivamente) se representan sobre las distribuciones modelizadas en los subgrupos GCB y ABC (A). La misma representación se muestra (B) para las 12 diluciones en serie de la muestra 9402, con un valor atípico obvio (12.^a dilución, correspondiente a menos de 1 ng de ARN) resaltado en rojo. También se representan las alturas de pico sin procesar (C) y normalizadas (D) para los 14 genes incluidos en la prueba diagnóstica RT-MLPA en las 12 diluciones en serie de la muestra 9402, junto con las puntuaciones y las probabilidades predichas de que pertenezcan al subgrupo ABC (E).

40

45

Ejemplo:

Materiales y métodos

50

Pacientes

Se incluyó un total de 259 pacientes con DLBCL en este estudio (figura 1 y tabla S1). Todas las muestras se obtuvieron después de recibir el consentimiento del paciente y este estudio se aprobó por nuestro comité de revisión institucional. Una primera serie de 195 pacientes de una sola institución (Centre Henri Becquerel, Rouen, Francia) se usó para capacitar y validar el clasificador de GCB/ABC. Una clasificación de GCB/ABC previamente determinada usando un ensayo de DASL (método de hibridación mediada por ADNc, selección, prolongación y ligamiento)¹⁸ estaba disponible para 115 pacientes. Estaba disponible una clasificación inmunohistoquímica para 100 casos, y los datos de supervivencia para 135 de ellos. Una segunda serie de 64 pacientes incluidos en el programa de estudio GHEDI realizado por el grupo LYSA y analizado previamente por micromatrices de perfil de expresión génica (Affymetrix U133A+2) se usó como conjunto de validación externo¹⁹. Para todos los pacientes, los criterios de inclusión fueron DLBCL *de novo* con ARN disponible extraído de biopsias de ganglio linfático congeladas en el momento del diagnóstico. Los diagnósticos se determinaron de acuerdo con los criterios de la OMS de 2008 por patólogos expertos¹. Se excluyeron linfomas de linfocitos B grandes difusos mediastinales primarios y DLBCL ricos en linfocitos T.

55

60

65

Extracción de ARN

Se extrajo el ARN total de fragmentos de biopsia congelada usando el kit RNA NOW (Biogentex, Seabrook, TX). Las muestras de ARN posteriormente se almacenaron a -80 °C en agua. Para 30 casos, las muestras de ARN se extrajeron de biopsias incluidas en parafina fijadas con formol (FFPE) usando el kit Absolutely RNA FFPE (Agilent Technologies, La Jolla, CA, EE. UU.).

Inmunohistoquímica

Para construir las micromatrices de tejido (TMA) (Alphelys, Plaisir, Francia), se usaron tres núcleos representativos (0,6 mm) de tejidos FFPE para cada caso. La tinción inmunohistoquímica se realizó en secciones de 4 µm usando procedimientos convencionales. Se realizó recuperación de antígeno en PTLINK (DAKO, Glostrup, Dinamarca) con un tampón de pH 9. CD10 (clon 56C6, 1/50e, DAKO, Glostrup, Dinamarca), BCL6 (clon PGB6P, 1/10e, DAKO, Glostrup, Dinamarca) y MUM1 (clon MUM1p, 1/100e, DAKO, Glostrup, Dinamarca) se tiñeron usando un AUTOSTAINER Link48 (DAKO, Glostrup, Dinamarca) con el sistema EnVision FLEX. Los fenotipos GCB y no GCB se definieron usando el árbol de decisiones con los límites indicados establecidos por Hans y colaboradores²⁰.

Diseño y mezcla de sonda de RT-MLPA

Las sondas de RT-MLPA que se usaron se enumeran en la tabla 1. Para evitar amplificaciones indeseadas de ADN genómico, todas las sondas se diseñaron entre límites de exones. Se preparan de una región específica de gen complementaria a la diana de ADNc y de una cola para permitir la amplificación por PCR final. Todas las sondas 5' tienen una cola común en su extremo 5' (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGA), que correspondía al cebador universal, U1. Todas las sondas 3' tienen una cola común diferentes en su extremo 3' (TCCAACCCTTAGGGAACCC), que es complementaria al cebador universal, U2. Se insertaron espaciadores adicionales (repeticiones TAC) entre las colas y las regiones específicas de gen para permitir la separación y la identificación de los productos de PCR de acuerdo con su tamaño. Las sondas 3' se solicitaron con extremos 5' fosforilados para permitir las reacciones de ligamiento. Todas las sondas de RT-MLPA usadas en este estudio eran oligonucleótidos sintéticos, solicitados al grado de purificación más bajo (HPSF) y a la escala de síntesis mínima (0,01 µmol para las sondas de la izquierda y 0,05 µmol para las sondas fosforiladas de la derecha) (Eurofins MWG Operon, Ebersberg, Alemania). Para dos genes, también se diseñaron sondas competidoras idénticas a las sondas de MLPA, pero sin las colas de PCR, que se usaron para normalizar las señales de amplificación.

Para preparar la mezcla de sondas de MLPA, se prepararon diluciones 10 µM de cada sonda y competidores en Tris 10 mM y EDTA 1 mM. Los dos competidores se mezclaron con sus sondas correspondientes a una relación de 1 (sonda de MLPA) a 4 (competidor) para los genes *IGHM* y *NEK6*. Entonces, se mezclaron juntos 2 µl de cada dilución de sonda (n = 26) o (dilución de mezcla de sonda + competidor) (n = 2) para obtener un volumen final de 56 µl. Entonces se añadió un volumen igual de TE 1x para obtener un volumen de 112 µl. La dilución final se obtuvo diluyendo 11,2 µl de la mezcla de sondas concentrada en un volumen final de 1 ml de Tris 10 mM y tampón EDTA 1 mM.

Procedimiento de RT-MLPA

El protocolo de RT-MLPA se adaptó de Eldering *et al.*¹⁷. Se proporciona una secuencia de trabajo esquemática del procedimiento experimental en la figura S1. Las modificaciones más importantes que se hicieron fueron el uso de cebadores hexaméricos aleatorios en lugar de cebadores específicos de gen para la síntesis de ADNc, la reducción de la etapa de hibridación de 16 a 1 hora, y el uso de oligonucleótidos sintéticos como sondas de MLPA.

Todas las reacciones de RT-MLPA se realizaron en tubos de 200 µl en un termociclador con una tapa calentada. En primer lugar se diluyó aproximadamente un microgramo de los ARN totales obtenidos de las biopsias de DLBCL en 4 µl de agua sin RNasa y se mantuvieron en hielo. Después de la adición de 7,5 µl de mezcla de retrotranscripción (2,5 µl de tampón de RT-MMLV 5x, 1 µl de DTT 100 mM, 2 µl de dNTP 10 mM y 2 µl de cebadores aleatorios 100 µM), las muestras se calentaron durante 1 min a 80 °C para fundir la estructura secundaria del ARNm, se incubaron durante 5 min a 37 °C para permitir la hibridación de los cebadores aleatorios y se enfriaron a 4 °C. A continuación, se añadió 1 µl de retrotranscriptasa MMLV, y las muestras se incubaron durante 15 min a 37 °C para sintetizar el ADNc, se calentaron durante 2 min a 98 °C para inactivar la enzima y se enfriaron a 4 °C. Entonces, se transfirieron 5 µl de ADNc a un nuevo tubo, y se añadieron 3 µl de una mezcla de sondas de RT-MLPA (1,5 µl de tampón de SALSA-MLPA + 1,5 µl de mezcla de sondas de dilución final). Las muestras se calentaron durante 2 min a 95 °C y se incubaron durante 1 h a 60 °C para permitir la hibridación de las sondas de MLPA con sus dianas de ADNc. El ligamiento de los oligonucleótidos hibridados se realizó enfriando todas las muestras a 56 °C, añadiendo 32 µl de una mezcla de ligamiento (3 µl de tampón A de SALSA-ligasa 65, 3 µl de tampón B de SALSA-ligasa, 25 µl de agua sin RNasa, 1 µl de SALSA-ligasa 65), e incubando las muestras mezcladas durante 15 min a 56 °C. La enzima ligasa a continuación se inactivó calentando durante 5 min a 98 °C. Para la amplificación por PCR final, se añadieron 5 µl de cada producto de ligamiento a 15 µl de una mezcla de PCR (10 µl de mezcla fundamental de PCR Thermo Scientific Extensor Hi-Fidelity; Thermo Scientific, 1 µl de cebador U1 10 µM, 1 µl de cebador U2 marcado con FAM 10 µM, 3 µl de agua sin RNasa). La amplificación se realizó con el siguiente programa: 6 min 94 °C; 35 ciclos (30 s 94 °C, 30 s 58 °C, 30 s 72 °C); 4 min 72 °C; refrigeración hasta 16 °C.

Para el análisis de datos, se mezcló 1 µl de cada producto de PCR con 1 µl de patrón de tamaño GeneScan-400 HD ROX y 28 µl de formamida, se desnaturalizó durante 3 min a 95 °C, y se cargó en un analizador de electroforesis capilar ABI3130 en modo GeneScan (Applied Biosystems, Warrington, R.U.). Los ajustes de migración fueron los siguientes: voltaje antes del procesamiento 15 kV; tiempo antes del procesamiento 180 s; voltaje de inyección 1 kV; tiempo de inyección 3 s (reducido hasta 1 s cuando las señales de fluorescencia estaban fuera de escala), voltaje de procesamiento 10 kV; tiempo de procesamiento 180 s.

Procesamiento de datos

Para facilitar la interpretación de los resultados, se desarrolló un programa informático acoplado para manipular el proceso de análisis completo, desde los archivos del analizador de fragmentos sin procesar (.fsa) hasta las calificaciones de muestra y probabilidades de GCB/ABC. Este programa informático, que puede descargarse libremente de <http://bioinformatics.ovsa.fr/MLPA>, proporciona una representación gráfica del perfil y de la clasificación GCB/ABC (figura 2), y una tabla de expresiones génicas normalizadas. Consiste en una interfaz de usuario Tcl-tk desarrollada en un paquete R (R core team, <http://www.r-project.org>), ambos distribuidos libremente con la licencia pública GNU 3.

Cada canal de los perfiles de electroforesis en primer lugar se corrige para los sesgos relacionados con el tiempo, usando una transformación LOWESS de las señales a lo largo del tiempo. Para estimar los tamaños de los picos en pares de bases, entonces los perfiles se alinean usando los patrones de tamaño de 50, 60, 90, 100 y 120 pb. El perfil ROX se suaviza usando un núcleo gaussiano de Nadaraya-Watson, y se usan los índices de tiempo de máximos locales para ajustar un modelo lineal que convierte los índices de tiempo en pares de bases. Las alturas de los diferentes picos se miden a continuación buscando los máximos de la señal FAM en los intervalos de tamaño que se predefinen en pares de bases. Las ventanas de gen y también de patrón de tamaño se afinaron a partir de los perfiles gráficos, y quedaron disponibles en el archivo de diseño del programa informático (versión 1.8.5). Para minimizar el sesgo de la cantidad de ARN, todos los valores de expresión se dividieron finalmente por la media de todos los genes medidos en la muestra, y los logaritmos de base 2 de estas relaciones más 1 se usan como valores de expresión normalizados.

30 Análisis de supervivencia

El análisis de supervivencia se restringió a los 135 pacientes diagnosticados entre 2001 y 2011 en el Centre Henri Becquerel, que se trataron mediante una combinación de rituximab y quimioterapia. Se realizó usando el paquete de "supervivencia" (2.37.4) del programa informático R, considerando un riesgo alfa de un 5 % como umbral de significación. La supervivencia global (OS) se calculó desde el día de tratamiento hasta la muerte por cualquier causa, o se censuró por la derecha en el último seguimiento. La supervivencia sin progresión (PFS) se calculó desde el día de tratamiento hasta progresión de la enfermedad, recidiva o muerte por cualquier causa, o se censuró por la derecha en el último seguimiento. Las tasas de supervivencia se estimaron usando el método de Kaplan-Meier que proporciona intervalos de confianza del 95 %, y se evaluaron las diferencias significativas entre grupos mediante ensayo del orden logarítmico ($\alpha = 5\%$). Se realizaron análisis univariantes continuos usando modelos de regresión de riesgos proporcionales Cox, y los valores de p del ensayo de cociente de verosimilitudes y se presentan las tasas de descubrimiento falso derivadas²¹. Todas las combinaciones de umbrales se ensayaron para la significación PFS del subgrupo MYC+ BCL2+, que se centra en el par de valores que dio lugar a la segmentación más significativa de pacientes²².

45 Análisis estadístico

Las precisiones de predicción y las proporciones sin clasificar se presentan con intervalos de confianza (CI) del 95 % estimadas por el método de cálculo binomial "exacto", como se implementa en el paquete binom R (versión 1.1-1).

50 Resultados

Selección de genes

Los genes candidatos para su inclusión en la prueba diagnóstica de GCB/ABC se seleccionaron de acuerdo con su expresión diferencial en dos series independientes de micromatrices Affymetrix U133+2. La primera serie consistía en 203 micromatrices disponibles de Lenz *et al.*²³ en la base de datos GEO (GSE11318). La segunda consistía en una serie independiente de 225 micromatrices clasificadas en los subtipos GCB o ABC, siguiendo las recomendaciones de Wrights y col.²⁴ y un rasgo distintivo de 24 genes¹⁹. Se construyó un modelo LIMMA para cada serie usando R (2.15.1, paquete LIMMA versión 3.12.3) para discriminar dos grupos usando micromatrices de un solo canal. Se seleccionaron genes con al menos un conjunto de sondas $FDR < 10^{-12}$ en ambas series para ensayo de RT-MLPA, empezando con los valores de p más bajos. Los 16 marcadores obtenidos de esta selección inicial se enumeran en la tabla 2.

Entonces se ensayaron diferentes combinaciones de genes para finalizar el diseño y se seleccionaron las expresadas a los niveles más comparables. Finalmente se retuvieron cuatro marcadores GCB (*LMO2*, *MYBL1*, *BCL6*, *NEK6*) y

cuatro ABC (*IRF4*, *FOXP1*, *IGHM*, *TNFRSF13B*). Para dos genes expresados a niveles muy altos en algunas muestras (*NEK6* y *IGHM*), se usaron sondas competidoras para reducir la altura de los picos correspondientes en los perfiles de RT-MLPA. Finalmente se incluyeron los genes *MYC*, *BCL2* y *TNFRSF9*, que mostraron ser pronósticos en DLBCL, y los genes *CCND1*, *CCND2* y *MS4A1* (que codifica CD20) como controles. Los perfiles de RT-MLPA representativos se presentan en la figura 2 y todos los valores de expresión génica se detallan en la tabla S2.

Modelo de predicción de clase

La clasificación de las muestras como GCB o ABC se consiguió usando una adaptación de la puntuación pronóstica lineal (LPS) definida por Wright *et al.*²⁴ y una prueba diagnóstica bayesiana. Se adoptó al misma suposición de que las distribuciones de las puntuaciones dentro de los grupos GCB y ABC seguían distribuciones normales (figura 3A), lo que permitía la estimación de la probabilidad, para cada caso, de que pertenezca a uno u otro subtipo. Se aplicaron factores de gradación para equilibrar el sobrepeso de los genes más altamente expresados, un fenómeno marginal en los valores normalizados en exceso usados en la publicación de Wright que ya no es depreciable con los valores manipulados aquí. Para tener en cuenta las diferencias en los intervalos de expresión, el valor estadístico T que se usó como coeficiente específico de gen, por tanto, se dividió adicionalmente por las expresiones medias de los genes correspondientes en la serie de capacitación. Esta correlación también permitió evitar la normalización de "desplazamiento y escala" a los intervalos de Lymphochip que se sugirieron por los autores para adaptar su modelo a otras plataformas, lo que puede dar lugar a calificaciones incorrectas en la serie con distribuciones de GCB/ABC distintas de la serie Lymphochip original. Finalmente, el umbral de confianza para considerar una muestra GCB o ABC se cambió del 90 % (como recomiendan los autores) al 95 %, para una mejor especificidad.

La prueba diagnóstica bayesiana se desarrolló usando una serie de capacitación de 50 casos de DLBCL seleccionados aleatoriamente caracterizados previamente en nuestro laboratorio usando un ensayo Veracode Illumina DASL (figura 1, cohorte n.º 1) y un rasgo distintivo de 17 genes (figura 3B)¹⁸. Como cabía esperar, el promedio de las expresiones de los ocho genes discriminadores de GCB/ABC fue significativamente diferente entre los dos subtipos en esta serie (tabla 2). La prueba diagnóstica clasificó un 90 % de los casos dentro de los subtipos esperados (20 GCB y 25 ABC), mientras que un 10 % (1 GCB y 4 ABC) se consideraron no clasificados (CI del 95 % [78 %, 97 %] y [3 %, 22 %] respectivamente). En una segunda serie de validación independiente de 65 pacientes (de la misma institución y caracterizados usando el mismo ensayo Veracode Illumina DASL; figura 1, cohorte n.º 2), un 80 % de los casos se clasificaron dentro de los subtipos esperados (24 ABC y 28 GCB), un 13,8 % se consideraron no clasificados (3 GCB y 6 ABC) y cuatro se clasificaron incorrectamente (CI del 95 % [68 %, 89 %] y [7 %, 25 %] respectivamente; figura 3C). Cuando se centra en muestras clasificadas por ambas técnicas, se alcanza un 93 % de concordancia en esta segunda serie (CI del 95 % [82 %, 98 %]).

Evaluación de reproducibilidad

A continuación se realizaron diez repeticiones independientes para dos muestras (ARN 9402 y 9260, ABC y GCB respectivamente). Como se muestra en la figura S2A, las puntuaciones calculadas permanecieron muy estables (promedio -32,75, desviación típica 0,41 para la muestra 9260, promedio 17,88, desviación típica 0,32 para la muestra 9402). Para abordar adicionalmente la robustez del ensayo, también se ensayaron 12 diluciones en serie a ½ de las mismas muestras (9402), de 400 ng a menos de 1 ng de ARN. Como se muestra en la figura S2C, las alturas de pico de fluorescencia sin procesar para los 14 genes permanecieron estables de 400 a 12 ng de ARN, provocando una alta estabilidad de los valores de expresión normalizados (figura S2D), las puntuaciones (promedio 17,84, desviación típica 0,26; figuras S2B y E) y las probabilidades de GCB/ABC (figura S2E).

Validación en una cohorte independiente de muestras congeladas

A continuación se aplicó esta prueba diagnóstica a una segunda serie de validación independiente de 64 pacientes del estudio GHEDI (figura 1, cohorte n.º 4), clasificados dentro de los subtipos GCB o ABC usando los datos de expresión génica de Affymetrix U133+2 y una prueba diagnóstica bayesiana basada en un rasgo distintivo de expresión de 24 genes como se describe previamente²⁴. Esta serie comprendía 28 casos GCB, 25 casos ABC y 11 no clasificados. Como se muestra en la figura 4, el ensayo de RT-MLPA clasificó un 84,4 % (CI del 95 % [73 %, 92 %]) de estos casos dentro de los subtipos esperados (24/28 GCB, 22/25 ABC y 8/11 no clasificados). 4 casos GCB y 3 casos ABC se consideraron inclasificables, que representan un 13,2 % (CI del 95 % [5 %, 25 %]) de las muestras clasificadas por la técnica de referencia. Finalmente 3 casos previamente no clasificados se clasificaron incorrectamente en el subtipo ABC. Cuando se centra en muestras clasificadas por ambas técnicas, ninguna de las 46 muestras restantes estaba en contradicción entre este ensayo y el "método de referencia" Affymetrix U133+2 (CI del 95 % [92 %, 100 %]).

Validación en muestras de FFPE

Para ensayar adicionalmente la robustez de este ensayo, a continuación se compararon los resultados obtenidos de biopsias emparejadas congeladas y FFPE. Se ensayaron treinta muestras de ARN extraídas de materiales de archivo de FFPE de la cohorte CHB. Excepto por dos fracasos extracción, se obtuvieron perfiles interpretables para los 28 casos restantes. Como se muestra en la figura 5A, el ensayo de RT-MLPA clasificó 25 (89,3 %) de las muestras de

FFPE dentro de los subtipos esperados (11/14 GCB, 12/12 ABC y 2/2 no clasificados), mientras que 3 casos GCB se consideraron no clasificados. La correlación de Pearson estadísticamente significativa ($p = 1,2e-11$) entre las muestras congeladas y FFPE se ilustra en la figura 5B.

5 Serie ampliada de muestras

A continuación se incluyeron 80 muestras congeladas independientes adicionales, todas del Centre Henri Becquerel, y para las que no estaba disponible ni la clasificación por DASL ni por Affymetrix (figura 1, cohorte n.º 3). La serie ampliada resultante de 195 casos permitió ensayar las correlaciones entre la clasificación de GCB/ABC por RT-MLPA, IHC (100 casos) y la supervivencia (135 casos). Excluyendo las 50 muestras de la cohorte de capacitación, la prueba diagnóstica RT-MLPA clasificó 63 de los 145 casos restantes en el subtipo GCB (43,4 %), 56 en el subtipo ABC (38,6 %) y 26 se consideraron inclasificables (17,9 %). Estas proporciones corresponden al reparto que se observa típicamente en las poblaciones de DLBCL.

15 Comparación con inmunoquímica

Para 100 casos (54 de la cohorte de validación n.º 1 y 46 de la cohorte n.º 3), no se había abordado el origen GC/no GC por IHC en el diagnóstico usando el algoritmo de Hans, implementado en nuestro departamento de patología en 2005²⁰. Para evitar los artefactos, solamente los casos con controles internos CD10 positivos se consideraron interpretables. En esta serie, IHC y RT-MLPA estuvieron en concordancia para 36/44 casos GCB (81,8 %) y 32/38 casos ABC (84,2 %). Los últimos 18 casos, se consideraron no clasificados por RT-MLPA, distribuidos dentro de los subtipos GCB (4 casos) y no GCB (14 casos) definidos por IHC (figura 6). Estos resultados están en concordancia con lo que se observa típicamente entre las clasificaciones Affymetrix y el algoritmo de Hans, que identifican los casos GCB, pero no diferencian los casos no clasificados de los casos ABC (ambos denominados casos no GCB)²⁰.

25 Análisis de supervivencia

Para evaluar el valor pronóstico de este ensayo, a continuación nos centramos en los 135 pacientes diagnosticados entre 2001 y 2011 en el Centre Henri Becquerel, que se trataron mediante una combinación de rituximab y quimioterapia. Como cabía esperar, los casos ABC estaban significativamente asociados con una peor PFS ($p = 0,004$) y OS ($p = 0,012$) (figura 7A). El análisis univariante continuo también confirmó que la expresión de varios genes individuales dentro de este rasgo distintivo de MLPA estaba significativamente asociada con el pronóstico (tabla S3). Como cabía esperar, se encontraron altas expresiones de *LMO2* (FDR = 0,006 y 0,012 en PFS y OS, respectivamente) y *BCL6* (FDR = 0,019 en PFS) asociadas con un mejor pronóstico. Asimismo, la baja expresión de *TNFRSF13B* se correlacionó linealmente con un mejor pronóstico (FDR = 0,036 y 0,012 en PFS y OS, respectivamente). La simplificación hacia modelos de dos grupos que clasifiquen los pacientes de acuerdo con la mediana de expresión del gen considerado dio lugar a resultados similares (figura 7B-D).

Para ilustrar adicionalmente la capacidad de este ensayo de recuperar factores pronósticos bien establecidos, se comparó la supervivencia de pacientes *MYC+ BCL2+* con el resto de la serie. Siguiendo los métodos descritos previamente²², los umbrales de expresión se establecieron en valores (0,256 para *BCL2*, 1,284 para *MYC*) que dan lugar a la segmentación más significativa de los pacientes en PFS. En total, 14 pacientes se clasificaron como *MYC+ BCL2+*, y mostraron un desenlace particularmente malo en OS (27 % [11-66] frente a 67 % [58-76] a los 3 años, $p = 0,0002$) y PFS (14 % [4-52] frente a 56 % [47-66] a los 3 años, $p = 0,0007$) (figura 7E).

45 Debate

Aquí, se describe un ensayo de RT-MLPA rápido y robusto que permite una clasificación precisa de DLBCL GCB y ABC. Este método fácil de usar permite la rápida evaluación de la expresión relativa de 14 genes en una sola reacción. Solamente requiere un termociclador, un secuenciador capilar y reactivos básicos de biología molecular y, por tanto, puede implementarse en muchos laboratorios¹⁷. Su simplicidad y flexibilidad permite ensayar desde una sola hasta 40 muestras en paralelo, haciéndolo particularmente adecuado para una secuencia de trabajo de diagnóstico rutinario. Además, con las pocas adaptaciones que se hicieron, el procedimiento completo puede conseguirse en menos de un día, haciendo que sea una alternativa rápida y barata (con un coste de reactivos de menos de 5 dólares/muestra) a los métodos actuales de estratificación de DLBCL GCB y ABC.

En la serie de validación independiente que se ensayó, ninguna de las calificaciones de RT-MLPA estaba en contradicción con el método de referencia actual (micromatrices Affymetrix) y únicamente unas pocas muestras se movieron del o al grupo "no clasificado". También se descubrió que varios factores pronósticos bien conocidos eran significativos cuando se determinaban por RT-MLPA, incluyendo la clasificación GCB/ABC²⁵, las expresiones génicas de *LMO2* y *BCL6* (Alizadeh *et al.*, 2011a) y la coexpresión de *MYC-BCL2* (Johnson *et al.*, 2012), confirmando adicionalmente la validez de este ensayo.

Las proporciones de muestras inclasificables o "de tipo III" que se observaron (13,8 % y 13,2 % de las dos cohortes de validación congeladas) son ligeramente mayores del 9 % originalmente descrito con el método de referencia²⁴ y el 7 % presentado por el mismo laboratorio usando la tecnología Nanostring¹⁶. Debe apreciarse, sin embargo, que el

- umbral de confianza usando para la toma de decisiones estaba aumentando desde el 90 % publicado originalmente hasta el 95 % más ubicuo, lo que puede explicar este pequeño aumento. No obstante, estas proporciones son coherentes con los rendimientos obtenidos usando otros métodos basados en expresión génica: 16 %¹⁵ o 20 %¹³. El mismo problema también se presentó con el algoritmo de IHC de Hans⁸⁻¹⁰ ya que no puede conseguirse siempre una interpretación fiable de CD10 y BCL6. Que este subgrupo "de tipo III" corresponda a una entidad biológica independiente o a una colección heteróclita de tumores atípicos aún es una cuestión no resuelta. Sin embargo, las discrepancias observadas en nuestra serie con respecto a estos linfomas, así como la ausencia de consenso observada en la bibliografía con respecto a su valor pronóstico^{14,24}, tienden a apoyar la última hipótesis.
- 5
- 10 Cuando se compara con otros métodos de GEP, RT-MLPA se asociado con un intervalo dinámico relativamente escaso²⁶. Esta característica influyó en el desarrollo del clasificador, ya que algunos genes, tales como *MME* (que codifica CD10), uno de los mejores marcadores del subtipo GCB, no pudo incorporarse en el diseño final. Por otro lado, RT-MLPA también demostró ser eficaz al evaluar la expresión de otros marcadores muy discriminadores, tales como *LMO2*, que es particularmente difícil de evaluar por IHC. Además, aunque los DLBCL GCB y ABC difieren en la
- 15 expresión de miles de genes⁴, la flexibilidad de RT-MLPA nos permitió ensayar fácil y rápidamente múltiples combinaciones de marcadores para alcanzar un diseño satisfactorio. Otra ventaja importante de RT-MLPA sobre la mayoría de otros métodos de GEP es que son necesarios solamente fragmentos de ADNc cortos para la correcta unión y ligamiento de las sondas oligonucleotídicas específicas de gen. Por tanto, está menos incluido por el uso de baja concentración de ARN y degradación de ARN, y constituye, por tanto, una alternativa interesante para ensayar
- 20 biopsias FFPE. Por tanto, podría usarse para el análisis retrospectivo de colecciones de archivo y para la inclusión de pacientes en ensayos clínicos prospectivos, ya que solamente unas pocas instituciones recogen de forma rutinaria materiales de biopsia congelados.
- 25 En conclusión, el ensayo de RT-MLPA robusto y rentable que se describe, con su secuencia de trabajo simple y su corto tiempo de carga y descarga, podría usarse en muchos laboratorios sin que se requiera la adquisición de ninguna plataforma especializada. Entonces, podría cuestionar IHC y otros ensayos de GEP cuantitativos para posibilitar la estratificación de los pacientes con DLBCL en ensayos clínicos prospectivos, y finalmente facilitar la generalización de tratamientos dirigidos a DLBCL GCB/ABC.

Tabla 1: Secuencias de los oligonucleótidos de RT-MLPA

Las secuencias de los cebadores directos e inversos 5' fosforilados se presentan con el símbolo del gen evaluado, junto con los 3 oligonucleótidos usados como competidores. La secuencia subrayada se diseñó para que hibride con cebadores de PCR para una amplificación común, mientras que el resto de la secuencia es una combinación de una secuencia específica de gen y espaciador.

Sondas de RT-MLPA 5'

NEK6_E2L	5'- <u>GTGCCAGCAAGATCCAA</u> TCTAGACCTGTGCATCCTCTGACCCACAG-3'
IRF4_E6L	5'- <u>GTGCCAGCAAGATCCAA</u> TCTAGATCTGCCGAAGCCTTGGCGTTCTCAG-3'
IGHM_E2L	5'- <u>GTGCCAGCAAGATCCAA</u> TCTAGATGCGTCCCTCCATGTGGCCCCCG-3'
CCND1_E3L	5'- <u>GTGCCAGCAAGATCCAA</u> TCTAGATACCTTCGTTGCCCTCTGTGCCACAG-3'
LMO2_E5L	5'- <u>GTGCCAGCAAGATCCAA</u> TCTAGACGGGAGCTCTGCCGGAGAGACTATCTCAG-3'
FOXP1_E10L	5'- <u>GTGCCAGCAAGATCCAA</u> TCTAGACCCCTCCCTTCAACCTCTTGCTCAAG-3'
TNFRSF9_E2L	5'- <u>GTGCCAGCAAGATCCAA</u> TCTAGATACGGACCTGTGACATATGCAGGCAGTGTAAG-3'
BCL6_E3L	5'- <u>GTGCCAGCAAGATCCAA</u> TCTAGATACTACTATAAAACGGTCTCATGGCCTGCAG-3'
TNFRSF13B_E2L	5'- <u>GTGCCAGCAAGATCCAA</u> TCTAGATACTACTACTAGCGCACCTGTGCAGCCTTCTGCA-3'
CCND2_E1L	5'- <u>GTGCCAGCAAGATCCAA</u> TCTAGATACTACTACTGACCTTCATTGCTCTGTGTGCCACCG-3'
MYC_E1L	5'- <u>GTGCCAGCAAGATCCAA</u> TCTAGATACTACTACTCTCGGGTAGTGAAACCCAGCAGCCTC-3'
MYBL1_E10L	5'- <u>GTGCCAGCAAGATCCAA</u> TCTAGACCCAGAAATTCAGAGACTCTAGAATTTATTGAATCT-3'
BCL2_E1L	5'- <u>GTGCCAGCAAGATCCAA</u> TCTAGATACTACTACTACCCTGGATCCAGGATAACGGAGGCTGG-3'
MS4A1_E5F	5'- <u>GTGCCAGCAAGATCCAA</u> TCTAGATACTACTACTATTCTTCAATGAGGGAATCTAAGACTTTGGGG-3'
Sondas de RT-MLPA 3'	
NEK6_E3R	5'-Pho-AGGCATCCCAACACGCTGTCTTTCCAAACCCTTAGGGAACCC-3'
IRF4_E7R	5'-Pho-ACTGCCGGCTGCACATCTGCCTGTATCCAAACCCTTAGGGAACCC-3'
IGHM_E3R	5'-Pho-ATCAARACACAGCCATCCGGGTCTTCTACTATCCAAACCCTTAGGGAACCC-3'
CCND1_E4R	5'-Pho-ATGTGAAGTTCAATCCCAATCCGCCCTTACTTCCAAACCCTTAGGGAACCC-3'
LMO2_E6R	5'-Pho-GCTTTTGGCAAGACGGTCTCTGCTACTATCCAAACCCTTAGGGAACCC-3'
FOXP1_E11R	5'-Pho-GCATGATCCAAACAGAACTGCAGCAGCTACTACTCCAAACCCTTAGGGAACCC-3'
TNFRSF9_E3R	5'-Pho-GTGTTTTTCAGGACCAGGAGGAGTGTCTTCTACTCCAAACCCTTAGGGAACCC-3'

(continuación)

Sondas de RT-MLPA 3'	
BCL6_E4R	5'-Pho-TGGCCTGTTCTATAGCATCTTTACAGCCAGTTGTCCAACCCCTTAGGGAAACCC-3'
TNFRSF13B_E3R	5'-Pho-GGTCACTCAGCTGCCGCAAGGAGCTACTACTACTACTCAACCCCTTAGGGAAACCC-3'
CCND2_E2R	5'-Pho-ACTTTAAGTTTGCCATGTACCCACCGTCGATACTACTCAACCCCTTAGGGAAACCC-3'
MYC_E2R	5'-Pho-CCGCGACGATGCCCCCAACGTTATACTACTACTACTCAACCCCTTAGGGAAACCC-3'
MYBL1_E11R	5'-Pho-GATCCTGTAGCATGGAGTGACGTTACCAGTTTTTACTACTTCCAACCCCTTAGGGAAACCC-3'
BCL2_E2R	5'-Pho-GATGCCTTTGTGGAAGTGTACGGCCTACTACTACTACTCAACCCCTTAGGGAAACCC-3'
MS4A1_E6R	5'-Pho-GCTGTCCAGATTAATGAATGGGCTCTTCCACTACTACTACTCAACCCCTTAGGGAAACCC-3'
Competidores	
NEK6_comp	5'-AGGCATCCCAACACGCTGTCTTT-3'
IGHM_comp	5'-ATCAAGACACAGCCATCCGGGTCTTC-3'

Tabla 2: Genes candidatos considerados para su inclusión en la prueba diagnóstica de RT-MLPA.

Los genes discriminadores de GCB y ABC (presentados como tasas de descubrimiento falso de dos análisis LIMMA distintos) en dos series independientes de micromatrices Affymetrix U133+2 (GHEDI y Lenz <i>et al.</i>) se consideraron para su inclusión en la prueba diagnóstica. El conjunto de sondas de Affymetrix considerado, así como la decisión final de retener el gen (+) o no de acuerdo con sus rendimientos en RT-MLPA, se indican.						
Gen	Conjunto de sondas	Alto en	GHEDI FDR	Lenz FDR	RT-MLPA	RT-MLPA FDR
<i>BATF</i>	205965_at	ABC	$1,95 \times 10^{-11}$	$1,05 \times 10^{-35}$		
<i>CCND2</i>	200953_s_at	ABC	$1,12 \times 10^{-6}$	$8,92 \times 10^{-14}$		
<i>FOXP1</i>	224838_at	ABC	$5,97 \times 10^{-28}$	$1,35 \times 10^{-28}$	+	$9,98 \times 10^{-3}$
<i>FUT8</i>	203988_s_at	ABC	$5,19 \times 10^{-15}$	$4,71 \times 10^{-26}$		
<i>IGHM</i>	209374_s_at	ABC	$1,62 \times 10^{-10}$	$2,29 \times 10^{-21}$	+	$9,93 \times 10^{-5}$
<i>IRF4</i>	204562_at	ABC	$3,92 \times 10^{-14}$	$2,55 \times 10^{-17}$	+	$9,93 \times 10^{-5}$
<i>LIMD1</i>	222762_x_at	ABC	$3,28 \times 10^{-16}$	$2,00 \times 10^{-34}$		
<i>SH3BP5</i>	201811_x_at	ABC	$1,19 \times 10^{-22}$	$9,98 \times 10^{-25}$		
<i>SLA</i>	203761_at	ABC	$5,10 \times 10^{-17}$	$5,64 \times 10^{-31}$		
<i>TNFRSF13B</i>	207641_at	ABC	$3,40 \times 10^{-11}$	$4,44 \times 10^{-20}$	+	$9,93 \times 10^{-5}$
<i>BCL6</i>	203140_at	GCB	$5,13 \times 10^{-6}$	$2,00 \times 10^{-34}$	+	$8,93 \times 10^{-4}$
<i>LMO2</i>	204249_s_at	GCB	$1,25 \times 10^{-10}$	$1,32 \times 10^{-23}$	+	$1,90 \times 10^{-10}$
<i>MME</i>	203434_s_at	GCB	$1,36 \times 10^{-5}$	$6,08 \times 10^{-21}$		
<i>MYBL1</i>	213906_at	GCB	$8,44 \times 10^{-10}$	$2,23 \times 10^{-27}$	+	$1,12 \times 10^{-4}$
<i>NEK6</i>	223158_s_at	GCB	$1,06 \times 10^{-10}$	$7,01 \times 10^{-29}$	+	$1,03 \times 10^{-5}$
<i>TNFRSF9</i>	207536_s_at	GCB	$9,81 \times 10^{-4}$	$6,39 \times 10^{-2}$		

Tabla S1 : Lista de muestras completas.

Las características de las 317 muestras analizadas en este artículo, identificadas por su ARN e ID únicas de paciente. Cuando estaba disponible, la clasificación de GCB-ABC de referencia evaluada por Affymetrix, DASL o IHC se proporciona junto con la clasificación final (MLPA). Las puntuaciones sin procesar y las probabilidades de pertenecer al subgrupo ABC también se proporcionan, calculadas por la prueba diagnóstica de RT-MLPA (la probabilidad de pertenecer al subgrupo GCB puede calcularse como el complemento a 1).

Material	Cohorte	ARN	Paciente	Affymetrix	DASL	DASL_puntuación	IHC	OS.tiempo (años)	PFS.tiempo (años)	OS.acontecimiento	PFS.acontecimiento	MLPA	MLPA_puntuación	MLPA_p (ABC)
congelado	diluciones	9402_D01	UPN1633									ABC	17,559	9,98E-01
congelado	diluciones	9402_D02	UPN1633									ABC	18,308	9,98E-01
congelado	diluciones	9402_D03	UPN1633									ABC	17,937	9,98E-01
congelado	diluciones	9402_D04	UPN1633									ABC	17,793	9,98E-01
congelado	diluciones	9402_D05	UPN1633									ABC	17,687	9,98E-01
congelado	diluciones	9402_D06	UPN1633									ABC	17,758	9,98E-01
congelado	diluciones	9402_D07	UPN1633									ABC	17,152	9,97E-01
congelado	diluciones	9402_D08	UPN1633									ABC	17,487	9,97E-01
congelado	diluciones	9402_D09	UPN1633									ABC	16,461	9,97E-01
congelado	diluciones	9402_D10	UPN1633									ABC	16,818	9,97E-01
congelado	diluciones	9402_D11	UPN1633									ABC	16,238	9,97E-01
congelado	diluciones	9402_D12	UPN1633									ABC	12,679	9,96E-01
FFPE	FFPE	B01.1117	UPN1001									GCB	-23,148	1,54E-04
FFPE	FFPE	B04.2708	UPN1291									ABC	11,634	9,95E-01
FFPE	FFPE	B05.2945	UPN1389									GCB	-53,532	9,41E-16
FFPE	FFPE	B06.0638	UPN1411									ABC	18,084	9,98E-01
FFPE	FFPE	B06.0757	UPN1415									ABC	14,390	9,97E-01
FFPE	FFPE	B06.1310	UPN1434									otro	-0,937	8,90E-01
FFPE	FFPE	B06.2626	UPN1474									otro	-11,896	8,10E-02
FFPE	FFPE	B07.0131	UPN1485									GCB	-15,802	1,17E-02
FFPE	FFPE	B07.0512	UPN1497									GCB	-13,605	3,62E-02
FFPE	FFPE	B07.2345	UPN1549									GCB	-32,380	2,29E-07
FFPE	FFPE	B07.2712	UPN1560									GCB	-18,459	2,67E-03
FFPE	FFPE	B07.2960	UPN1569									otro	1,728	9,50E-01
FFPE	FFPE	B08.0130	UPN1574									ABC	15,298	9,97E-01
FFPE	FFPE	B08.1825	UPN1580									GCB	-49,048	9,42E-14
FFPE	FFPE	B08.1769	UPN1627									otro	-3,877	7,39E-01
FFPE	FFPE	B08.1852	UPN1633									ABC	14,493	9,97E-01
FFPE	FFPE	B08.1999	UPN1637									ABC	15,061	9,97E-01
FFPE	FFPE	B08.2071	UPN1639									GCB	-42,454	4,99E-11
FFPE	FFPE	B08.2463	UPN1647									otro	-2,575	8,21E-01
FFPE	FFPE	B09.0141	UPN1684									GCB	-34,849	3,30E-08
FFPE	FFPE	B09.0388	UPN1691									ABC	8,677	9,91E-01
FFPE	FFPE	B09.1810	UPN1737									ABC	7,888	9,89E-01
FFPE	FFPE	B09.1892	UPN1741									ABC	15,512	9,97E-01
FFPE	FFPE	B09.2264	UPN1750									ABC	8,806	9,91E-01
FFPE	FFPE	B10.0146	UPN1768									ABC	10,632	9,94E-01
FFPE	FFPE	B10.0640	UPN1787									GCB	-60,672	3,49E-19
FFPE	FFPE	X10.0083	UPN1801									GCB	-47,320	5,16E-13
FFPE	FFPE	B12.1717	UPN1911									ABC	17,609	9,98E-01
congelado	LYSA	GHE0015	GHE0015	GCB								GCB	-26,420	1,75E-05
congelado	LYSA	GHE0016	GHE0016	ABC								ABC	4,158	9,74E-01
congelado	LYSA	GHE0024	GHE0024	ABC								ABC	7,561	9,89E-01
congelado	LYSA	GHE0028	GHE0028	ABC								otro	1,586	9,48E-01
congelado	LYSA	GHE0047	GHE0047	otro								otro	-2,286	8,36E-01
congelado	LYSA	GHE0061	GHE0061	ABC								ABC	9,757	9,93E-01
congelado	LYSA	GHE0140	GHE0140	otro								ABC	3,532	9,70E-01
congelado	LYSA	GHE0202	GHE0202	GCB								GCB	-19,790	1,22E-03
congelado	LYSA	GHE0219	GHE0219	GCB								GCB	-27,557	7,94E-06
congelado	LYSA	GHE0228	GHE0228	GCB								GCB	-21,441	4,50E-04

(continuación)

Las características de las 317 muestras analizadas en este artículo, identificadas por su ARN e ID únicas de paciente. Cuando estaba disponible, la clasificación de GCB-ABC de referencia evaluada por Affymetrix, DASL o IHC se proporciona junto con la clasificación final (MLPA). Las puntuaciones sin procesar y las probabilidades de pertenecer al subgrupo ABC también se proporcionan, calculadas por la prueba diagnóstica de RT-MLPA (la probabilidad de pertenecer al subgrupo GCB puede calcularse como el complemento a 1).

Material	Cohorte	ARN	Paciente	Affymetrix	DASL	DASL_puntuación	IHC	OS.tiempo (años)	PFS.tiempo (años)	OS.acontecimiento	PFS.acontecimiento	MLPA	MLPA_puntuación	MLPA_P (ABC)
congelado	LYSA	GHE0258	GHE0258	ABC								ABC	2,531	9,60E-01
congelado	LYSA	GHE0262	GHE0262	ABC								ABC	5,615	9,82E-01
congelado	LYSA	GHE0292	GHE0292	GCB								GCB	-44,127	1,07E-11
congelado	LYSA	GHE0293	GHE0293	otro								otro	-4,798	6,65E-01
congelado	LYSA	GHE0368	GHE0368	GCB								GCB	-30,089	1,29E-06
congelado	LYSA	GHE0375	GHE0375	otro								otro	0,447	9,27E-01
congelado	LYSA	GHE0429	GHE0429	GCB								GCB	-35,412	2,10E-08
congelado	LYSA	GHE0436	GHE0436	ABC								ABC	15,539	9,97E-01
congelado	LYSA	GHE0440	GHE0440	GCB								GCB	-34,923	3,11E-08
congelado	LYSA	GHE0507	GHE0507	ABC								ABC	7,684	9,89E-01
congelado	LYSA	GHE0547	GHE0547	otro								otro	-0,071	9,15E-01
congelado	LYSA	GHE0562	GHE0562	ABC								ABC	3,471	9,69E-01
congelado	LYSA	GHE0629	GHE0629	ABC								ABC	7,597	9,89E-01
congelado	LYSA	GHE0632	GHE0632	otro								otro	-1,969	8,50E-01
congelado	LYSA	GHE0635	GHE0635	GCB								GCB	-35,976	1,32E-08
congelado	LYSA	GHE0659	GHE0659	ABC								ABC	5,195	9,80E-01
congelado	LYSA	GHE0685	GHE0685	ABC								ABC	6,618	9,86E-01
congelado	LYSA	GHE0708	GHE0708	GCB								GCB	-27,290	9,57E-06
congelado	LYSA	GHE0717	GHE0717	ABC								ABC	10,833	9,94E-01
congelado	LYSA	GHE0776	GHE0776	GCB								GCB	-15,886	1,24E-02
congelado	LYSA	GHE0811	GHE0811	ABC								ABC	9,167	9,92E-01
congelado	LYSA	GHE0834	GHE0834	GCB								GCB	-33,168	1,25E-07
congelado	LYSA	GHE0837	GHE0837	ABC								ABC	12,755	9,96E-01
congelado	LYSA	GHE0853	GHE0853	otro								otro	-8,507	2,98E-01
congelado	LYSA	GHE0855	GHE0855	ABC								otro	-2,843	8,06E-01
congelado	LYSA	GHE0857	GHE0857	GCB								GCB	-16,082	1,01E-02
congelado	LYSA	GHE0860	GHE0860	ABC								otro	-3,716	7,50E-01
congelado	LYSA	GHE0877	GHE0877	GCB								GCB	-3,776	7,46E-01
congelado	LYSA	GHE0908	GHE0908	GCB								GCB	-44,859	5,42E-12
congelado	LYSA	GHE0997	GHE0997	otro								otro	-2,302	8,35E-01
congelado	LYSA	GHE1018	GHE1018	GCB								GCB	-34,597	4,04E-08
congelado	LYSA	GHE1028	GHE1028	GCB								GCB	-22,667	2,09E-04
congelado	LYSA	GHE1069	GHE1069	GCB								GCB	-19,875	1,16E-03
congelado	LYSA	GHE1225	GHE1225	GCB								GCB	-17,685	4,15E-03
congelado	LYSA	GHE1287	GHE1287	ABC								ABC	7,207	9,88E-01
congelado	LYSA	GHE1302	GHE1302	ABC								GCB	-48,593	1,48E-13
congelado	LYSA	GHE1352	GHE1352	GCB								ABC	4,331	9,75E-01
congelado	LYSA	GHE1353	GHE1353	ABC								otro	-8,586	2,91E-01
congelado	LYSA	GHE1373	GHE1373	GCB								ABC	9,731	9,93E-01
congelado	LYSA	GHE1393	GHE1393	GCB								GCB	-39,420	7,32E-10
congelado	LYSA	GHE1409	GHE1409	otro								GCB	-26,683	1,46E-05
congelado	LYSA	GHE1413	GHE1413	ABC								ABC	13,527	2,38E-01
congelado	LYSA	GHE1424	GHE1424	ABC								ABC	5,913	9,96E-01
congelado	LYSA	GHE1498	GHE1498	GCB								GCB	-17,476	9,83E-01
congelado	LYSA	GHE1553	GHE1553	GCB								GCB	-38,138	4,67E-03
congelado	LYSA	GHE1554	GHE1554	GCB								otro	-10,272	2,19E-09
congelado	LYSA	GHE2002	GHE2002	otro								ABC	2,866	1,60E-01
congelado	LYSA	GHE2003	GHE2003	GCB								ABC	-30,308	9,64E-01
congelado	LYSA	GHE2012	GHE2012	ABC								GCB	2,695	1,09E-06
congelado	LYSA	GHE2019	GHE2019	GCB								otro	-11,509	9,62E-01
congelado	LYSA	GHE2019	GHE2019	GCB								otro	-11,509	9,61E-02

(continuación)

Las características de las 317 muestras analizadas en este artículo, identificadas por su ARN e ID únicas de paciente. Cuando estaba disponible, la clasificación de GCB-ABC de referencia evaluada por Affymetrix, DASL o IHC se proporciona junto con la clasificación final (MLPA). Las puntuaciones sin procesar y las probabilidades de pertenecer al subgrupo ABC también se proporcionan, calculadas por la prueba diagnóstica de RT-MLPA (la probabilidad de pertenecer al subgrupo GCB puede calcularse como el complemento a 1).

Material	Cohorte	ARN	Paciente	Affymetrix	DASL	DASL_puntuación	IHC	OS.tiempo (años)	PFS.tiempo (años)	OS.acontecimiento	PFS.acontecimiento	MLPA	MLPA_puntuación	MLPA_p (ABC)
congelado	LYSA	GHE2026	GHE2026	ABC								ABC	7,649	9,89E-01
congelado	LYSA	GHE2030	GHE2030	ABC								ABC	2,960	9,65E-01
congelado	LYSA	GHE2109	GHE2109	otro								ABC	3,627	9,70E-01
congelado	adicional	1560	UPN0958				GCB	11,91	11,91	FALSO	FALSO	GCB	-29,883	1,50E-06
congelado	adicional	1572	UPN0962				GCB	11,36	1,35	FALSO	VERDADERO	GCB	17,211	9,97E-01
congelado	adicional	1624	UPN0968				GCB	9,52	1,17	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-16,294	8,96E-03
congelado	adicional	2462	UPN1025				No	7,80	7,80	FALSO	FALSO	ABC	13,738	9,96E-01
congelado	adicional	2686	UPN2035				No	9,31	9,31	FALSO	FALSO	ABC	15,295	9,97E-01
congelado	adicional	2763	UPN1161				No	2,04	0,80	VERDADERO	VERDADERO	otro	-5,828	5,69E-01
congelado	adicional	2881	UPN1170				No	0,69	0,69	VERDADERO	VERDADERO	otro	-12,649	5,73E-02
congelado	adicional	2900	UPN1084				GCB	1,20	0,69	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-36,003	1,30E-08
congelado	adicional	3191	UPN2036				GCB	7,54	7,54	FALSO	FALSO	ABC	15,911	9,97E-01
congelado	adicional	3235	UPN1209					4,02	1,55	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-47,321	5,16E-13
congelado	adicional	3247	UPN1211					6,22	1,00	VERDADERO	VERDADERO	ABC	4,438	9,76E-01
congelado	adicional	3454	UPN1232					8,92	8,92	FALSO	FALSO	otro	1,409	9,45E-01
congelado	adicional	3608	UPN1252				GCB	8,42	8,42	FALSO	FALSO	GCB	-24,767	5,34E-05
congelado	adicional	3750	UPN1260				GCB	3,04	1,71	VERDADERO	VERDADERO	otro	-5,032	6,44E-01
congelado	adicional	4258	UPN0966				GCB	1,10	0,75	VERDADERO	VERDADERO	ABC	16,789	9,97E-01
congelado	adicional	4594	UPN1336				No	5,71	1,71	VERDADERO	VERDADERO	ABC	12,204	9,98E-01
congelado	adicional	4853	UPN0891				GCB	2,60	2,60	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-38,281	1,94E-09
congelado	adicional	5719	UPN1402				No	4,64	4,64	VERDADERO	VERDADERO	ABC	19,872	9,98E-01
congelado	adicional	6771	UPN1473				No	4,16	3,86	VERDADERO	VERDADERO	ABC	6,194	9,84E-01
congelado	adicional	7136	UPN1490				GCB	3,21	1,50	VERDADERO	VERDADERO	otro	-4,446	6,95E-01
congelado	adicional	7280	UPN1164				No	0,90	0,90	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-16,573	7,70E-03
congelado	adicional	8056	UPN2037				GCB	5,74	5,74	FALSO	FALSO	ABC	12,668	9,96E-01
congelado	adicional	8090	UPN1547				No	4,65	4,65	FALSO	FALSO	ABC	12,207	9,95E-01
congelado	adicional	8119	UPN1549				GCB	1,26	0,95	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-42,679	4,07E-11
congelado	adicional	8307	UPN0856				GCB	0,67	0,67	VERDADERO	VERDADERO	ABC	5,673	9,82E-01
congelado	adicional	8743	UPN2038				No	4,99	4,32	FALSO	FALSO	GCB	-49,660	5,10E-14
congelado	adicional	9022	UPN1597				GCB	0,96	0,96	VERDADERO	VERDADERO	otro	-0,874	8,92E-01
congelado	adicional	9083	UPN1603				GCB	3,96	3,96	FALSO	FALSO	otro	-6,265	5,25E-01
congelado	adicional	9231	UPN1561				No	0,67	0,67	FALSO	FALSO	ABC	13,348	9,96E-01
congelado	adicional	9397	UPN1630				GCB	4,99	4,32	VERDADERO	VERDADERO	otro	0,510	9,29E-01
congelado	adicional	9831	UPN1654				GCB	0,96	0,96	FALSO	FALSO	ABC	13,737	9,96E-01
congelado	adicional	9831	UPN1657				GCB	3,96	3,96	FALSO	FALSO	ABC	14,966	9,97E-01
congelado	adicional	9881	UPN1662				GCB							
congelado	adicional	10035	UPN1565				GCB							
congelado	adicional	10401	UPN1691				GCB							
congelado	adicional	10823	UPN1718				GCB							

(continuación)

Las características de las 317 muestras analizadas en este artículo, identificadas por su ARN e ID únicas de paciente. Cuando estaba disponible, la clasificación de GCB-ABC de referencia evaluada por Affymetrix, DASL o IHC se proporciona junto con la clasificación final (MLPA). Las puntuaciones sin procesar y las probabilidades de pertenecer al subgrupo ABC también se proporcionan, calculadas por la prueba diagnóstica de RT-MLPA (la probabilidad de pertenecer al subgrupo GCB puede calcularse como el complemento a 1).														
Material	Cohorte	ARN	Paciente	Affymetrix	DASL	DASL_puntuación	IHC	OS_tiempo (años)	PFS_tiempo (años)	OS.acontecimiento	PFS.acontecimiento	MLPA MLPA_puntuación	MLPA_p (ABC)	
congelado	adicional	11105	UPN1741				No	0,68	0,50	VERDADERO	VERDADERO	ABC	10,482	9,94E-01
congelado	adicional	11222	UPN0841				No					ABC	17,459	9,97E-01
congelado	adicional	11284	UPN1753				No	0,19	0,13	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-24,883	4,94E-05
congelado	adicional	11767	UPN0707				No					GCB	-43,936	1,28E-11
congelado	adicional	11768	UPN0445				No					ABC	10,466	9,94E-01
congelado	adicional	11770	UPN0810				No					ABC	13,625	9,96E-01
congelado	adicional	11779	UPN0373				No					ABC	1,793	9,51E-01
congelado	adicional	11887	UPN1789				GCB	2,48	2,48	FALSO	FALSO	ABC	7,641	9,89E-01
congelado	adicional	12003	UPN1800				GCB	2,55	2,55	FALSO	FALSO	ABC	-31,670	3,94E-07
congelado	adicional	12100	UPN1805				GCB	3,37	3,37	FALSO	FALSO	GCB	-21,441	4,50E-04
congelado	adicional	12141	UPN1806				GCB	1,17	0,65	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-57,438	1,36E-17
congelado	adicional	12284	UPN1814				No					ABC	14,451	9,97E-01
congelado	adicional	12422	UPN1827				GCB	3,02	3,02	FALSO	FALSO	GCB	-37,225	4,72E-09
congelado	adicional	12547	UPN1838				No	0,01	0,01	VERDADERO	VERDADERO	ABC	9,080	9,92E-01
congelado	adicional	12621	UPN1841				No	2,43	2,43	FALSO	FALSO	GCB	-36,585	8,03E-09
congelado	adicional	12639	UPN1842				No	2,62	2,62	VERDADERO	VERDADERO	otro	-11,558	9,41E-02
congelado	adicional	12757	UPN1849				No	2,69	2,69	FALSO	FALSO	GCB	-24,791	5,25E-05
congelado	adicional	12766	UPN1850				No	2,78	2,78	FALSO	FALSO	GCB	-51,481	8,00E-15
congelado	adicional	12855	UPN1455				No	6,82	4,08	FALSO	VERDADERO	otro	-5,154	6,33E-01
congelado	adicional	12861	UPN1861				No	2,22	2,22	FALSO	FALSO	otro	-4,139	7,19E-01
congelado	adicional	12984	UPN1865				No	2,31	2,31	FALSO	FALSO	ABC	2,188	9,56E-01
congelado	adicional	12986	UPN1866				No	0,08	0,05	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-27,776	6,81E-06
congelado	adicional	13016	UPN1868				No	2,73	2,73	FALSO	FALSO	ABC	12,123	9,95E-01
congelado	adicional	13062	UPN1871				No	2,60	2,60	FALSO	FALSO	ABC	-5,904	5,61E-01
congelado	adicional	13274	UPN1887				No	1,59	1,29	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-31,208	5,59E-07
congelado	adicional	13519	UPN1899				No	2,30	1,68	FALSO	VERDADERO	otro	-5,117	6,37E-01
congelado	adicional	13761	UPN1911				No	1,43	1,11	VERDADERO	VERDADERO	ABC	16,505	9,97E-01
congelado	adicional	13959	UPN1920				No	2,20	2,20	FALSO	FALSO	GCB	-27,542	8,03E-06
congelado	adicional	14186	UPN1938				No	2,11	2,11	FALSO	FALSO	ABC	2,709	9,62E-01
congelado	adicional	14341	UPN1948				No	0,45	0,45	VERDADERO	VERDADERO	ABC	17,675	9,98E-01
congelado	adicional	14347	UPN1798				No	2,87	1,44	FALSO	VERDADERO	GCB	-16,772	6,90E-03
congelado	adicional	2898	UPN0914				GCB					otro	-2,693	8,14E-01
congelado	adicional	4222	UPN1306				No	3,72	2,04	VERDADERO	VERDADERO	ABC	4,359	9,76E-01
congelado	adicional	4467	UPN1324				No	4,25	4,20	VERDADERO	VERDADERO	otro	1,238	9,42E-01
congelado	adicional	4788	UPN1359				No	7,42	7,42	FALSO	FALSO	GCB	-34,014	6,41E-08
congelado	adicional	4950	UPN1372				No	2,79	2,79	FALSO	FALSO	otro	-8,156	3,31E-01
congelado	adicional	5541	UPN1396				GCB	6,54	1,39	FALSO	VERDADERO	GCB	-22,444	2,40E-04
congelado	adicional	6092	UPN1434				GCB	0,88	0,50	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-20,530	7,86E-04

(continuación)

Las características de las 317 muestras analizadas en este artículo, identificadas por su ARN e ID únicas de paciente. Cuando estaba disponible, la clasificación de GCB-ABC de referencia evaluada por Affymetrix, DASL o IHC, se proporciona junto con la clasificación final (MLPA). Las puntuaciones sin procesar y las probabilidades de pertenecer al subgrupo ABC también se proporcionan, calculadas por la prueba diagnóstica de RT-MLPA (la probabilidad de pertenecer al subgrupo GCB puede calcularse como el complemento a 1).														
Material	Cohorte	ARN	Paciente	Affymetrix	DASL	DASL_puntuación	IHC	OS.tiempo (años)	PFS.tiempo (años)	OS.acontecimiento	PFS.acontecimiento	MLPA	MLPA_puntuación	MLPA_p (ABC)
congelado	adicional	8193	UPN0285				No					ABC	2,422	9,69E-01
congelado	adicional	8730	UPN1586				GCB	3,75	3,75	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-34,945	3,06E-08
congelado	adicional	9647	UPN1178				GCB					GCB	-29,031	2,78E-06
congelado	adicional	10181	UPN1675					4,04	4,04	FALSO	FALSO	GCB	-38,852	1,19E-09
congelado	adicional	10724	UPN1703					3,76	3,76	FALSO	FALSO	otro	-9,166	2,41E-01
congelado	adicional	11573	UPN1773					3,01	3,01	FALSO	FALSO	GCB	-39,515	6,74E-10
congelado	validación	9260	UPN1622		GCB	-7,352		4,43	4,43	FALSO	FALSO	GCB	-33,227	1,19E-07
congelado	réplicas	9260_R02	UPN1622									GCB	-33,139	1,27E-07
congelado	réplicas	9260_R03	UPN1622									GCB	-32,411	2,24E-07
congelado	réplicas	9260_R04	UPN1622									GCB	-33,155	1,26E-07
congelado	réplicas	9260_R05	UPN1622									GCB	-33,275	1,15E-07
congelado	réplicas	9260_R06	UPN1622									GCB	-32,721	1,76E-07
congelado	réplicas	9260_R07	UPN1622									GCB	-32,956	1,47E-07
congelado	réplicas	9260_R08	UPN1622									GCB	-32,131	2,77E-07
congelado	réplicas	9260_R09	UPN1622									GCB	-33,453	9,97E-08
congelado	réplicas	9260_R10	UPN1622									GCB	-32,972	1,45E-07
congelado	capacitación	9402	UPN1633		ABC	14,158		0,59	0,56	VERDADERO	VERDADERO	ABC	18,084	9,98E-01
congelado	réplicas	9402_R02	UPN1633									ABC	17,725	9,98E-01
congelado	réplicas	9402_R03	UPN1633									ABC	17,901	9,98E-01
congelado	réplicas	9402_R04	UPN1633									ABC	17,124	9,97E-01
congelado	réplicas	9402_R05	UPN1633									ABC	17,731	9,98E-01
congelado	réplicas	9402_R06	UPN1633									ABC	18,286	9,98E-01
congelado	réplicas	9402_R07	UPN1633									ABC	17,444	9,97E-01
congelado	réplicas	9402_R08	UPN1633									ABC	17,734	9,98E-01
congelado	réplicas	9402_R09	UPN1633									ABC	17,606	9,98E-01
congelado	réplicas	9402_R10	UPN1633									ABC	17,599	9,98E-01
congelado	capacitación	1841	UPN1010		ABC	6,555		8,72	8,72	FALSO	FALSO	otro	-5,508	6,00E-01
congelado	capacitación	2663	UPN1149		ABC	12,958		6,36	6,36	FALSO	FALSO	ABC	8,438	9,91E-01
congelado	capacitación	3495	UPN1028		ABC	11,192						ABC	8,903	9,91E-01
congelado	capacitación	3958	UPN1281		ABC	13,045		8,44	8,44	FALSO	FALSO	ABC	10,389	9,94E-01
congelado	capacitación	4022	UPN1291		ABC	12,335		0,93	0,48	VERDADERO	VERDADERO	ABC	12,813	9,96E-01
congelado	capacitación	4327	UPN1313		ABC	10,142		7,78	7,78	FALSO	FALSO	ABC	11,460	9,95E-01
congelado	capacitación	4657	UPN0943		ABC	12,310						ABC	14,486	9,97E-01
congelado	capacitación	4943	UPN1370		ABC	17,298		0,47	0,46	VERDADERO	VERDADERO	ABC	17,806	9,98E-01
congelado	capacitación	5259	UPN0497		ABC	9,512						ABC	6,762	9,86E-01
congelado	capacitación	5261	UPN0526		ABC	8,168						ABC	8,155	9,90E-01
congelado	capacitación	5263	UPN0721		ABC	6,295						ABC	4,015	9,73E-01
congelado	capacitación	5642	UPN0466		ABC	12,579						ABC	8,046	9,90E-01
congelado	capacitación	5844	UPN1415		ABC	11,168		1,38	0,86	VERDADERO	VERDADERO	ABC	19,686	9,98E-01
congelado	capacitación	6572	UPN1465		ABC	9,940		1,16	0,88	VERDADERO	VERDADERO	ABC	12,970	9,96E-01
congelado	capacitación	7052	UPN1486		ABC	17,700		1,78	1,78	FALSO	FALSO	ABC	19,242	9,98E-01
congelado	capacitación	8005	UPN1540		ABC	10,242		1,34	0,85	VERDADERO	VERDADERO	ABC	13,203	9,96E-01
congelado	capacitación	8026	UPN1541		ABC	15,877		0,90	0,73	VERDADERO	VERDADERO	ABC	16,699	9,97E-01
congelado	capacitación	8194	UPN0878		ABC	13,199						ABC	17,650	9,98E-01
congelado	capacitación	8196	UPN0937		ABC	11,665						ABC	9,857	9,93E-01
congelado	capacitación	8607	UPN1574		ABC	12,665		2,12	0,63	VERDADERO	VERDADERO	ABC	5,932	9,83E-01
congelado	capacitación	8709	UPN1583		ABC	9,113		1,30	0,54	VERDADERO	VERDADERO	otro	-1,899	8,53E-01
congelado	capacitación	9093	UPN1604		ABC	9,430		0,05	0,05	VERDADERO	VERDADERO	otro	-4,985	6,49E-01
congelado	capacitación	9398	UPN1631		ABC	6,036		0,93	0,93	VERDADERO	VERDADERO	ABC	14,197	9,96E-01
congelado	capacitación	9481	UPN1637		ABC	12,831		2,25	2,20	VERDADERO	VERDADERO	ABC	19,840	9,98E-01

(continuación)

Las características de las 317 muestras analizadas en este artículo, identificadas por su ARN e ID únicas de paciente. Cuando estaba disponible, la clasificación de GCB-ABC de referencia evaluada por Affymetrix, DASL o IHC se proporciona junto con la clasificación final (MLPA). Las puntuaciones sin procesar y las probabilidades de pertenecer al subgrupo ABC también se proporcionan, calculadas por la prueba diagnóstica de RT-MLPA (la probabilidad de pertenecer al subgrupo GCB puede calcularse como el complemento a 1).

Material	Cohorte	ARN	Paciente	Affymetrix	DASL	DASL_puntuación	IHC	OS.tiempo (años)	PFS.tiempo (años)	OS.acontecimiento	PFS.acontecimiento	MLPA	MLPA_puntuación	MLPA.p (ABC)
congelado	capacitación	10673	UPN1296	ABC	10,370	10,370	No	3,29	3,29	FALSO	FALSO	otro	-8,056	3,41E-01
congelado	capacitación	11061	UPN1732	ABC	12,801	12,801	GCB	3,53	1,31	FALSO	VERDADERO	ABC	12,960	9,96E-01
congelado	capacitación	11254	UPN1750	ABC	14,058	14,058	No	1,69	1,12	VERDADERO	VERDADERO	ABC	14,046	9,96E-01
congelado	capacitación	11635	UPN1768	ABC	12,207	12,207	GCB	0,04	0,04	VERDADERO	VERDADERO	ABC	13,520	9,96E-01
congelado	capacitación	1604	UPN0964	GCB	-6,562	-6,562	No					GCB	-51,942	4,97E-15
congelado	capacitación	3010	UPN0602	GCB	-6,902	-6,902	No					GCB	-35,210	2,47E-08
congelado	capacitación	3577	UPN1251	GCB	-6,146	-6,146	No	8,34	8,34	FALSO	FALSO	GCB	-61,664	1,10E-19
congelado	capacitación	3839	UPN0853	GCB	-6,034	-6,034	No					GCB	-31,067	6,21E-07
congelado	capacitación	5220	UPN1386	GCB	-7,046	-7,046	No	7,03	0,96	FALSO	VERDADERO	GCB	-55,984	6,68E-17
congelado	capacitación	5285	UPN0987	GCB	-0,037	-0,037	No					otro	-11,930	7,98E-02
congelado	capacitación	5338	UPN1392	GCB	-0,042	-0,042	No	1,82	1,14	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-14,479	2,33E-02
congelado	capacitación	5643	UPN0494	GCB	-4,501	-4,501	No					GCB	-40,421	3,06E-10
congelado	capacitación	5722	UPN1404	GCB	-1,630	-1,630	No	6,33	6,33	FALSO	FALSO	GCB	-13,816	3,26E-02
congelado	capacitación	6242	UPN1443	GCB	-8,608	-8,608	No	4,60	4,60	FALSO	FALSO	GCB	-59,637	1,14E-18
congelado	capacitación	6460	UPN1458	GCB	0,659	0,659	No	5,75	5,75	FALSO	FALSO	GCB	-15,810	1,16E-02
congelado	capacitación	7026	UPN1485	GCB	-5,099	-5,099	No	2,81	2,81	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-27,192	1,03E-05
congelado	capacitación	7388	UPN1505	GCB	-7,208	-7,208	No	5,41	5,41	FALSO	FALSO	GCB	-33,746	7,92E-08
congelado	capacitación	7688	UPN1525	GCB	-3,601	-3,601	No	3,53	3,53	FALSO	FALSO	GCB	-29,054	2,73E-06
congelado	capacitación	8190	UPN0235	GCB	-6,507	-6,507	No					GCB	-53,620	8,57E-16
congelado	capacitación	9017	UPN1596	GCB	-1,494	-1,494	No	4,70	4,70	FALSO	FALSO	GCB	-14,522	2,28E-02
congelado	capacitación	9217	UPN1614	GCB	-6,946	-6,946	No	4,59	4,59	FALSO	FALSO	GCB	-33,149	1,26E-07
congelado	capacitación	9296	UPN1623	GCB	-2,870	-2,870	No	4,30	4,30	FALSO	FALSO	GCB	-42,449	5,01E-11
congelado	capacitación	9503	UPN1639	GCB	-3,785	-3,785	No	4,35	4,35	FALSO	FALSO	GCB	-48,289	2,00E-13
congelado	capacitación	10599	UPN1378	GCB	-7,147	-7,147	No	7,89	2,15	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-39,372	7,63E-10
congelado	capacitación	11847	UPN1787	GCB	-0,574	-0,574	No	2,68	2,68	FALSO	FALSO	GCB	-40,977	1,87E-10
congelado	validación	1816	UPN1003	ABC	13,384	13,384	GCB	11,95	11,95	FALSO	FALSO	ABC	14,743	9,97E-01
congelado	validación	3284	UPN1217	ABC	9,614	9,614	No	2,80	1,24	VERDADERO	VERDADERO	otro	-4,388	7,00E-01
congelado	validación	3893	UPN1275	ABC	11,262	11,262	GCB					ABC	10,173	9,93E-01
congelado	validación	4041	UPN1290	ABC	8,329	8,329	No	7,79	7,79	FALSO	FALSO	ABC	14,054	9,96E-01
congelado	validación	4150	UPN1297	ABC	12,353	12,353	GCB					otro	-2,558	8,21E-01
congelado	validación	4405	UPN1318	ABC	9,141	9,141	No	0,36	0,36	VERDADERO	VERDADERO	ABC	9,728	9,93E-01
congelado	validación	4673	UPN1344	ABC	13,771	13,771	No					ABC	17,647	9,98E-01
congelado	validación	5258	UPN0430	ABC	11,769	11,769	GCB					ABC	16,703	9,97E-01
congelado	validación	5260	UPN0522	ABC	16,317	16,317	GCB					ABC	13,279	9,96E-01
congelado	validación	5262	UPN0591	ABC	12,010	12,010	GCB					ABC	10,143	9,93E-01
congelado	validación	5637	UPN0301	ABC	11,695	11,695	GCB					ABC	12,642	9,96E-01
congelado	validación	5802	UPN1411	ABC	13,726	13,726	GCB	1,36	0,69	VERDADERO	VERDADERO	ABC	23,087	9,98E-01
congelado	validación	6147	UPN1437	ABC	13,294	13,294	GCB	0,07	0,07	VERDADERO	VERDADERO	ABC	10,970	9,94E-01
congelado	validación	6770	UPN1474	ABC	6,151	6,151	No	5,48	5,48	FALSO	FALSO	otro	1,551	9,47E-01

(continuación)

Las características de las 317 muestras analizadas en este artículo, identificadas por su ARN e ID únicas de paciente. Cuando estaba disponible, la clasificación de GCB-ABC de referencia evaluada por Afymetrix, DASL o IHC se proporciona junto con la clasificación final (MLPA). Las puntuaciones sin procesar y las probabilidades de pertenecer al subgrupo ABC también se proporcionan, calculadas por la prueba diagnóstica de RT-MLPA (la probabilidad de pertenecer al subgrupo GCB puede calcularse como el complemento a 1).														
Material	Cohorte	ARN	Paciente	Afymetrix	DASL	DASL_puntuación	IHC	OS:tiempo (años)	PFS:tiempo (años)	OS:acontecimiento	PFS:acontecimiento	MLPA	MLPA_puntuación	MLPA,P (ABC)
congelado	validación	8008	UPN1449	ABC	ABC	12,457	No	1,66	1,07	VERDADERO	VERDADERO	ABC	14,695	9,97E-01
congelado	validación	8041	UPN1542	ABC	ABC	11,859	No	0,52	0,52	FALSO	FALSO	ABC	12,950	9,96E-01
congelado	validación	8195	UPN0934	ABC	ABC	9,857	No					ABC	7,114	9,87E-01
congelado	validación	8268	UPN1559	ABC	ABC	9,418	No					ABC	3,556	9,70E-01
congelado	validación	8431	UPN1569	ABC	ABC	10,088	No	0,74	0,49	VERDADERO	VERDADERO	otro	-12,476	6,21E-02
congelado	validación	9138	UPN1608	ABC	ABC	7,868	GCB	4,21	2,32	FALSO	VERDADERO	ABC	10,201	9,93E-01
congelado	validación	9401	UPN1632	ABC	ABC	4,812	No	4,50	4,50	FALSO	FALSO	GCB	-39,447	7,15E-10
congelado	validación	9507	UPN1635	ABC	ABC	5,529	GCB	2,40	2,06	VERDADERO	VERDADERO	ABC	8,131	9,90E-01
congelado	validación	10451	UPN1694	ABC	ABC	11,282	GCB	1,21	1,07	VERDADERO	VERDADERO	ABC	11,721	9,95E-01
congelado	validación	10922	UPN1721	ABC	ABC	12,097	No	3,05	3,05	FALSO	FALSO	ABC	8,390	9,90E-01
congelado	validación	11077	UPN1737	ABC	ABC	15,220	No	3,33	3,33	FALSO	FALSO	ABC	14,407	9,97E-01
congelado	validación	784	UPN0660	ABC	ABC	6,618	No					ABC	8,417	9,91E-01
congelado	validación	3809	UPN1265	ABC	ABC	9,141	No	7,88	7,88	FALSO	FALSO	otro	-1,083	8,85E-01
congelado	validación	4264	UPN0188	ABC	ABC	11,465	No					ABC	9,126	9,92E-01
congelado	validación	4654	UPN0822	ABC	ABC	10,375	No					ABC	18,277	9,98E-01
congelado	validación	5257	UPN0456	ABC	ABC	9,489	No					ABC	3,363	9,68E-01
congelado	validación	7214	UPN1497	ABC	ABC	4,536	GCB					GCB	-17,306	5,13E-03
congelado	validación	8189	UPN0106	ABC	ABC	4,687	No					otro	-8,815	2,71E-01
congelado	validación	9717	UPN1647	ABC	ABC	7,130	GCB	0,67	0,57	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-29,693	1,72E-06
congelado	validación	819	UPN0722	GCB	GCB	-8,051	GCB					GCB	-50,666	1,85E-14
congelado	validación	1905	UPN0941	GCB	GCB	-0,640	No					otro	-5,785	5,73E-01
congelado	validación	3002	UPN0935	GCB	GCB	-8,759	GCB					GCB	-25,261	3,84E-05
congelado	validación	3009	UPN0776	GCB	GCB	-6,980	GCB					GCB	-45,043	4,56E-12
congelado	validación	3377	UPN1013	GCB	GCB	-5,342	GCB					GCB	-39,527	6,67E-10
congelado	validación	3671	UPN1001	GCB	GCB	-4,828	GCB					GCB	-36,497	8,64E-09
congelado	validación	4261	UPN0488	GCB	GCB	-7,597	GCB					GCB	-32,137	2,76E-07
congelado	validación	4922	UPN1368	GCB	GCB	-5,247	GCB	6,82	6,82	FALSO	FALSO	GCB	-29,325	2,25E-06
congelado	validación	5285	UPN1389	GCB	GCB	-6,337	GCB	6,74	6,74	FALSO	FALSO	GCB	-59,611	1,18E-18
congelado	validación	5639	UPN0304	GCB	GCB	-5,714	GCB					GCB	-21,368	4,70E-04
congelado	validación	5647	UPN0801	GCB	GCB	-7,328	GCB					GCB	-27,562	7,91E-06
congelado	validación	6024	UPN1429	GCB	GCB	-6,637	GCB	0,76	0,76	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-47,417	4,70E-13
congelado	validación	6895	UPN1478	GCB	GCB	-8,357	GCB	5,17	5,17	FALSO	FALSO	GCB	-47,993	2,67E-13
congelado	validación	7265	UPN1499	GCB	GCB	-4,377	GCB	0,42	0,21	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-26,525	1,63E-05
congelado	validación	7676	UPN1524	GCB	GCB	-4,818	GCB	5,06	5,06	FALSO	FALSO	GCB	-53,819	6,94E-16
congelado	validación	7764	UPN1528	GCB	GCB	-8,238	No	5,33	5,33	FALSO	FALSO	GCB	-43,536	1,86E-11
congelado	validación	8283	UPN1560	GCB	GCB	-3,768	No	0,17	0,17	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-22,614	2,16E-04

(continuación)

Las características de las 317 muestras analizadas en este artículo, identificadas por su ARN e ID únicas de paciente. Cuando estaba disponible, la clasificación de GCB-ABC de referencia evaluada por Affymetrix, DASL o IHC se proporciona junto con la clasificación final (MLPA). Las puntuaciones sin procesar y las probabilidades de pertenecer al subgrupo ABC también se proporcionan, calculadas por la prueba diagnóstica de RT-MLPA (la probabilidad de pertenecer al subgrupo GCB puede calcularse como el complemento a 1).

Material	Cohorte	ARN	Paciente	Affymetrix	DASL	DASL puntuación	IHC	OS tiempo (años)	PFS tiempo (años)	OS acontecimiento	PFS acontecimiento	MLPA	MLPA puntuación	MLPA p (ABC)
congelado	validación	9360	UPN1627	GCB	GCB	-3,007	GCB	4,25	4,25	FALSO	FALSO	GCB	-35,253	2,38E-08
congelado	validación	10258	UPN1684	GCB	GCB	0,734	GCB	3,53	3,53	FALSO	FALSO	GCB	-38,969	1,08E-09
congelado	validación	10305	UPN1580	GCB	GCB	-4,477	GCB	1,19	0,29	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-49,006	9,82E-14
congelado	validación	12043	UPN1801	GCB	GCB	-6,563	GCB					GCB	-54,519	3,29E-16
congelado	validación	780	UPN0699	GCB	GCB	-1,919	No					ABC	19,367	9,98E-01
congelado	validación	2330	UPN1094	GCB	GCB	0,252	GCB					GCB	-22,534	2,27E-04
congelado	validación	3091	UPN1190	GCB	GCB	0,417	GCB	9,41	9,41	FALSO	FALSO	otro	-9,335	2,27E-01
congelado	validación	4235	UPN1308	GCB	GCB	-0,947	GCB	7,70	7,70	FALSO	FALSO	GCB	-38,282	1,94E-09
congelado	validación	5750	UPN1454	GCB	GCB	-2,366	GCB	0,99	0,47	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-32,739	1,74E-07
congelado	validación	5766	UPN1407	GCB	GCB	-2,369	GCB	0,81	0,64	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-36,752	7,00E-09
congelado	validación	8886	UPN1587	GCB	GCB	0,074	No					GCB	-24,264	7,44E-05
congelado	validación	9797	UPN1652	GCB	GCB	-0,071	GCB	4,02	4,02	FALSO	FALSO	otro	-7,488	3,98E-01
congelado	validación	10223	UPN1680	GCB	GCB	-0,079	GCB	1,09	0,56	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-49,276	7,50E-14
congelado	validación	10322	UPN1687	GCB	GCB	0,456	GCB	0,11	0,11	VERDADERO	VERDADERO	GCB	-13,770	3,34E-02

Tabla S2: Expresión génica medida por RT-MLPA.

Los valores normalizados para la muestra de la expresión de los 14 genes medida por RT-MLPA en las diversas cohortes analizadas en todo este artículo, incluyendo las series de capacitación, validación, externa y FFPE.

Muestra	NEK6	IRF4	IGHM	CCND1	LMO2	FOXP1	TNFRSF9	BCL6	TNFRSF13B	CCND2	MYC	MYBL1	BCL2	MS4A1
10035	0,378	1,439	1,669	0,215	0,504	2,214	0,305	0,450	0,539	0,040	0,878	0,046	0,377	2,117
10181	0,374	0,982	1,319	0,847	1,913	0,671	0,885	0,960	0,101	0,017	0,510	0,242	0,063	2,472
10223	0,740	0,290	1,950	1,095	0,463	1,248	0,537	1,471	0,083	0,051	1,504	1,836	0,108	0,634
10258	0,932	1,244	0,708	0,799	0,900	0,938	1,192	0,818	0,276	0,358	0,756	0,906	0,340	2,379
10305	1,369	1,955	0,080	1,142	1,110	0,633	0,661	0,654	0,042	0,490	1,239	0,832	0,153	1,898
10322	0,608	1,075	2,661	0,869	0,912	0,724	0,554	0,136	0,260	1,058	1,073	0,188	0,320	1,231
10401	0,116	1,571	2,237	0,278	0,070	1,652	0,243	0,285	0,542	1,018	0,646	0,044	0,244	2,058
10451	0,180	1,684	1,875	0,854	0,212	1,584	0,265	0,417	0,932	1,153	1,336	0,093	0,622	1,152
10599	1,082	0,942	0,298	1,580	1,120	0,662	0,368	0,678	0,040	1,069	2,153	0,306	0,821	1,333
10673	0,118	1,664	1,050	0,722	0,351	1,722	1,659	1,506	0,051	1,004	1,300	0,088	0,211	0,789
10724	0,098	0,157	0,038	2,792	0,430	0,825	0,067	0,092	0,047	2,057	2,045	0,171	0,205	0,042
10823	0,063	1,572	3,380	0,417	0,095	0,272	0,176	0,101	0,471	0,794	0,323	0,056	0,039	0,402
10922	0,121	1,757	2,216	1,118	0,279	1,546	0,610	0,340	0,517	0,854	1,112	0,145	0,540	0,872
11061	0,181	1,683	1,850	0,595	0,086	1,575	0,436	0,577	0,980	1,291	1,175	0,091	0,946	0,990
11077	0,021	2,065	2,897	0,226	0,109	1,755	0,257	0,241	0,127	0,196	0,697	0,050	0,070	0,495
11105	0,266	1,801	1,554	0,489	0,175	0,697	0,254	0,089	0,820	2,144	1,540	0,069	0,572	1,225
11222	0,049	1,246	1,957	0,097	0,080	1,919	0,278	0,324	1,044	1,219	0,825	0,072	0,243	1,978
11254	0,188	1,860	2,311	0,465	0,094	1,552	0,140	0,154	0,526	1,360	1,312	0,040	0,230	0,988
11284	0,096	2,087	0,792	0,364	1,300	1,605	0,558	1,575	0,128	0,566	0,563	0,246	0,054	1,779
11573	0,721	1,188	0,320	1,377	1,616	1,321	0,887	0,773	0,066	0,757	1,473	0,271	0,119	1,723
11635	0,152	1,979	2,300	0,231	0,317	1,919	0,274	0,107	0,623	0,048	1,625	0,030	0,156	0,802
11767	0,822	0,851	0,947	0,307	1,559	1,088	0,711	0,98	0,106	0,794	0,516	0,442	0,699	2,420

(continuación)

Los valores normalizados para la muestra de la expresión de los 14 genes medida por RT-MLPA en las diversas cohortes analizadas en todo este artículo, incluyendo las series de capacitación, validación, externa y FFPE.

Muestra	NEK6	IRF4	IGHM	CCND1	LMO2	FOXP1	TNFRSF9	BCL6	TNFRSF13B	CCND2	MYC	MYBL1	BCL2	MS4A1
11768	0,081	1,363	2,046	0,056	0,284	2,114	0,189	0,800	0,989	0,875	0,787	0,080	0,559	1,433
11770	0,034	1,185	1,886	0,106	0,065	2,094	0,192	0,883	0,992	1,231	0,905	0,047	0,464	1,588
11779	0,189	1,637	0,649	0,415	0,460	2,067	0,896	0,858	1,125	0,648	0,765	0,213	0,170	1,955
11847	0,856	0,854	1,099	1,102	1,572	0,886	0,604	0,730	0,101	0,602	0,788	0,325	0,268	2,412
11887	0,162	1,452	2,345	0,309	0,135	1,674	0,661	0,892	0,602	0,187	1,089	0,066	0,248	1,624
12003	0,192	1,308	1,118	0,861	1,937	1,881	0,513	1,169	0,271	0,269	1,207	0,130	0,020	1,249
12043	1,067	0,839	1,067	0,770	1,557	1,049	0,608	1,462	0,065	0,266	1,202	0,638	0,104	1,943
12100	0,274	0,348	1,570	0,154	0,139	1,567	0,317	2,133	0,054	0,132	1,765	0,508	0,192	1,865
12141	0,975	1,458	0,033	1,291	1,992	0,302	0,242	1,488	0,048	0,101	0,776	0,299	0,107	2,167
12284	0,089	1,956	2,346	0,945	0,173	1,444	0,239	0,113	0,693	0,223	1,312	0,167	0,235	1,246
12422	0,627	0,938	0,018	0,323	0,255	1,565	0,670	1,306	0,063	0,284	0,623	1,307	0,844	2,583
12547	0,243	1,794	1,963	0,951	0,299	0,962	0,725	0,224	0,811	1,057	0,909	0,085	0,324	1,804
12621	0,438	1,010	1,906	0,430	1,439	1,183	0,373	1,233	0,143	0,175	0,723	0,592	0,670	1,974
12639	0,460	2,196	0,249	1,200	0,673	0,875	1,156	0,447	0,422	0,976	0,985	0,237	0,472	1,881
12757	0,641	0,876	1,012	0,829	0,830	1,743	0,227	1,363	0,227	0,989	1,839	0,149	0,248	1,544
12766	0,317	0,651	0,718	0,100	2,202	1,412	0,205	1,363	0,026	0,045	0,094	0,492	0,058	2,564
12855	0,336	0,929	2,584	1,115	0,370	1,422	0,764	0,317	0,070	0,796	0,763	0,313	0,292	1,489
12861	0,115	1,450	2,039	0,396	0,406	2,020	0,560	1,206	0,171	0,221	0,910	0,162	0,613	1,476
12984	0,038	1,276	2,743	0,924	0,440	1,558	0,366	0,851	0,298	0,298	1,032	0,071	0,079	0,966
12986	0,638	1,417	0,630	1,549	1,111	1,805	0,955	1,022	0,039	0,032	1,265	0,153	0,169	1,579
13016	0,047	1,918	2,548	0,128	0,350	1,585	0,095	0,213	0,440	1,382	0,744	0,014	0,043	1,048
13062	0,348	1,468	1,777	0,603	0,557	1,446	0,890	0,655	0,300	1,301	1,206	0,114	0,294	1,623
13274	0,391	0,487	1,344	0,874	0,757	1,603	0,308	0,986	0,048	0,513	1,640	0,914	0,798	1,914

(continuación)

Los valores normalizados para la muestra de la expresión de los 14 genes medida por RT-MLPA en las diversas cohortes analizadas en todo este artículo, incluyendo las series de capacitación, validación, externa y FFPE.

Muestra	NEK6	IRF4	IGHM	CCND1	LMO2	FOXP1	TNFRSF9	BCL6	TNFRSF13B	CCND2	MYC	MYBL1	BCL2	MS4A1
13519	0,164	1,518	1,191	0,576	0,586	2,183	1,240	0,742	0,321	0,933	0,844	0,194	0,425	1,447
13761	0,096	1,028	3,055	0,366	0,015	1,021	0,000	0,000	0,498	1,687	0,070	0,000	0,098	1,334
13959	0,611	0,076	1,177	0,158	0,046	1,492	0,403	1,957	0,060	0,150	1,398	0,615	0,647	2,352
14186	0,146	1,902	1,049	0,190	0,531	2,119	0,208	0,580	0,627	0,265	1,361	0,080	0,145	2,011
14341	0,060	1,828	2,935	0,100	0,045	1,701	0,133	0,258	0,446	0,532	0,647	0,007	0,205	0,657
14347	0,620	1,065	2,207	0,886	0,739	0,933	0,763	0,704	0,116	0,594	0,766	0,136	0,669	2,006
1560	0,147	0,168	2,485	0,177	1,150	0,995	0,344	2,281	0,055	0,051	0,914	0,100	0,171	1,346
1572	0,016	1,542	3,421	0,059	0,000	1,241	0,002	0,112	0,190	0,276	0,400	0,004	0,036	0,243
1604	1,159	2,168	0,064	1,615	2,195	0,455	0,262	0,449	0,021	0,175	1,664	0,203	0,038	0,212
1624	0,504	2,611	0,186	0,891	1,335	0,620	0,332	0,053	0,497	0,043	2,361	0,085	0,279	0,346
1816	0,067	1,275	3,592	0,110	0,033	0,600	0,033	0,024	0,188	0,178	0,497	0,010	0,064	0,114
1841	0,825	2,178	2,029	0,815	0,898	0,663	0,173	0,079	0,918	0,607	1,569	0,002	0,000	0,923
1905	0,187	2,069	0,724	0,094	1,164	1,145	0,085	0,539	1,058	0,057	2,465	0,064	0,128	1,137
2330	0,477	1,289	0,484	2,481	1,276	1,050	0,495	0,285	0,175	0,706	1,910	0,096	0,166	0,438
2462	0,050	0,705	3,366	0,097	0,094	1,388	0,053	0,078	0,291	0,753	1,037	0,008	0,062	0,224
2663	0,075	1,314	2,799	1,030	0,403	0,329	0,033	0,018	0,437	1,876	0,982	0,015	0,113	0,811
2686	0,030	1,349	2,168	0,175	0,051	2,123	0,122	0,232	0,467	0,964	0,651	0,032	0,249	2,014
2763	0,187	0,867	3,149	1,108	0,842	0,144	0,027	0,064	0,058	0,643	1,601	0,049	0,065	0,418
2881	0,559	1,519	0,059	2,171	0,912	1,419	0,167	0,000	0,416	0,323	1,962	0,065	0,189	1,476
2898	0,222	0,786	1,947	0,187	0,942	1,467	0,466	0,621	1,087	0,252	0,444	0,023	0,154	2,513
2900	0,581	1,476	1,493	0,380	1,575	1,070	0,704	1,113	0,457	0,172	0,869	0,533	0,156	1,945
3002	0,577	0,806	1,392	0,261	1,365	0,226	0,332	0,740	0,631	0,252	0,875	0,088	0,580	2,834
3009	1,352	1,265	0,532	0,983	1,529	0,391	0,421	0,533	0,209	1,254	1,465	0,222	0,918	1,715

(continuación)

Los valores normalizados para la muestra de la expresión de los 14 genes medida por RT-MLPA en las diversas cohortes analizadas en todo este artículo, incluyendo las series de capacitación, validación, externa y FFPE.

Muestra	NEK6	IRF4	IGHM	CCND1	LMO2	FOXP1	TNFRSF9	BCL6	TNFRSF13B	CCND2	MYC	MYBL1	BCL2	MS4A1
3010	0,228	0,057	0,074	0,053	0,399	1,091	0,204	1,148	0,065	0,102	2,636	1,269	0,985	2,055
3091	0,278	0,659	2,688	0,613	1,006	1,750	0,126	0,217	0,304	0,505	1,112	0,173	0,128	1,364
3191	0,030	2,386	0,986	0,059	0,033	2,132	0,066	0,520	0,646	0,025	1,580	0,000	0,089	1,683
3235	1,336	1,407	0,165	0,821	1,271	0,872	0,135	0,553	0,018	0,311	1,453	0,553	0,173	2,470
3247	0,178	0,721	2,477	0,591	0,083	1,444	0,460	0,370	0,382	0,374	1,151	0,264	0,151	2,191
3294	0,229	1,454	2,297	0,876	0,740	1,307	0,724	0,248	0,294	0,993	1,267	0,204	0,266	1,249
3377	0,990	1,499	0,233	0,739	0,968	1,316	0,568	0,806	0,045	0,445	1,326	0,698	0,111	2,341
3454	0,134	1,432	0,535	1,105	0,462	2,277	0,292	0,264	0,495	1,413	1,793	0,152	0,283	1,062
3495	0,091	2,295	0,059	1,316	0,356	0,566	0,038	0,048	1,145	2,278	1,450	0,208	0,772	0,025
3577	1,078	0,822	1,226	1,445	1,854	0,885	0,608	0,681	0,090	0,037	1,242	1,166	0,329	1,329
3608	0,651	1,399	2,018	1,034	1,110	1,210	0,717	0,222	0,417	0,609	0,845	0,720	0,147	1,586
3671	0,865	0,523	0,019	1,295	1,119	0,944	0,424	0,542	0,006	0,034	1,549	0,286	1,534	2,409
3750	0,250	1,356	2,007	0,918	0,675	1,578	0,387	0,450	0,326	1,340	1,271	0,180	0,343	1,316
3809	0,098	2,524	0,834	0,318	1,102	1,021	0,291	0,145	0,767	0,474	0,872	0,023	0,114	2,210
3839	0,725	1,148	0,954	0,921	0,959	1,595	0,326	0,485	0,042	0,462	1,056	0,667	1,274	2,067
3893	0,029	1,323	2,427	0,056	0,203	1,665	0,030	0,156	0,133	0,034	0,939	0,014	0,105	2,454
3958	0,083	1,944	2,262	0,284	0,346	1,670	0,157	0,379	0,548	0,631	0,612	0,048	0,373	1,742
4022	0,069	1,685	2,351	0,294	0,156	2,007	0,260	0,329	0,538	0,915	0,758	0,126	0,327	1,291
4041	0,030	1,912	2,687	0,239	0,146	1,469	0,222	0,402	0,487	0,573	1,113	0,066	0,020	1,084
4150	0,075	2,106	1,217	0,322	0,459	1,325	0,382	0,381	0,103	2,073	1,901	0,306	0,136	0,299
4222	0,064	1,555	2,567	0,185	0,638	1,685	0,247	0,302	0,581	0,162	1,072	0,179	0,073	1,516
4235	0,259	1,072	1,097	0,337	1,792	0,968	0,603	1,750	0,071	0,139	0,696	0,069	0,057	2,360
4258	0,025	1,332	2,191	0,054	0,031	1,660	0,078	0,103	0,552	0,786	0,762	0,018	0,162	2,467

(continuación)

Los valores normalizados para la muestra de la expresión de los 14 genes medida por RT-MLPA en las diversas cohortes analizadas en todo este artículo, incluyendo las series de capacitación, validación, externa y FFPE.

Muestra	NEK6	IRF4	IGHM	CCND1	LMO2	FOXP1	TNFRSF9	BCL6	TNFRSF13B	CCND2	MYC	MYBL1	BCL2	MS4A1
4261	0,687	1,641	0,650	1,144	0,835	1,851	0,527	0,698	0,067	0,051	1,161	0,899	0,289	1,861
4264	0,000	1,214	1,259	0,166	0,412	2,264	0,350	0,305	0,813	0,138	0,893	0,095	0,116	2,500
4327	0,109	1,618	2,768	0,777	0,293	1,487	0,504	0,116	0,484	0,728	1,052	0,090	0,321	0,438
4405	0,226	1,661	3,135	0,597	0,158	0,961	0,258	0,168	0,185	0,202	1,227	0,020	0,122	0,327
4467	0,280	1,859	2,312	1,146	1,048	1,054	0,127	0,073	1,011	0,682	1,479	0,050	0,233	0,103
4594	0,190	2,170	2,232	0,128	0,044	1,895	0,114	0,430	0,439	0,093	1,575	0,119	0,277	0,757
4654	0,029	1,607	2,614	0,168	0,089	1,812	0,359	0,417	0,904	0,054	1,294	0,073	0,082	1,018
4657	0,000	1,687	3,013	0,071	0,038	1,465	0,097	0,521	0,304	0,022	0,984	0,019	0,076	1,053
4673	0,056	1,891	2,246	0,313	0,223	1,841	0,206	0,219	0,857	1,435	0,937	0,014	0,065	0,776
4788	0,549	1,960	1,476	0,754	1,845	0,626	0,289	0,417	0,087	0,606	1,402	0,304	0,127	1,553
4853	0,667	0,647	0,537	0,326	1,358	1,289	0,446	0,966	0,342	0,476	1,605	0,511	0,522	2,394
4922	0,260	0,928	1,452	0,428	1,340	1,728	0,474	1,435	0,042	0,375	1,283	0,224	0,374	1,871
4943	0,063	1,234	3,093	0,160	0,075	1,371	0,049	0,030	0,590	1,360	0,720	0,023	0,088	0,542
4950	0,123	2,629	0,096	0,774	1,083	1,793	0,088	0,701	0,440	0,071	1,243	0,000	0,198	1,472
5220	1,128	0,957	1,853	0,699	1,734	1,047	0,244	0,682	0,018	0,397	0,665	0,988	1,234	1,140
5257	0,091	1,848	1,064	0,384	0,385	1,286	1,107	0,231	0,337	1,279	0,883	0,119	0,220	2,346
5258	0,114	1,076	2,709	0,131	0,064	2,157	0,098	0,210	0,675	0,595	0,877	0,022	0,127	1,260
5259	0,060	1,503	2,083	0,102	0,319	1,893	0,218	1,040	0,743	0,043	0,996	0,042	0,158	1,921
5260	0,031	1,322	2,309	0,157	0,052	1,656	0,213	0,350	0,451	1,547	1,096	0,052	0,447	1,567
5261	0,335	1,687	0,402	0,556	0,165	1,294	0,531	0,253	1,099	1,060	0,891	0,111	0,267	2,622
5262	0,178	1,219	2,719	0,163	0,046	1,742	0,120	0,232	0,354	0,164	1,791	0,168	0,067	1,116
5263	0,033	1,563	2,634	0,052	0,185	1,386	0,169	0,974	0,181	0,121	0,791	0,112	0,142	1,926
5265	0,378	1,568	1,474	0,727	1,158	1,241	1,126	0,234	0,663	0,331	1,826	0,213	0,166	1,422

(continuación)

Los valores normalizados para la muestra de la expresión de los 14 genes medida por RT-MLPA en las diversas cohortes analizadas en todo este artículo, incluyendo las series de capacitación, validación, externa y FFPE.

Muestra	NEK6	IRF4	IGHM	CCND1	LMO2	FOXP1	TNFRSF9	BCL6	TNFRSF13B	CCND2	MYC	MYBL1	BCL2	MS4A1
5285	0,721	0,937	0,589	0,484	2,095	1,191	0,753	0,913	0,129	0,634	0,845	1,009	1,139	1,461
5338	0,103	1,608	2,179	0,527	1,477	1,391	0,448	0,480	0,671	0,228	0,996	0,352	0,424	1,244
5541	0,540	1,083	2,302	0,874	1,134	1,735	0,308	0,298	0,148	0,659	1,019	0,505	0,513	1,079
5637	0,271	1,463	2,067	0,466	0,154	0,758	0,024	0,000	0,923	0,638	2,588	0,077	0,389	0,861
5639	0,207	0,702	2,447	0,042	1,200	1,082	0,075	0,643	0,113	1,424	2,035	0,374	0,433	0,259
5642	0,363	1,867	1,723	0,232	0,255	0,966	0,062	0,070	0,738	1,900	1,894	0,081	0,308	0,957
5643	1,547	1,659	0,532	1,194	1,489	0,285	0,352	0,072	0,250	1,014	1,961	0,084	1,184	0,486
5647	0,534	1,373	0,016	0,902	0,980	0,399	0,471	0,220	0,272	1,081	2,790	0,614	0,416	1,093
5719	0,033	1,926	2,267	0,102	0,075	2,095	0,120	0,259	0,873	0,583	0,758	0,082	0,945	0,746
5722	0,032	0,365	2,691	0,687	0,807	1,630	0,597	0,559	0,193	0,108	1,037	0,607	0,068	1,559
5750	0,327	0,908	1,888	0,133	1,144	1,912	0,302	0,972	0,178	0,041	1,541	0,978	0,523	1,278
5766	0,501	0,207	0,328	0,712	0,415	1,012	0,562	0,757	0,172	0,242	2,532	1,395	0,161	2,063
5802	0,034	2,163	2,306	0,056	0,031	2,015	0,022	0,071	0,835	0,524	1,179	0,033	0,775	0,220
5844	0,134	2,028	2,687	0,176	0,051	1,973	0,095	0,083	0,638	0,495	0,539	0,034	0,102	0,724
6024	0,485	1,078	0,263	0,332	1,659	1,018	0,378	1,146	0,077	0,408	0,940	0,726	0,413	2,597
6092	0,380	1,078	2,068	0,577	0,456	1,436	0,635	0,458	0,088	0,762	0,880	1,056	0,851	1,773
6147	0,090	1,764	2,013	0,252	0,299	1,968	0,667	0,363	0,655	0,084	1,269	0,084	0,395	1,523
6242	0,748	0,214	0,079	0,978	1,263	1,791	0,819	0,765	0,109	0,183	0,408	1,747	0,200	2,252
6460	0,155	1,757	2,049	0,418	1,259	1,623	0,362	0,799	0,602	0,301	1,064	0,457	0,123	1,158
6572	0,113	1,784	1,940	0,168	0,119	1,953	0,423	0,176	0,464	0,588	1,719	0,083	0,483	1,296
6770	0,194	2,221	0,188	1,097	0,266	1,015	0,532	0,581	0,905	2,064	1,112	0,332	0,419	0,954
6771	0,113	1,021	2,221	0,424	0,095	1,906	0,667	0,362	0,223	1,215	0,643	0,188	0,475	1,854
6895	0,558	1,574	0,136	0,337	1,960	0,784	0,790	1,038	0,409	0,111	1,073	0,684	0,385	2,128

(continuación)

Los valores normalizados para la muestra de la expresión de los 14 genes medida por RT-MLPA en las diversas cohortes analizadas en todo este artículo, incluyendo las series de capacitación, validación, externa y FFPE.

Muestra	NEK6	IRF4	IGHM	CCND1	LMO2	FOXP1	TNFRSF9	BCL6	TNFRSF13B	CCND2	MYC	MYBL1	BCL2	MS4A1
7026	0,575	0,781	1,884	0,827	1,182	1,222	0,794	0,936	0,843	0,642	1,305	0,647	0,168	1,359
7052	0,023	2,052	2,079	0,139	0,066	1,847	0,175	0,308	0,807	0,925	1,133	0,039	0,165	1,328
7136	0,347	1,640	2,298	0,771	0,441	1,413	0,952	0,485	0,327	0,017	0,667	0,359	0,259	1,721
7214	0,185	1,109	2,300	0,188	1,152	1,879	0,355	1,239	0,028	0,136	0,324	0,010	0,151	1,853
7265	0,281	1,140	1,014	0,756	1,374	1,759	0,530	0,530	0,147	0,897	1,276	0,460	0,295	2,005
7280	0,207	1,313	2,369	0,869	0,319	1,717	0,309	0,652	0,085	0,197	1,395	1,159	0,085	0,919
7358	0,985	1,298	0,951	1,029	0,886	1,424	0,456	1,214	0,047	1,008	1,230	0,317	0,152	1,854
7676	1,205	1,144	0,137	1,195	0,805	0,755	0,897	1,138	0,059	0,476	1,184	1,256	0,640	1,980
7688	0,579	1,485	0,103	1,089	1,936	1,162	0,801	0,673	1,004	0,225	1,792	0,038	0,250	1,173
7764	0,987	0,795	2,174	0,807	1,488	0,721	0,445	0,621	0,127	0,641	0,673	0,663	0,875	1,588
780	0,069	1,668	2,416	0,331	0,148	1,656	0,294	0,218	1,042	0,766	1,276	0,041	0,345	1,037
784	0,006	0,584	2,414	0,314	0,163	1,707	0,495	0,266	0,403	0,064	0,850	0,154	0,168	2,466
8005	0,074	1,275	2,041	0,087	0,051	2,139	0,085	0,320	0,629	0,262	0,555	0,144	0,227	2,353
8008	0,140	1,553	2,299	0,685	0,229	1,880	0,424	0,307	0,922	0,941	0,708	0,053	0,274	1,208
8026	0,000	2,096	2,785	0,114	0,147	1,372	0,123	0,471	0,633	0,752	0,663	0,025	0,082	0,754
8041	0,377	2,192	0,126	0,304	0,094	2,131	0,098	0,274	1,251	1,125	1,780	0,082	0,256	0,873
8056	0,083	1,221	2,275	0,246	0,101	1,778	0,352	0,646	0,849	0,477	0,578	0,081	0,354	2,077
8090	0,107	1,471	1,646	0,349	0,266	2,152	0,276	0,252	1,072	1,788	0,894	0,232	0,268	0,930
8119	0,383	0,879	0,107	0,624	1,773	1,669	0,775	0,809	0,201	0,046	1,111	0,650	0,259	2,342
8189	0,139	1,242	1,089	0,194	1,287	1,751	0,174	0,192	0,577	1,010	0,547	0,016	0,095	2,618
819	1,276	1,924	0,184	0,773	1,583	0,333	0,218	0,886	0,015	0,280	1,703	0,383	0,115	1,928
8190	0,520	0,864	0,269	0,921	1,065	1,160	0,268	1,268	0,120	0,331	0,995	1,649	0,139	2,360
8193	0,160	1,824	1,742	0,503	0,808	1,755	0,240	0,283	1,035	0,348	1,183	0,244	0,119	1,675

(continuación)

Los valores normalizados para la muestra de la expresión de los 14 genes medida por RT-MLPA en las diversas cohortes analizadas en todo este artículo, incluyendo las series de capacitación, validación, externa y FFPE.

Muestra	NEK6	IRF4	IGHM	CCND1	LMO2	FOXP1	TNFRSF9	BCL6	TNFRSF13B	CCND2	MYC	MYBL1	BCL2	MS4A1
8194	0,111	1,691	2,344	0,604	0,081	1,525	0,102	0,135	0,785	1,284	1,350	0,036	0,296	1,019
8195	0,141	0,637	1,996	3,149	0,085	0,478	0,023	0,031	0,290	0,548	0,707	0,010	0,109	0,667
8196	0,221	1,998	1,774	0,508	0,301	1,277	0,127	0,179	0,680	1,901	0,908	0,046	0,140	1,471
8268	0,250	2,069	2,312	0,288	0,049	1,247	0,159	0,321	0,559	0,449	1,133	0,643	0,303	1,499
8283	1,166	1,435	0,542	1,519	0,966	0,454	0,862	0,078	0,644	0,688	2,203	0,086	0,795	0,971
8307	0,347	1,768	1,606	0,697	1,224	2,190	0,238	0,719	0,159	0,324	0,767	0,103	0,121	1,435
8431	0,144	1,453	1,609	0,791	1,015	1,639	1,054	0,697	0,231	0,017	0,580	0,191	0,360	2,150
8607	0,085	1,508	2,247	0,268	0,446	1,863	0,447	0,163	0,667	0,528	0,889	0,336	0,342	1,700
8709	0,127	1,103	2,330	0,412	0,471	1,656	0,569	0,732	0,176	0,900	1,046	0,099	0,174	1,792
8730	0,486	0,904	0,734	0,475	0,982	1,108	0,715	1,509	0,089	0,064	1,937	0,520	0,159	2,191
8743	0,067	1,846	2,519	0,092	0,508	1,992	0,211	0,675	0,462	0,502	0,479	0,017	0,067	1,109
8886	0,230	0,837	2,114	0,086	1,044	1,902	0,169	0,962	0,134	0,030	1,084	0,637	0,524	1,827
9017	0,437	1,778	1,802	0,616	1,204	1,663	0,359	0,363	0,161	0,348	1,084	0,054	0,231	1,782
9022	0,148	2,811	1,363	1,109	1,213	0,758	0,255	0,695	0,124	0,093	0,696	0,270	0,137	1,167
9083	0,633	1,245	2,162	1,081	1,295	1,303	0,637	0,915	0,286	0,302	0,773	1,286	0,334	0,339
9093	0,317	1,682	1,129	1,312	0,297	1,124	0,689	0,615	0,390	0,645	1,374	0,324	0,581	2,039
9138	0,039	0,978	3,257	0,173	0,127	1,818	0,174	0,444	0,079	0,070	0,175	0,000	0,000	1,001
9217	0,994	1,122	2,168	1,549	1,115	0,882	0,475	0,481	0,046	0,675	0,919	0,482	0,796	0,974
9231	0,056	1,534	3,471	0,433	0,511	0,373	0,084	0,112	0,116	0,144	0,602	0,022	0,000	0,072
9260	0,330	1,394	0,077	0,183	1,534	1,946	0,386	1,571	0,426	0,090	0,715	0,265	0,306	2,142
9260_R02	0,300	1,444	0,056	0,178	1,518	2,044	0,345	1,540	0,357	0,043	0,656	0,298	0,296	2,127
9260_R03	0,256	1,371	0,061	0,171	1,574	2,018	0,358	1,540	0,404	0,096	0,689	0,248	0,301	2,140
9260_R04	0,292	1,440	0,044	0,147	1,559	2,005	0,367	1,586	0,363	0,053	0,667	0,238	0,272	2,129

(continuación)

Los valores normalizados para la muestra de la expresión de los 14 genes medida por RT-MLPA en las diversas cohortes analizadas en todo este artículo, incluyendo las series de capacitación, validación, externa y FFPE.

Muestra	NEK6	IRF4	IGHM	CCND1	LMO2	FOXP1	TNFRSF9	BCL6	TNFRSF13B	CCND2	MYC	MYBL1	BCL2	MS4A1
9260_R05	0,290	1,393	0,052	0,146	1,564	2,025	0,360	1,614	0,364	0,062	0,677	0,223	0,280	2,112
9260_R06	0,255	1,405	0,051	0,146	1,568	2,013	0,367	1,644	0,359	0,043	0,653	0,202	0,245	2,130
9260_R07	0,272	1,420	0,056	0,183	1,560	2,031	0,369	1,604	0,347	0,069	0,676	0,227	0,283	2,094
9260_R08	0,263	1,434	0,053	0,165	1,545	2,034	0,351	1,595	0,355	0,049	0,660	0,210	0,249	2,134
9260_R09	0,284	1,399	0,045	0,179	1,567	2,021	0,365	1,624	0,360	0,068	0,684	0,231	0,291	2,089
9260_R10	0,313	1,421	0,054	0,148	1,553	2,023	0,370	1,585	0,362	0,063	0,695	0,212	0,291	2,109
9296	1,153	0,877	1,274	1,380	1,327	0,948	0,680	0,566	0,087	0,911	1,662	0,490	0,589	1,253
9360	0,395	0,321	2,339	0,624	0,930	1,148	0,646	0,880	0,052	0,239	0,669	1,119	0,101	2,090
9397	0,897	1,927	0,109	1,017	1,904	0,715	0,589	0,701	0,035	0,424	0,833	0,500	0,342	1,960
9398	0,272	2,182	2,236	0,613	0,336	1,442	0,103	0,190	1,076	0,179	1,329	0,057	0,276	0,862
9401	0,967	2,036	0,204	1,789	1,636	0,553	0,304	0,447	0,009	0,029	1,451	0,179	0,231	1,631
9402_D01	0,048	1,701	2,530	0,071	0,078	1,805	0,086	0,291	0,663	0,686	1,210	0,027	0,193	1,253
9402_D02	0,045	1,693	2,591	0,054	0,071	1,767	0,081	0,265	0,665	0,678	1,206	0,007	0,175	1,222
9402_D03	0,065	1,733	2,512	0,080	0,093	1,759	0,110	0,248	0,718	0,697	1,275	0,023	0,155	1,225
9402_D04	0,053	1,689	2,592	0,051	0,061	1,782	0,094	0,310	0,665	0,638	1,170	0,023	0,176	1,230
9402_D05	0,079	1,638	2,629	0,038	0,027	1,699	0,098	0,304	0,640	0,691	1,213	0,011	0,141	1,292
9402_D06	0,057	1,708	2,743	0,062	0,114	1,618	0,058	0,290	0,717	0,669	1,095	0,015	0,072	1,077
9402_D07	0,043	1,502	2,907	0,085	0,063	1,696	0,048	0,162	0,428	0,484	1,078	0,000	0,159	1,122
9402_D08	0,042	1,818	2,921	0,101	0,033	1,557	0,042	0,210	0,366	0,510	1,059	0,000	0,000	0,898
9402_D09	0,281	1,554	3,081	0,044	0,000	1,635	0,035	0,000	0,457	0,381	0,894	0,000	0,061	0,798
9402_D10	0,257	1,656	3,177	0,015	0,000	1,474	0,000	0,000	0,428	0,199	0,854	0,000	0,000	0,834
9402_D11	0,154	1,497	3,209	0,074	0,000	1,597	0,000	0,269	0,427	0,284	0,839	0,000	0,051	0,500
9402_D12	0,676	1,381	3,220	0,000	0,000	1,564	0,000	0,000	0,739	0,118	0,377	0,000	0,000	0,941

(continuación)

Los valores normalizados para la muestra de la expresión de los 14 genes medida por RT-MLPA en las diversas cohortes analizadas en todo este artículo, incluyendo las series de capacitación, validación, externa y FFPE.

Muestra	NEK6	IRF4	IGHM	CCND1	LMO2	FOXP1	TNFRSF9	BCL6	TNFRSF13B	CCND2	MYC	MYBL1	BCL2	MS4A1
9402	0,061	1,773	2,464	0,095	0,098	1,709	0,107	0,270	0,786	0,749	1,242	0,037	0,207	1,252
9402_R02	0,055	1,667	2,575	0,074	0,072	1,835	0,099	0,251	0,656	0,692	1,213	0,036	0,182	1,153
9402_R03	0,059	1,719	2,486	0,084	0,087	1,737	0,102	0,285	0,747	0,736	1,250	0,028	0,198	1,279
9402_R04	0,060	1,708	2,482	0,081	0,085	1,785	0,100	0,302	0,687	0,719	1,238	0,037	0,195	1,293
9402_R05	0,068	1,717	2,506	0,066	0,070	1,731	0,100	0,272	0,700	0,735	1,256	0,027	0,199	1,290
9402_R06	0,057	1,721	2,543	0,050	0,060	1,762	0,090	0,280	0,702	0,696	1,205	0,022	0,180	1,256
9402_R07	0,048	1,688	2,562	0,063	0,079	1,721	0,103	0,307	0,675	0,708	1,211	0,026	0,184	1,282
9402_R08	0,065	1,721	2,524	0,064	0,068	1,715	0,103	0,287	0,693	0,714	1,238	0,022	0,187	1,300
9402_R09	0,060	1,704	2,543	0,080	0,083	1,783	0,091	0,269	0,681	0,691	1,205	0,030	0,184	1,242
9402_R10	0,050	1,685	2,568	0,080	0,074	1,820	0,092	0,266	0,632	0,668	1,199	0,025	0,181	1,218
9481	0,048	1,865	2,713	0,265	0,086	1,596	0,106	0,102	0,733	0,049	1,335	0,045	0,381	0,831
9503	0,691	1,257	0,235	0,367	1,324	1,435	0,596	0,974	0,095	0,347	0,913	1,104	0,502	2,338
9507	0,023	1,995	2,001	0,094	0,106	1,691	0,274	1,239	0,544	0,065	1,435	0,058	0,037	1,475
9647	0,611	0,950	1,80	0,603	0,985	1,530	0,588	0,800	0,091	0,021	0,675	0,607	1,233	1,900
9717	0,861	2,034	0,225	1,026	1,314	1,120	0,603	0,485	0,153	0,857	0,767	0,140	0,495	2,059
9795	0,301	1,606	2,079	0,419	0,628	1,749	0,395	0,181	0,185	0,083	1,269	0,038	0,221	2,004
9797	0,200	0,906	2,209	0,268	1,036	1,954	0,254	0,848	0,713	0,214	0,694	0,047	0,174	1,870
9831	0,127	2,103	1,936	0,439	0,619	1,597	0,522	1,216	0,548	0,130	0,697	0,356	0,148	1,349
9881	0,200	1,679	2,377	0,790	0,248	1,676	0,417	0,220	0,918	0,585	0,750	0,113	0,549	1,156
B01.1117	0,348	0,691	0,950	1,282	0,949	1,124	0,186	0,922	0,194	0,077	1,718	0,275	0,637	2,421
B04.2708	0,131	1,277	2,859	0,275	0,067	1,408	0,105	0,474	0,448	0,922	0,923	0,033	0,125	1,371
B05.2945	0,516	0,223	0,528	1,075	2,089	0,825	0,445	0,723	0,047	1,073	0,770	0,665	1,079	2,096
B06.0638	0,041	1,632	2,745	0,287	0,078	1,576	0,040	0,174	0,653	1,011	1,323	0,043	0,360	0,433

(continuación)

Los valores normalizados para la muestra de la expresión de los 14 genes medida por RT-MLPA en las diversas cohortes analizadas en todo este artículo, incluyendo las series de capacitación, validación, externa y FFPE.

Muestra	NEK6	IRF4	IGHM	CCND1	LMO2	FOXP1	TNFRSF9	BCL6	TNFRSF13B	CCND2	MYC	MYBL1	BCL2	MS4A1
B06.0757	0,108	1,387	2,737	0,403	0,090	1,418	0,134	0,325	0,629	1,383	1,086	0,041	0,102	0,888
B06.1310	0,212	0,674	2,354	0,504	0,196	0,771	0,171	0,241	0,121	1,721	1,251	0,241	0,648	2,015
B06.2626	0,421	1,095	0,660	1,891	0,482	1,061	0,260	0,793	0,151	2,635	1,109	0,029	0,041	0,373
B07.0131	0,285	0,179	2,125	0,521	0,648	0,705	0,286	1,630	0,873	0,893	1,403	0,299	0,050	1,904
B07.0512	0,256	0,756	2,727	0,831	1,061	1,011	0,018	0,546	0,000	0,527	0,796	0,000	0,364	1,892
B07.2345	0,176	0,638	0,210	0,808	1,384	1,515	0,473	1,601	0,268	0,039	1,792	0,220	0,101	2,198
B07.2712	0,352	1,014	0,823	1,715	0,938	0,850	0,413	0,682	0,305	0,891	2,051	0,175	0,138	1,820
B07.2960	0,056	1,612	2,232	1,317	0,416	1,477	0,605	0,715	0,256	0,023	1,308	0,118	0,184	1,337
B08.0130	0,093	1,253	2,864	0,337	0,122	0,838	0,072	0,027	0,592	1,066	1,588	0,004	0,149	1,227
B08.1769	0,076	0,328	2,811	1,443	0,366	1,026	0,307	1,135	0,177	0,241	0,913	0,035	0,000	1,585
B08.1825	1,176	0,873	0,366	1,360	1,320	0,311	0,487	1,014	0,006	0,540	1,193	0,396	0,212	2,505
B08.1852	0,062	1,334	2,838	0,121	0,047	0,861	0,068	0,310	0,574	1,029	1,846	0,034	0,254	0,782
B08.1999	0,032	1,311	2,707	0,352	0,112	1,476	0,070	0,370	0,680	0,059	1,838	0,049	0,255	1,030
B08.2071	0,523	0,778	0,152	0,422	1,195	1,003	0,412	2,582	0,405	0,645	1,058	0,285	0,315	1,745
B08.2463	0,181	0,532	2,588	0,623	0,243	1,529	0,220	0,845	0,027	0,078	1,270	0,090	0,450	1,972
B09.0141	0,849	1,072	1,163	1,338	0,971	0,550	0,772	1,239	0,221	0,730	1,203	0,408	0,315	2,049
B09.0388	0,100	0,728	2,633	0,693	0,186	1,319	0,177	0,259	0,513	1,301	0,854	0,108	0,135	1,856
B09.1810	0,092	1,485	2,286	0,601	0,180	1,306	0,205	0,135	0,319	1,541	1,496	0,211	0,205	1,377
B09.1892	0,094	1,199	2,610	0,112	0,042	1,004	0,014	0,052	0,578	2,058	1,377	0,020	0,140	1,001
B09.2264	0,089	1,093	2,508	0,452	0,133	1,278	0,159	0,412	0,407	1,693	1,391	0,078	0,168	1,274
B10.0146	0,099	1,549	2,514	0,334	0,377	1,786	0,175	0,187	0,588	0,077	1,944	0,076	0,178	0,509
B10.0640	0,913	0,194	0,562	1,206	1,484	0,436	0,411	1,208	0,037	0,542	0,940	1,069	0,255	2,513
B12.1717	0,021	0,810	2,769	0,123	0,073	1,635	0,058	0,117	0,792	1,072	1,342	0,052	0,206	1,313

(continuación)

Los valores normalizados para la muestra de la expresión de los 14 genes medida por RT-MLPA en las diversas cohortes analizadas en todo este artículo, incluyendo las series de capacitación, validación, externa y FFPE.

Muestra	NEK6	IRF4	IGHM	CCND1	LMO2	FOXP1	TNFRSF9	BCL6	TNFRSF13B	CCND2	MYC	MYBL1	BCL2	MS4A1
X10.0083	0,546	0,509	0,786	0,791	1,393	0,855	0,346	1,649	0,111	0,492	1,746	0,666	0,130	2,104
GHE0015	0,378	0,961	0,726	1,039	1,203	1,450	1,134	1,362	0,404	0,852	0,855	0,169	0,135	2,031
GHE0016	0,168	1,033	1,909	0,284	0,303	1,654	0,493	0,574	0,565	0,416	1,009	0,074	0,153	2,483
GHE0024	0,231	1,615	2,687	0,497	0,215	1,127	0,725	0,298	0,344	0,046	0,511	0,065	0,177	1,920
GHE0028	0,194	1,463	0,975	0,614	0,444	2,020	0,655	0,468	0,537	0,756	0,555	0,077	0,266	2,424
GHE0047	0,136	1,128	2,574	0,339	0,380	1,538	0,463	1,047	0,397	0,573	0,610	0,228	0,196	1,677
GHE0061	0,100	1,405	2,379	0,338	0,177	1,696	0,448	0,428	0,463	0,325	0,655	0,082	0,246	2,098
GHE0140	0,122	1,271	2,730	0,424	0,287	1,084	0,756	0,669	0,361	0,654	0,676	0,122	0,157	1,699
GHE0202	0,238	1,002	1,294	0,393	0,867	1,201	0,602	1,232	0,165	1,003	0,523	0,222	0,246	2,619
GHE0219	0,470	1,628	0,521	0,783	0,920	1,063	0,854	1,453	0,137	1,229	0,956	0,292	0,186	2,035
GHE0228	0,550	1,865	0,061	0,732	0,910	0,622	1,343	0,543	0,031	0,659	0,755	0,114	0,175	2,650
GHE0258	0,164	1,682	1,863	0,387	0,226	1,875	0,639	1,529	0,808	0,042	0,181	0,110	0,154	1,740
GHE0262	0,094	1,103	2,969	0,486	0,334	1,273	0,498	0,501	0,288	0,512	0,626	0,032	0,078	1,476
GHE0292	0,522	0,533	0,287	0,242	1,361	0,963	0,916	1,316	0,058	0,040	0,570	0,578	0,578	2,864
GHE0293	0,156	1,107	1,866	0,609	0,694	1,628	0,521	0,503	0,335	0,646	0,853	0,150	0,218	2,348
GHE0368	0,513	1,471	0,141	0,434	0,810	0,791	0,463	1,506	0,056	0,195	0,474	0,319	0,155	2,947
GHE0375	0,205	1,111	1,828	0,510	0,380	1,668	0,653	0,695	0,516	0,845	0,786	0,111	0,296	2,259
GHE0429	0,470	0,757	1,436	0,424	1,065	0,986	0,745	1,514	0,165	0,677	0,560	0,596	0,613	2,332
GHE0436	0,067	1,733	2,441	0,096	0,072	1,589	0,164	0,531	0,728	0,730	1,123	0,034	0,208	1,502
GHE0440	0,451	1,195	0,163	0,270	0,944	1,544	0,803	1,723	0,078	0,382	0,587	0,502	0,475	2,450
GHE0507	0,061	1,666	2,339	0,161	0,177	1,356	0,264	0,791	0,349	0,978	0,891	0,015	0,044	1,943
GHE0547	0,198	1,105	2,457	0,368	0,557	1,304	0,480	0,702	0,561	0,194	0,414	0,050	0,121	2,289
GHE0562	0,017	1,473	1,387	0,176	0,741	1,291	0,177	0,356	0,986	1,304	0,803	0,133	0,134	2,472

(continuación)

Los valores normalizados para la muestra de la expresión de los 14 genes medida por RT-MLPA en las diversas cohortes analizadas en todo este artículo, incluyendo las series de capacitación, validación, externa y FFPE.

Muestra	NEK6	IRF4	IGHM	CCND1	LMO2	FOXP1	TNFRSF9	BCL6	TNFRSF13B	CCND2	MYC	MYBL1	BCL2	MS4A1
GHE0629	0,036	1,535	1,637	0,277	0,195	1,766	0,611	0,762	0,499	1,839	1,244	0,039	0,162	1,311
GHE0632	0,255	0,944	2,143	0,118	0,472	1,606	0,281	0,741	0,669	0,512	0,708	0,202	0,121	2,372
GHE0635	0,386	0,946	0,073	0,432	1,175	0,792	0,817	1,038	0,014	0,233	0,644	0,520	0,117	3,053
GHE0659	0,033	1,632	2,015	0,191	0,193	1,855	0,310	0,803	0,352	0,199	1,121	0,184	0,196	2,024
GHE0685	0,085	1,569	1,301	0,151	0,345	1,962	0,324	1,054	1,120	0,147	0,968	0,115	0,189	2,152
GHE0708	0,411	1,838	0,340	0,404	0,934	0,636	0,897	1,293	0,072	0,032	0,717	0,313	0,239	2,720
GHE0717	0,042	1,492	1,947	0,185	0,129	1,806	0,293	0,444	0,391	1,277	1,196	0,030	0,271	1,901
GHE0776	0,508	1,460	0,094	0,706	1,206	1,778	0,739	0,553	0,917	0,041	1,006	0,089	0,234	2,348
GHE0811	0,027	1,330	2,600	0,356	0,245	1,434	0,263	0,468	0,550	0,442	0,536	0,147	0,149	2,059
GHE0834	0,481	0,146	2,008	0,238	1,202	0,702	0,460	1,111	0,044	0,212	0,544	0,351	0,144	2,767
GHE0837	0,060	1,486	2,191	0,175	0,097	1,720	0,176	0,817	0,801	0,721	0,915	0,024	0,251	1,897
GHE0853	0,368	1,215	1,682	0,949	0,574	1,968	0,370	1,101	0,428	0,801	0,755	0,107	0,183	1,775
GHE0855	0,111	1,665	0,125	0,553	0,598	2,025	1,027	0,884	0,737	0,053	1,519	0,105	0,711	1,783
GHE0857	0,196	0,538	2,042	0,270	0,481	1,744	0,794	1,463	0,095	0,378	0,588	0,374	0,100	2,202
GHE0860	0,049	1,660	1,970	0,208	0,664	1,822	0,457	0,826	0,283	0,250	0,610	0,189	0,389	2,030
GHE0877	0,180	1,018	1,783	0,352	0,402	1,877	0,671	0,793	0,256	1,035	0,669	0,175	0,259	2,217
GHE0908	0,395	1,224	0,289	0,285	1,291	0,743	0,315	1,420	0,060	0,172	0,710	0,893	0,157	2,826
GHE0997	0,182	1,369	1,231	0,556	0,557	1,401	1,085	0,618	0,623	0,830	1,063	0,146	0,260	2,318
GHE1018	0,447	0,189	2,177	0,276	1,101	0,760	0,588	1,471	0,085	0,045	0,886	0,480	0,092	2,391
GHE1028	0,182	0,413	1,906	0,261	0,872	0,956	0,289	1,492	0,057	0,097	0,067	0,216	0,312	2,852
GHE1069	0,303	0,828	2,332	0,190	0,953	1,388	0,347	0,826	0,049	0,152	0,436	0,359	0,081	2,427
GHE1225	0,099	1,920	0,016	0,226	0,780	2,071	0,407	1,254	0,617	0,247	1,466	0,669	0,274	1,609
GHE1229	0,023	0,934	2,108	0,169	0,054	1,979	0,374	1,251	0,575	0,796	0,870	0,019	0,140	1,930

(continuación)

Los valores normalizados para la muestra de la expresión de los 14 genes medida por RT-MLPA en las diversas cohortes analizadas en todo este artículo, incluyendo las series de capacitación, validación, externa y FFPE.

Muestra	NEK6	IRF4	IGHM	CCND1	LMO2	FOXP1	TNFRSF9	BCL6	TNFRSF13B	CCND2	MYC	MYBL1	BCL2	MS4A1
GHE1287	0,483	1,638	0,033	0,466	1,640	0,582	0,637	1,948	0,067	0,216	1,247	0,456	0,248	1,971
GHE1302	0,169	1,355	1,966	0,561	0,344	1,807	0,386	0,772	0,623	0,934	0,810	0,056	0,137	1,930
GHE1352	0,086	1,447	1,385	0,195	0,749	1,561	0,333	1,356	0,725	0,059	0,920	0,218	0,086	2,376
GHE1353	0,077	1,376	2,271	0,097	0,456	2,016	0,216	0,729	1,030	0,045	0,834	0,039	0,062	1,719
GHE1373	0,142	0,764	0,032	0,200	1,665	1,009	0,285	1,167	0,274	0,130	1,130	0,555	0,491	2,810
GHE1393	0,385	0,687	2,064	0,286	1,186	0,732	0,597	0,997	0,258	0,380	0,468	0,360	0,253	2,558
GHE1409	0,160	1,401	0,730	0,300	0,962	1,770	0,703	1,150	0,873	0,387	0,622	0,056	0,134	2,415
GHE1413	0,106	1,537	1,799	0,185	0,081	1,712	0,535	0,294	0,636	0,040	0,888	0,037	0,307	2,511
GHE1424	0,195	2,167	0,783	0,219	0,214	1,178	0,360	0,955	0,933	0,508	1,448	0,055	0,085	2,225
GHE1498	0,222	0,490	2,244	0,233	0,097	1,291	0,365	1,710	0,070	0,321	1,027	0,671	0,080	2,156
GHE1553	0,761	1,704	0,264	0,457	1,109	1,086	0,769	1,630	0,106	0,807	1,087	0,354	0,777	1,788
GHE1554	0,459	1,353	1,985	0,835	0,256	1,677	0,766	1,296	0,041	0,754	1,073	0,172	0,188	1,430
GHE2002	0,329	0,374	2,185	0,400	0,125	1,501	0,574	0,533	0,577	0,370	2,215	0,098	0,426	1,528
GHE2003	0,262	0,882	0,091	1,025	1,063	1,167	0,595	1,066	0,100	0,636	1,769	0,474	0,105	2,438
GHE2012	0,027	0,690	1,846	1,759	0,115	1,877	0,217	0,921	0,404	0,360	0,290	0,185	0,135	2,174
GHE2019	0,201	1,092	2,147	0,158	0,653	1,512	0,372	0,922	0,532	0,018	0,615	0,528	0,165	2,324
GHE2026	0,127	1,489	1,788	0,115	0,261	1,855	0,148	0,734	0,690	0,675	0,741	0,034	0,090	2,324
GHE2030	0,042	1,425	1,525	0,227	0,654	1,516	0,306	0,661	0,917	0,751	0,638	0,084	0,201	2,498
GHE2109	0,142	1,247	2,328	0,395	0,335	1,507	0,619	0,799	0,727	0,620	0,646	0,189	0,119	1,936

Tabla S3: Análisis de supervivencia univariante de los genes incluidos en la prueba diagnóstica de RT-MLPA.

La potencia individual de 8 genes medidos por RT-MLPA para predecir la supervivencia global y sin progresión de 135 pacientes tratados con una combinación de rituximab y quimioterapia se evaluó usando modelos Cox univariantes. Los valores de p sin procesar de los posteriores ensayos de cociente de verosimilitudes, así como las correspondientes tasas de descubrimiento falso (FDR) y relación de riesgos (HR), se presentan para cada uno de ellos.

Gen	Supervivencia sin progresión			Supervivencia global		
	p	FDR	FC	p	FDR	FC
LMO2	0,000736	0,005884*	0,457253	0,002983	0,011932*	0,485042
BCL6	0,004633	0,018531*	0,423641	0,036193	0,070998	0,521272
TNFRSF13B	0,013549	0,036130*	2,549328	0,002057	0,011932*	3,452999
FOXP1	0,026251	0,052502	1,841605	0,037758	0,070998	1,809569
IGHM	0,133880	0,178506	1,212521	0,768369	0,768369	1,039949
NEK6	0,126099	0,178506	0,545349	0,130903	0,174537	0,533563
IRF4	0,161656	0,184750	1,342991	0,044374	0,070998	1,585370
MYBL1	0,436523	0,436523	0,767482	0,611616	0,698989	0,834771

* FDR < 5 %, considerado significativo

REFERENCIAS:

5

A lo largo de la presente solicitud, diversas referencias describen el estado de la técnica a la que pertenece esta invención.

10

1. Swerdlow SH, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization: WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, Francia, International Agency for Research on Cancer, 2008.

2. Coiffier B: Rituximab therapy in malignant lymphoma. *Oncogene* 2007, 26:3603-3613.

15

3. Coiffier B, Thieblemont C, Van Den Neste E, Lepeu G, Plantier I, Castaigne S, Lefort S, Marit G, Macro M, Sebban C, Belhadj K, Bordessoule D, Ferme C, Tilly H: Longterm outcome of patients in the LNH-98.5 trial, the first randomized study comparing rituximab-CHOP to standard CHOP chemotherapy in DLBCL patients: a study by the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte. *Blood* 2010, 116:2040-2045.

20

4. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, Boldrick JC, Sabet H, Tran T, Yu X, Powell JI, Yang L, Marti GE, Moore T, Hudson J Jr, Lu L, Lewis DB, Tibshirani R, Sherlock G, Chan WC, Greiner TC, Weisenburger DD, Armitage JO, Warnke R, Levy R, Wilson W, Grever MR, Byrd JC, Botstein D, Brown PO, Staudt LM: Distinct types of linfoma de linfocitos B grande difuso identified by gene expression profiling. *Nature* 2000, 403:503-511.

5. Shaffer AL 3rd, Young RM, Staudt LM: Pathogenesis of human B cell lymphomas. *Annu Rev Immunol* 2012, 30:565-610.

25

6. Barton S, Hawkes EA, Wotherspoon A, Cunningham D: Are We Ready To Stratify Treatment for Diffuse Large B-Cell Lymphoma Using Molecular Hallmarks? *The Oncologist* 2012, 17:1562-1573.

7. Roschewski M, Staudt LM, Wilson WH: Diffuse large B-cell lymphoma-treatment approaches in the molecular era. *Nat Rev Clin Oncol* 2014, 11:12-23.

30

8. De Jong D, Rosenwald A, Chhanabhai M, Gaulard P, Klapper W, Lee A, Sander B, Thorns C, Campo E, Molina T, Norton A, Hagenbeek A, Horning S, Lister A, Raemaekers J, Gascoyne RD, Salles G, Weller E, Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium: Immunohistochemical prognostic markers in diffuse large B-cell lymphoma: validation of tissue microarray as a prerequisite for broad clinical applications--a study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *J Clin Oncol* 2007, 25:805-812.

35

9. Salles G, de Jong D, Xie W, Rosenwald A, Chhanabhai M, Gaulard P, Klapper W, Calaminici M, Sander B, Thorns C, Campo E, Molina T, Lee A, Pfreundschuh M, Horning S, Lister A, Sehn LH, Raemaekers J, Hagenbeek A, Gascoyne RD, Weller E: Prognostic significance of immunohistochemical biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma: a study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *Blood* 2011, 117:7070-7078.

40

10. Gutierrez-García G, Cardesa-Salzman T, Climent F, Gonzalez-Barca E, Mercadal S, Mate JL, Sancho JM, Arenillas L, Serrano S, Escoda L, Martínez S, Valera A, Martínez A, Jares P, Pinyol M, Garcia-Herrera A, Martínez-Trillos A, Gine E, Villamor N, Campo E, Colomo L, Lopez-Guillermo A: Gene-expression profiling and not immunophenotypic algorithms predicts prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Blood* 2011, 117:4836-4843.

11. Lossos IS, Czerwinski DK, Alizadeh AA, Wechser MA, Tibshirani R, Botstein D, Levy R: Prediction of survival

in diffuse large-B-cell lymphoma based on the expression of six genes. *N Engl J Med* 2004, 350:1828-1837.

12. Alizadeh AA, Gentles AJ, Alencar AJ, Liu CL, Kohrt HE, Houot R, Goldstein MJ, Zhao S, Natkunam Y, Advani RH, Gascoyne RD, Briones J, Tibshirani RJ, Myklebust JH, Plevritis SK, Lossos IS, Levy R: Prediction of survival in diffuse large B-cell lymphoma based on the expression of 2 genes reflecting tumor and microenvironment. *Blood* 2011, 118:1350-1358.

13. Rimsza LM, Wright G, Schwartz M, Chan WC, Jaffe ES, Gascoyne RD, Campo E, Rosenwald A, Ott G, Cook JR, Tubbs RR, Brazier RM, Delabie J, Miller TP, Staudt LM: Accurate classification of diffuse large B-cell lymphoma into germinal center and activated B-cell subtypes using a nuclease protection assay on formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Clin Cancer Res* 2011, 17:3727-3732.

14. Barrans SL, Crouch S, Care MA, Worrillow L, Smith A, Patmore R, Westhead DR, Tooze R, Roman E, Jack AS: Whole genome expression profiling based on paraffin embedded tissue can be used to classify diffuse large B-cell lymphoma and predict clinical outcome. *Br J Haematol* 2012, 159:441-453.

15. Masque-Soler N, Szczepanowski M, Kohler CW, Spang R, Klapper W: Molecular classification of mature aggressive B-cell lymphoma using digital multiplexed gene expression on formalin-fixed paraffin-embedded biopsy specimens. *Blood* 2013, 122:1985-1986.

16. Scott DW, Wright GW, Williams PM, Lih C-J, Walsh W, Jaffe ES, Rosenwald A, Campo E, Chan WC, Connors JM, Smeland EB, Mottok A, Brazier RM, Ott G, Delabie J, Tubbs RR, Cook JR, Weisenburger DD, Greiner TC, Glinzmann-Gibson BJ, Fu K, Staudt LM, Gascoyne RD, Rimsza LM: Determining cell-of-origin subtypes of diffuse large B-cell lymphoma using gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Blood* 2014, 123:1214-1217.

17. Eldering E, Spek CA, Aberson HL, Grummels A, Derks IA, de Vos AF, McElgunn CJ, Schouten JP: Expression profiling via novel multiplex assay allows rapid assessment of gene regulation in defined signalling pathways. *Nucleic Acids Res* 2003, 31:e153.

18. Bohers E, Mareschal S, Bouzefen A, Marchand V, Ruminy P, Maingonnat C, Menard A-L, Etancelin P, Bertrand P, Dubois S, Alcantara M, Bastard C, Tilly H, Jardin F: Targetable activating mutations are very frequent in GCB and ABC diffuse large B-cell lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2014, 53:144-153.

19. Jardin F, Mareschal S, Figeac M, Jais J-P, Leroy K, Copie-Bergman C, Salles GA, Coiffier B, Delarue R, Peyrade F, Bosly A, Ketterer N, Haioun C, Tilly H, Molina TJ: Integrated Analysis of High-Resolution Gene Expression and Copy Number Profiling Identified Biallelic Deletion of CDKN2A/2B Tumor Suppressor Locus As the Most Frequent and Unique Genomic Abnormality in Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL) with Strong Prognostic Value in Both GCB and ABC Subtypes and Not Overcome by a Dose-Intensive Immunochemotherapy Regimen Plus Rituximab. Results of a Prospective GELA Clinical Trial Program. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2012, 120:415.

20. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, Muller-Hermelink HK, Campo E, Brazier RM, Jaffe ES, Pan Z, Farinha P, Smith LM, Falini B, Banham AH, Rosenwald A, Staudt LM, Connors JM, Armitage JO, Chan WC: Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004, 103:275-282.

21. Benjamini Y, Hochberg Y: Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)* 1995, 57:289-300.

22. Johnson NA, Slack GW, Savage KJ, Connors JM, Ben-Neriah S, Rogic S, Scott DW, Tan KL, Steidl C, Sehn LH, Chan WC, Iqbal J, Meyer PN, Lenz G, Wright G, Rimsza LM, Valentino C, Brunhoeber P, Grogan TM, Brazier RM, Cook JR, Tubbs RR, Weisenburger DD, Campo E, Rosenwald A, Ott G, Delabie J, Holcroft C, Jaffe ES, Staudt LM, Gascoyne RD: Concurrent expression of MYC and BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol* 2012, 30:3452-3459.

23. Lenz G, Wright G, Dave SS, Xiao W, Powell J, Zhao H, Xu W, Tan B, Goldschmidt N, Iqbal J, Vose J, Bast M, Fu K, Weisenburger DD, Greiner TC, Armitage JO, Kyle A, May L, Gascoyne RD, Connors JM, Troen G, Holte H, Kvaloy S, Dierickx D, Verhoef G, Delabie J, Smeland EB, Jares P, Martinez A, Lopez-Guillermo A, Montserrat E, Campo E, Brazier RM, Miller TP, Rimsza LM, Cook JR, Pohlman B, Sweetenham J, Tubbs RR, Fisher RI, Hartmann E, Rosenwald A, Ott G, Muller-Hermelink H-K, Wrench D, Lister TA, Jaffe ES, Wilson WH, Chan WC, Staudt LM, Lymphoma/leukemia Molecular Profiling Project: Stromal gene signatures in large-B-cell lymphomas. *N Engl J Med* 2008, 359:2313-2323.

24. Wright G, Tan B, Rosenwald A, Hurt EH, Wiestner A, Staudt LM: A gene expression-based method to diagnose clinically distinct subgroups of diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003, 100:9991-9996.

25. Lenz G, Wright G, Dave SS, Xiao W, Powell J, Zhao H, Xu W, Tan B, Goldschmidt N, Iqbal J, Vose J, Bast M, Fu K, Weisenburger DD, Greiner TC, Armitage JO, Kyle A, May L, Gascoyne RD, Connors JM, Troen G, Holte H, Kvaloy S, Dierickx D, Verhoef G, Delabie J, Smeland EB, Jares P, Martinez A, Lopez-Guillermo A, Montserrat E, Campo E, Brazier RM, Miller TP, Rimsza LM, Cook JR, Pohlman B, Sweetenham J, Tubbs RR, Fisher RI, Hartmann E, Rosenwald A, Ott G, Muller-Hermelink H-K, Wrench D, Lister TA, Jaffe ES, Wilson WH, Chan WC, Staudt LM: Stromal gene signatures in large-B-cell lymphomas. *N Engl J Med* 2008, 359:2313-2323.

26. Patrinos GP: *Molecular diagnostics*. Amsterdam, Academic Press, 2010.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> INSERM

<120> MÉTODOS Y KITS PARA CLASIFICAR LINFOMA DE LINFOCITOS B GRANDE DIFUSO (DLBCL) EN

ES 2 804 308 T3

GCB-DLBCL O EN ABC-DLBCL

<130> BIO14060 JARDIN /MC

5 <160> 85

<170> PatentIn versión 3.3

10 <210> 1

<211> 3619

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

15 <400> 1

```

ggcgaaccg agctgacggg cgtgcggccg ctgcgccga aactcgtgtg ggacgcaccg      60
ctccagccgc ccgcggggcca ggcaccgggt ccccagcggg cagccgagcc cgcccgcgcg      120
ccggagaaga agacacatga attagagaca gcacggggga gcaggctgtg gagctgggag      180
tgacgggggtg agtccaggaa ggctgcctgg aggagatgcc caggagagaa gtttgctggg      240
aggcagctca tttccggcag gaggagcaga gcctgccaaag gcctcgagtt cgtgccctcg      300
tgaggctggc atgcaggatg gcaggacagc ccggccacat gcccctatgga gggagttcca      360
acaacctctg ccacaccctg gggcctgtgc atcctcctga cccacagagg catcccaaca      420
cgctgtcttt tcgctgctcg ctggcgact tccagatcga aaagaagata ggccgaggac      480
agttcagcga ggtgtacaag gccacctgcc tgctggacag gaagacagtg gctctgaaga      540
aggtgcagat ctttgagatg atggacgcca aggcgaggca ggactgtgtc aaggagatcg      600
gcctcttgaa gcaactgaac caccxaaata tcatcaagta tttggactcg tttatcgaag      660
acaacgagct gaacattgtg ctggagttgg ctgacgcagg ggacctctcg cagatgatca      720
agtactttaa gaagcagaag cggctcatcc cggagaggac agtatggaag tactttgtgc      780
agctgtgcag cgccgtggag cacatgcatt cacgccgggt gatgcaccga gacatcaagc      840
ctgccaacgt gttcatcaca gccacgggcg tcgtgaagct cggtgacctt ggtctgggcc      900
gcttcttcag ctctgagacc accgcagccc actccctagt ggggacgccc tactacatgt      960
caccggagag gatccatgag aacggctaca acttcaagtc cgacatctgg tccctgggct     1020
gtctgtgta cgagatggca gccctccaga gcccttcta tggagataag atgaatctct     1080
tctccctgtg ccagaagatc gagcagtgtg actaccccc actccccggg gagcactact     1140
ccgagaagtt acgagaactg gtcagcatgt gcatctgccc tgacccccac cagagacctg     1200
acatcgata cgtgcaccag gtggccaagc agatgcacat ctggatgtcc agcacctgag     1260
cgtggatgca ccgtgcctta tcaaagccag caccactttg ccttacttga gtcgtcttct     1320

```

ES 2 804 308 T3

ctctgagtg ccacctggta gcctagaaca gctaagacca cagggttcag caggttcccc 1380
 aaaaggctgc ccagccttac agcagatgct gaaggcagag cagctgaggg aggggcgctg 1440
 gccacatgtc actgatggtc agattccaaa gtcctttctt tatactggtg tggacaatct 1500
 cagctgggtc aataagggca ggtggttcag cgagccacgg cagccccctg tatctggatt 1560
 gtaatgtgaa tctttagggt aattcctcca gtgacctgtc aaggcttatg ctaacaggag 1620
 acttgcagga gaccgtgtga tttgtgtagt gagcctttga aaatggttag taccgggttc 1680
 agtttagttc ttagtatctt ttcaatcaag ctgtgtgctt aatttactct gttgtaaagg 1740
 gataaagtgg aatcatttt tttccgtgga gtggtgattc tgctaacatt tttatctacg 1800
 tttataact tggtgagtga cgatgagagc cctgcacctg gccagagtgt cacaggcaaa 1860
 aggcacgagg aagcaggagc atcttcttgg cagccaggct gggccatctt ctctggaca 1920
 cctgctgtgt accaggaact tcgtcacctc cttgaatgct ggcggttcat ttcagatca 1980
 gtgtaagca ttttctcca tgggaaggaa gcatgggata tagaaaagcg aagggtgtc 2040
 cttacaaat tctggttctg caacttccta gcgtgacttt gggcttgggc aagtttctta 2100
 gccgttctga gccttcattt cctcatctgt acaatgagat taatagtacc tatcatctac 2160
 cttcaggatt gctgacagac agaatttgaa ataaaatag caagttagct aatacaaaaa 2220
 gtagatgatc caaaaatggt agccactcac ccttcacaaa ctgaagtcca tggaccacgg 2280
 aagtcgagaa ttaatgtaca cctgtatcat gtgtaggaaa ccagaaatgt gttccttatt 2340
 tcttgttccc aacaggatt aactgtgaag actaatattat aaatgtgaac ctaagaaaac 2400
 tccacctctg aaggaaatca tttgaatttt gttttgtac gtaaagttaa cttccaatt 2460
 gtctgagctg tcgtcactga cttcatgaca gtctggccct ccagacaaga gcagcgtgg 2520
 catcgggag gtgattcctg acacctgctg cctgcaggca ttcactgacc aggcctttcc 2580
 tggaggaaac acccagggcc gggcggctgc tgttccaca cgtggactcg gatctgctgt 2640
 gacaccgtca gcccgacagt ctctccatat gcagcctttc ctctgtactt ttctccatgg 2700
 ttgaaataaa acagggtgac tgggagttac ttagaattca tgaagatttt aaaatggctt 2760
 tggagatttt gcttttaaac cagtagattc aaaacttaa cagcgtctgc agcacaattt 2820
 cttgaggAAC cttgaaaaac acaacttccc aggccccatt cagtaatccc aggatttctt 2880
 taagctcccc aaataatttt gaaactcatc atcagccgag tttctgccct catgaggtaa 2940
 ttccatcgtt ctcccagcc tggccctggc agctgtaaca caggagctgg cctgagagca 3000
 gattcaccct ggaatgttct ctccacagaa caatcaagtc cctgtcgcct gcctagtgt 3060
 taccactgaa gatttttctg attccagacc aactttttgc caacattctg cttccagctc 3120
 tctgagcccc tgccgtgtct cccaacact gccagcccc aacacgcaatc aacctaactt 3180
 gtgcatgcc aacgctttcc aactgtgag aacaatctgc ccaactggac cctctggagg 3240

ES 2 804 308 T3

cgcacgatct cagccactca ccaggcctga gtgtttgtga aatgatcatg tcctacttat 3300
 tacaaaaccg taaccccaaa acattccttt tatttctgtg aaaccggcca aagtgaggtc 3360
 caccacctt cacacagctc tggcggtgca cctgctcacc ttctcttggg tctcagaact 3420
 gagctgggct tgagaacaca gctttggctt tgccattttt ttctacttg gctgctgagg 3480
 tggaggggtg gctgactta tcacccatt tcaaaaccaa accaaacctg aggccacccc 3540
 aaacaaattc agccagcaaa aagggtaggt atcgatggtc acctgaagcc tcaagggagt 3600
 ccaactctgac ttctgacag 3619

<210> 2
 <211> 5331
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 2

acctgcact ctgagtttca ccgctcgatc ttgggacca ccgctgccct cagctccgag 60
 tccagggcga gtgcagagca gagcgggagg aggaccccg gcgcggggcg ggacggcacg 120
 cggggcatga acctggaggg cggcggccga ggcggagagt tcggcatgag cgcggtgagc 180
 tgcggcaacg ggaagctccg ccagtggctg atcgaccaga tcgacagcgg caagtacccc 240
 gggctggtgt gggagaacga ggagaagagc atcttccgca tcccctgga gcaagcgggc 300
 aagcaggact acaaccgca ggaggacgcc gcgctcttca aggcttggc actgtttaa 360
 ggaaagtcc gagaaggcat cgacaagccg gaccctcca cctggaagac gcgcctgcgg 420
 tgcgctttga acaagagcaa tgactttgag gaactggtt agcggagcca gctggacatc 480
 tcagaccogt acaaagtga caggattgtt cctgaggag ccaaaaaag agccaagcag 540
 ctaccctgg aggaccgca gatgtccatg agccaccct acaccatgac aagccttac 600
 ccttcgctcc cagcccagca ggttcacaac tacatgatgc caccctcga ccgaagctgg 660
 agggactacg tcccgatca gccacaccg gaaatccgt accaatgtcc catgacgttt 720
 ggaccccgcg gccaccactg gcaaggcca gcttgtgaaa atggttgcca ggtgacagga 780
 accttttatg cttgtgcccc acctgagtcc caggctcccg gagtccccac agagccaagc 840
 ataaggtctg ccgaagcctt ggcgttctca gactgccggc tgcacatctg cctgtactac 900
 cgggaaatcc tcgtgaagga gctgaccag tccagcccc agggtgccg gatctccat 960
 ggacatacgt atgacgccag caacctggac caggtcctgt tcccctacc agaggacaat 1020
 ggccagagga aaaacattga gaagctgctg agccacctg agaggggct ggtcctctgg 1080
 atggccccg acgggctcta tgcgaaaaga ctgtgccaga gcaggatcta ctgggacggg 1140
 cccctggcgc tgtgcaacga ccggccaac aaactggaga gagaccagac ctgcaagctc 1200
 tttgacacac agcagttctt gtcagagctg caagcgtttg ctaccacgg ccgctccctg 1260

10

ES 2 804 308 T3

ccaagattcc aggtgactct atgctttgga gaggagtttc cagaccctca gaggcaaaga 1320
 aagctcatca cagctcacgt agaacctctg ctagccagac aactatatta ttttgctcaa 1380
 caaaacagtg gacatttcct gaggggctac gatttaccag aacacatcag caatccagaa 1440
 gattaccaca gatctatccg ccattcctct attcaagaat gaaaaatgtc aagatgagtg 1500
 gttttctttt tccttttttt tttttttttt ttgatacggg gatacggggg cttgctctgt 1560
 ctcccaggct ggagtgcagt gacacaatct cagctcactg tgacctccgc ctctggggtt 1620
 caagagactc tcctgcctca gcctccctgg tagctgggat tacagggtgtg agccactgca 1680
 cccaccaag acaagtgatt ttcattgtaa atatttgact ttagtgaaag cgtccaattg 1740
 actgccctct tactgttttg aggaattcag aagtggagat ttcagttcag cggttgagga 1800
 gaattgcggc gagacaagca tggaaaatca gtgacatctg attggcagat gagcttattt 1860
 caaaaggaag ggtggctttg catttcttgt gttctgtaga ctgccatcat tgatgatcac 1920
 tgtgaaaatt gaccaagtga tgtgtttaca tttactgaaa tgcgctcttt aatttgttgt 1980
 agattaggtc ttgctggaag acagagaaaa cttgcctttc agtattgaca ctgactagag 2040
 tgatgactgc ttgtaggtat gtctgtgcca tttctcaggg aagtaagatg taaattgaag 2100
 aagcctcaca cgtaaaagaa atgtattaat gtatgtagga gctgcagttc ttgtggaaga 2160
 cacttgctga gtgaaggaaa tgaatctttg actgaagccg tgcctgtagc cttggggagg 2220
 cccatcccc acctgccagc ggtttcctgg tgtgggtccc tctgccccgc cctcctccc 2280
 attggctttc tctccttggc ctttcctgga agccagttag taaacttcct attttcttga 2340
 gtcaaaaaac atgagcgcta ctcttgatg ggacattttt gtctgtccta caatctagta 2400
 atgtctaagt aatggttaag ttttcttgtt tctgcatctt tttgaccctc attctttaga 2460
 gatgctaaaa ttcttcgcat aaagaagaag aaattaagga acataaatct taatacttga 2520
 actgttgccc ttctgtccaa gtacttaact atctgttccc ttctctgtg ccacgctcct 2580
 ctgtttgttt ggctgtccag cgatcagcca tggcgacact aaaggaggag gagccgggga 2640
 ctcccaggct ggagagcact gccaggacc accactggaa gcaggatgga gctgactacg 2700
 gaactgcaca ctcagtgggc tgtttctgct tatttcatct gttctatgct tcctcgtgcc 2760
 aattatagtt tgacagggcc ttaaaattac ttggcttttt ccaaatgctt ctatttatag 2820
 aatcccaaag acctccactt gcttaagtat acctatcact tacatTTTTG tggttttgag 2880
 aaagtacagc agtagactgg ggcgtcacct ccaggccgtt tctcatacta caggatattt 2940
 actattactc ccaggatcag cagaagattg cgtagctctc aaatgtgtgt tcctgctttt 3000
 ctaatggata ttttaaattc attcaacaag cacctagtaa gtgcctgctg tatccctaca 3060
 ttacacagtt cagcctttat caagcttagt gagcagtgag cactgaaaca ttatttttta 3120

ES 2 804 308 T3

atgtttaaaa agtttcta attaaagtca gaatattaat acaattaata ttaatattaa 3180
 ctacagaaaa gacaaacagt agagaacagc aaaaaataa aaaggatctc cttttttccc 3240
 agcccaaatt ctctctctta aaagtgtcca caagaagggg tgtttattct tccaacacat 3300
 ttcacttttc tgtaaata cataaaactta aaaagaaaac ctcatggagt catottgcac 3360
 acactttcat gcagtgctct ttgtagctaa cagtgaagat ttacctcgtt ctgctcagag 3420
 gccttgctgt ggagctccac tgccatgtac ccagtagggg ttgacatttc attagccatg 3480
 caacatggat atgtattggg cagcagactg tgtttcgtga actgcagtga tgtatacatc 3540
 ttatagatgc aaagtatttt ggggtatatt atcctaaggg aagataaaga tgatattaag 3600
 aactgctggt tcacggggcc cttacctgtg accctctttg ctgaagaata ttaacccca 3660
 cacagcactt caaagaagct gtcttgaag tctgtctcag gagcaccctg tcttcttaat 3720
 tctccaagcg gatgctccat ttcaattgct ttgtgacttc ttcttctttg tttttttaa 3780
 tattatgctg ctttaacagt ggagctgaat tttctggaaa atgcttcttg gctggggcca 3840
 ctacctoctt tcctatcttt acatctatgt gtatgttgac tttttaaata tctgagtgat 3900
 ccagggtatg acctagggaa tgaactagct atgaaatact cagggttagg aatcctagca 3960
 cttgtctcag gactctgaaa aggaacggct tcctcattcc ttgtcttgat aaagtggaat 4020
 tggcaaaacta gaatttagtt tgtactcagt ggacagtgct gttgaagatt tgaggacttg 4080
 ttaaagagca ctgggtcata tggaaaaaat gtatgtgtct cccaggtgca tttcttggtt 4140
 tatgtcttgt tcttgagatt ttgtatattt aggaaaacct caagcagtaa ttaatatctc 4200
 ctggaacact atagagaacc aagtgaccga ctcatctaca actgaaacct aggaagcccc 4260
 tgagtcctga gcgaaaacag gagagttagt cgccttacag aaaaccagc tagactattg 4320
 ggatgaact aaaagagac tgtgccatgg tgagaaaaat gtaaaatcct acagtgaat 4380
 gagcagccct tacagtattg ttaccaccaa gggcaggtag gtattagtgt ttgaaaaagc 4440
 tggctcttga gcgagggcat aaatacagct agcccaggg gtggaacaac tctgggagtc 4500
 ttgggtactc gcacctcttg gctttgttga tgctccgcca ggaaggccac ttgtgtgtgc 4560
 gtgtcagtta cttttttagt aacaattcag atccagtgtg aacttccgtt cattgtctc 4620
 cagtcacatg cccccacttc cccacaggtg aaagtttttc tgaaagtgtt gggattgggt 4680
 aaggtcttta tttgtattac gtatctcccg aagtcctctg tggccagctg catctgtctg 4740
 aatggtgctg gaaggctctc agacctaca caccattttg taagttatgt tttacatgcc 4800
 ccgtttttga gactgatctc gatgcaggtg gatctccttg agatcctgat agcctgttac 4860
 agaatgaag taaaggtcag ttttttttg tattgatttt cacagctttg aggaacatgc 4920
 ataagaaatg tagctgaagt agaggggacg tgagagaagg gccaggccgg caggccaacc 4980
 ctctccaat ggaaattccc gtgttgcttc aaactgagac agatgggact taacaggcaa 5040

ES 2 804 308 T3

tgggggtccac ttccccctct tcagcatccc ccgtacccca ctttctgctg aaagaactgc 5100
cagcaggtag gaccccagag gcccccaaat gaaagcttga atttccccta ctggctctgc 5160
gttttgctga gatctgtagg aaaggatgct tcacaaaactg aggtagataa tgctatgctg 5220
tcgttggtat acatcatgaa tttttatgta aattgctctg caaagcaaat tgatatgttt 5280
gataaattta tgtttttagg taaataaaaa cttttaaaaa tttggtatgg a 5331

<210> 3
<211> 1461
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 3

5

ES 2 804 308 T3

gggagtgc at ccccccac ccttttcccc ctctctcct gtgagaattc cccgtcggat 60
 acgagcagcg tggccgttgg ctgcctcgca caggacttcc ttcccgactc catcactttc 120
 tcctggaaat acaagaacaa ctctgacatc agcagcaccg ggggcttccc atcagtctcg 180
 agagggggca agtacgcagc cacctcacag gtgctgctgc cttccaagga cgtcatgcag 240
 ggcacagacg aacacgtggt gtgcaaagtc cagcacccca acggcaacaa agaaaagaac 300
 gtgcctcttc cagtgattgc cgagctgcct cccaaagtga gcgtcttcgt cccaccccg 360
 gacggcttct tcggcaacct ccgcaagtcc aagctcatct gccaggccac gggtttcagt 420
 ccccggcaga ttcaggtgtc ctggctgctc gaggggaagc aggtggggtc tggcgtcacc 480
 acggaccagg tgcaggctga ggccaaagag tctgggcccc cgacctaca ggtgaccagc 540
 aactgacca tcaaagagag cgactggctc agccagagca tgttcacctg ccgctggat 600
 cacaggggcc tgaccttcca gcagaatgct tcctccatgt gtggccccga tcaagacaca 660
 gccatccggg tcttcgcat cccccatcc tttgccagca tcttctcac caagtccacc 720
 aagttgacct gcctggtcac agacctgacc acctatgaca gcgtgacct ctctggacc 780
 cgccagaatg gcgaagctgt gaaaaccac accaacatct ccgagagcca cccaatgcc 840
 actttcagcg ccgtgggtga ggccagcatc tgcgaggatg actggaattc cggggagagg 900
 ttcacgtgca ccgtgaccca cacagacctg ccctcgccac tgaagcagac catctcccgg 960
 cccaaggggg tggccctgca caggcccgat gtctacttgc tgccaccagc ccgggagcag 1020
 ctgaacctgc gggagtccgc caccatcacg tgctggtga cgggcttctc tcccgcggac 1080
 gtcttctgctc agtggatgca gagggggcag cccttgtccc cggagaagta tgtgaccagc 1140
 gcccacatgc ctgagcccca ggccccaggc cggtaactcg cccacagcat cctgaccgtg 1200
 tccgaagagg aatggaacac gggggagacc tacacctgct tgggtggcca tgaggccctg 1260
 cccaacaggg tcaccgagag gacctggac aagtccaccg gtaaaccac cctgtacaac 1320
 gtgtccctgg tcatgtccga cacagctggc acctgctact gacctgctg gcctgcccac 1380
 aggctcgggg cggctggccg ctctgtgtgt gcatgcaaac taacctgtc aacggggtga 1440
 gatgttgc at cttataaaat t 1461

<210> 4
 <211> 4307
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 4

ES 2 804 308 T3

gcttaacaac agtaacgtca cacggactac aggggagttt tgttgaagtt gcaaagtcct 60
ggagcctcca gagggctgtc ggcgcagtag cagcgagcag cagagtccgc acgctccggc 120
gaggggcaga agagcgcgag ggagcgcggg gcagcagaag cgagagccga gcgcggaccc 180
agccaggacc cacagccctc cccagctgcc caggaagagc cccagccatg gaacaccagc 240
tcctgtgctg cgaagtggaa accatccgcc gcgcgtacct cgatgccaac ctctcaacg 300
accgggtgct gcggggccatg ctgaaggcgg aggagacctg cgcgccctcg gtgtcctact 360
tcaaatgtgt gcagaaggag gtctctccgt ccatgcggaa gatcgtcgcc acctggatgc 420
tggaggtctg cgaggaacag aagtgcgagg aggaggtctt cccgctggcc atgaactacc 480
tggaccgctt cctgtcgtg gagcccgtga aaaagagccg cctgcagctg ctgggggcca 540
cttgcatggt cgtggcctct aagatgaagg agaccatccc cctgacggcc gagaagctgt 600
gcatctacac cgacaactcc atccggcccg aggagctgct gcaaatggag ctgctcctgg 660
tgaacaagct caagtggaac ctggccgcaa tgaccccgca cgatttcatt gaacacttcc 720
tctccaaaat gccagaggcg gaggagaaca aacagatcat ccgcaaacac gcgcagacct 780
tcgttgccct ctgtgccaca gatgtgaagt tcatttccaa tccgccctcc atggtggcag 840
cggggagcgt ggtggccgca gtgcaaggcc tgaacctgag gagccccaac aacttcctgt 900
cctactaccg cctcacacgc ttcctctcca gagtgatcaa gtgtgaccgg gactgcctcc 960
gggcctgcca ggagcagatc gaagccctgc tggagtcaag cctgcgccag gcccagcaga 1020
acatggacc ccaaggccgcc gaggaggagg aagaggagga ggaggagggtg gacctggctt 1080
gcacaccac cgacgtgcgg gacgtggaca tctgagggcg ccaggcaggc gggcgcacc 1140
gccaccgca gcgagggcgg agccggcccc aggtgctccc ctgacagtcc ctctctccg 1200
gagcattttg ataccagaag ggaaagcttc attctccttg ttgttggttg ttttttcctt 1260
tgctctttcc cccttccatc tctgacttaa gcaaaagaaa aagattacc aaactgtc 1320
tttaaagag agagagagaa aaaaaaata gtatttgcac aaccctgagc ggtgggggag 1380
gagggttgtg ctacagatga tagaggattt tatacccaa taatcaactc gtttttatat 1440
taatgtactt gtttctctgt tgtaagaata ggcattaaca caaaggaggc gtctcgggag 1500
aggattaggt tccatccttt acgtgtttaa aaaaaagcat aaaaacattt taaaaacata 1560

ES 2 804 308 T3

gaaaaattca gcaaaccatt tttaaagtag aagaggggtt taggtagaaa aacatattct 1620
 tgtgcttttc ctgataaagc acagctgtag tggggttcta ggcattctctg tactttgctt 1680
 gctcatatgc atgtagtcac tttataagtc attgtatggt attatattcc gtaggtagat 1740
 gtgtaacctc ttcaccttat tcatggctga agtcacctct tggttacagt agcgtagcgt 1800
 gcccggtgtc atgtcctttg cgctgtgac caccacocca acaaaccatc cagtgacaaa 1860
 ccatccagtg gaggtttgtc gggcaccagc cagcgtagca gggtcgggaa aggccacctg 1920
 tcccactcct acgatacgtt actataaaga gaagacgaaa tagtgacata atatattcta 1980
 tttttatact cttcctatth ttgtagtgac ctgtttatga gatgctgggt ttctacccaa 2040
 cggccctgca gccagctcac gtccaggttc aaccacagc tacttgggtt gtgttcttct 2100
 tcatattcta aaaccattcc atttccaagc actttcagtc caataggtgt aggaaatagc 2160
 gctgtttttg ttgtgtgtgc agggagggca gttttctaag ggaatgggtt gggaatatcc 2220
 atgtacttgt ttgcaagcag gactttgagg caagtgtggg ccaactgtggg ggcagtggag 2280
 gtgggggtgt tgggaggctg cgtgccagtc aagaagaaaa aggtttgcat tctcacattg 2340
 ccaggatgat aagttccttt ccttttcttt aaagaagttg aagtttagga atcctttggg 2400
 gccaaactgg gtttgaaagt agggacctca gaggtttacc tagagaacag gtgggtttta 2460
 agggttatct tagatgtttc acaccggaag gtttttaaac actaaaatat ataatttata 2520
 gttaaggcta aaaagtatat ttattgcaga ggatgttcat aaggccagta tgatttataa 2580
 atgcaatctc cccttgattt aaacacacag atacacacac acacacacac acacacaaac 2640
 cttctgcctt tgatgttaca gatttaatac agtttattht taaagataga tctttttata 2700
 ggtgagaaaa aaacaatctg gaagaaaaaa accacacaaa gacattgatt cagcctgttt 2760
 ggcgtttccc agagtcactc gattggacag gcatgggtgc aaggaaaatt agggactca 2820
 acctaagttc ggttccgatg aattcttacc cctgcccc tcttttaaaa aacttagtga 2880
 caaaatagac aatttgaca tcttggtat gtaattcttg taattttat ttaggaagtg 2940
 ttgaaggag gtggcaagag tgtggaggct gacgtgtgag ggaggacagg cgggaggagg 3000
 tgtgaggagg aggtcccga ggggaagggg cgggtcccac accggggaca ggccgcagct 3060
 ccattttctt attgcgctgc taccgttgac ttccaggcac ggtttggaat tattcacatc 3120
 gcttctgtgt atctctttca cattgtttgc tgctattgga ggatcagttt tttgttttac 3180
 aatgtcatat actgccatgt actagtttta gttttctctt agaacattgt attacagatg 3240
 cctttttgt agttttttt tttttatgt gatcaattht gacttaatgt gattactgct 3300
 ctattccaaa aaggttgctg tttcacaata cctcatgctt cacttagcca tgggtggacc 3360
 agcgggcag ttctgcctgc tttggcgggc agacacgcgg gcgcgatccc acacaggctg 3420

ES 2 804 308 T3

gcgggggccc gccccgaggc cgcgtgcgtg agaaccgcgc cgggtgtcccc agagaccagg 3480
ctgtgtccct cttctcttcc ctgcgcctgt gatgctgggc acttcatctg atcggggggcg 3540
tagcatcata gtagttttta cagctgtgtt attctttgcg tgtagctatg gaagttgcat 3600
aattattatt attattatta taacaagtgt gtcttacgtg ccaccacggc gttgtacctg 3660
taggactctc attcgggatg attggaatag cttctggaat ttgttcaagt tttgggtatg 3720
tttaatctgt tatgtactag tgttctgttt gttattgttt tgtaattac accataatgc 3780
taatttaaag agactccaaa tctcaatgaa gccagctcac agtgctgtgt gccccggtca 3840
cctagcaagc tgccgaacca aaagaatttg cccccgctg cgggcccacg tggttggggc 3900
cctgccctgg cagggtcctc ctgtgctcgg aggccatctc gggcacaggc ccaccccgcc 3960
ccaccctcc agaacacggc tcacgcttac ctcaaccatc ctggctgcgg cgtctgtctg 4020
aaccacgagg gggccttgag ggacgctttg tctgtcgtga tggggcaagg gcacaagtcc 4080
tgatgttgt gtgtatcgag agccaaagg ctggtggcaa gtgcacgggg cacagcggag 4140
tctgtcctgt gacgcgcaag tctgagggtc tgggcggcgg gcggctgggt ctgtgcattt 4200
ctggttgca cgcggcgctt cccagcacca acatgtaacc ggcattgttc cagcagaaga 4260
caaaaagaca aacatgaaag tctagaaata aaactggtaa aacccca 4307

<210> 5
<211> 2294
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

5

<400> 5

gaattcgtcc aaactgagga tcacaagtct ccacattctg agtaggagga tgagggtctg 60
agttaggatt tgggtcctgc agggttgct aaggaatccc ctgatggcct aggattccac 120
gcagagcaca tctggtgtga gagagctcgc tgcaaggggtg aaggctccgc cctatcagat 180
agacaaccag gccaccaaga gggccagccc tccaaaccct ggatttgcaa catcctcaaa 240
gaacagcaac gggccttgag cagaattgag aaggaaatac cccacctgc cctcagccgt 300
taagtgggct ttgctattca caagggcctc tgggtgtcct ggagagagg ggagatggca 360
caggcaccag gtgctagggt gccagggcct cccgagaagg aacaggtgca aagcaggcaa 420
ttagcccaga aggtatccgt ggggcaggca gcctagatct gatgggggaa gccaccagga 480
ttacatcatc tgctgtaaca actgctctga aaagaagata tttttcaacc tgaacttgca 540
gtagctagtg gagaggcagg aaaaaggaaa tgaaaccaga gacagagga agctgagcga 600
aatagacct tcccagagaga ggaggaagcc cggagagaga cgcacgggtcc octccccgcc 660
cctaggccgc cgccccctct ctgccctcgg cggcgagcag cgcgccgcga cccgggccga 720
aggtgagagg ggctccgggc ggccggggcg gcgcacacca tccccgaggc cggcgaggag 780

10

ES 2 804 308 T3

ccggcgacag cgcgcgagag ggaccgggcg gtggcgggcg cgggaccggg atggaagggg 840
 gcgcggtgac tgtccttgag cgcggagggg cgagctcgcc ggcggagcgc cggagcaagc 900
 ggaggcgag gagcggcggc gacggcggcg gcgcgggcg cgcccagca cccgaggggg 960
 tccgagcccc ggcagccggc cagccccgcg ccacaaaggg agcgcccccg ccgcccggca 1020
 ccccgctcc ctccccaatg tcctcggcca tcgaaaggaa gagcctggac ccttcagagg 1080
 aaccagtgga tgaggtgctg cagatcccc catccctgct gacatgcggc ggctgccagc 1140
 agaacattgg ggaccgctac ttcctgaagg ccatcgacca gtactggcac gaggactgcc 1200
 tgagctgcga cctctgtggc tgccggctgg gtgaggtggg gcggcgccctc tactacaaac 1260
 tgggcccggaa gctctgccgg agagactatc tcaggctttt tgggcaagac ggtctctgcg 1320
 catcctgtga caagcggatt cgtgcctatg agatgacaat gcgggtgaaa gacaaagtgt 1380
 atcacctgga atgtttcaaa tgcgccgct gtcagaagca tttctgtgta ggtgacagat 1440
 acctcctcat caactctgac atagtgtgcg aacaggacat ctacgagtgg actaagatca 1500
 atgggatgat ataggcccg gtccccgggc atctttgggg aggtgttcac tgaagacgcc 1560
 gtctccatgg catcttcgtc ttcactctta ggcactttgg gggtttgagg gtgggtaag 1620
 ggatttctta ggggatggta gacctttatt gggatcaag acatagcatc caagtggcat 1680
 aattcagggg ctgacacttc aaggtgacag aaggaccagc cttgagggg gaacttatgg 1740
 ccacagccca tccatagtaa ctgacatgat tagcagaaga aaggaacatt taggggcaag 1800
 caggcgctgt gctatcatga tggaaattca tatctacaga tagagagttg ttgtgtacag 1860
 acttgttgtg actttgacgc ttgcgaacta gagatgtgca attgatttct tttcttctg 1920
 gctttttaac tcccctgttt caatcactgt cctccacaca agggaaggac agaaaggaga 1980
 gtggccattc ttttttctt ggcccccttc ccaaggcctt aagctttgga cccaaggaaa 2040
 actgcatgga gacgcatttc ggttgagaat ggaaaccaca acttttaacc aaacaattat 2100
 ttaaagcaat gctgatgaat cactgttttt agacaccttc attttgaggg gaggagtcc 2160
 acagattggt tctatacaaa tataaatctt aaaaagttgt tcaactattt tattatccta 2220
 gattatatca aagtatttgt cgtgtgtaga aaaaaaaca gctctgcagg cttaataaaa 2280
 atgacagact gaaa 2294

<210> 6
 <211> 7114
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 6

ggggggtggg cgccagcgcc ccggcgaacg gcaaagaggg agccgctccc gctcgggggg 60
 ccgctggagt gccagcggg aaccogaaag tttgtaagag gaagagagcg cgcggcgagc 120

5

10

ES 2 804 308 T3

gagcgcgagg gccgggggca gcggcagcgg cgcgggggac catggtgctg ccggcgcctc 180
ctccgcgggc gtgaaggcgg cgctcctact ccctccccgg actccgcggg gtcccagaag 240
ctttgttga caattccagt ttccgaacaa aacatttcgg caatggtgag ggcttcgatc 300
ccttctctga ttgctgtca gccatgaacg gatggatgtg atgcctgcta gccaaaaggc 360
ttccctctgt gtggtgcagt cctgtggcat tatgcatgcc ccctcccagt gaccccaggc 420
tttttatggc tgtgagacac gttaaaattt caggggtaag acgtgacctt ttgaggtgac 480
tataactgaa gattgcttta cagaagccaa aaaaggtttt tgagtcatga tgcaagaatc 540
tgggactgag acaaaaagta acggttcagc catccagaat gggtcgggcg gcagcaacca 600
cttactagag tgcggcggtc ttcgggaggg gcggtccaac ggagagacgc cggccgtgga 660
catcggggca gctgacctcg cccacgcca gcagcagcag caacaggcac ttcaggtggc 720
aagacagctc cttcttcagc agcaacagca gcagcaagtt agtggattaa aatctcccaa 780
gaggaatgac aaacaaccag ctcttcaggt tcccgtgtca gtggctatga tgacacctca 840
agttatcact cccagcaaa tgcagcagat cctccagcaa caagtgtga gccctcagca 900
gctccaggtt ctctccagc agcagcaggc cctcatgctt caacagcagc agcttcaaga 960
gtttataaaa aaacaacagg aacagttgca gcttcaactt ttacaacaac aacatgctgg 1020
aaaacagcct aaagagcaac agcaggtggc taccagcag ttggcttttc agcagcagct 1080
ttacagatg cagcagttac agcagcagca cctcctgtct ttgcagcgcc aaggccttct 1140
gacaattcag cccgggcagc ctgcccttc ccttcaacct cttgctcaag gcatgattcc 1200
aacagaactg cagcagctct ggaaagaagt gacaagtgtc cactactgcag aagaaaccac 1260
aggcaacaat cacagcagtt tggatctgac cacgacatgt gtctcctcct ctgcaccttc 1320
caagacctcc ttaataatga acccacatgc ctctaccaat ggacagctct cagtccacac 1380
tcccaaaagg gaaagtttgt cccatgagga gcacccccat agccatcctc tctatggaca 1440
tgggtgatgc aagtggccag gctgtgaagc agtgtgcgaa gatttccaat catttctaaa 1500
acatctcaac agtgagcatg cgctggacga tagaagtaca gcccaatgta gagtacaaat 1560
gcaggttcta cagcagttag agctacagct tgcaaaagac aaagaacgcc tgcaagccat 1620
gatgaccac ctgcatgtga agtctacaga acccaaagcc gccctcagc ccttgaatct 1680
ggtatcaagt gtcactctct ccaagtccgc atcgaggct tctccacaga gcttacctca 1740
tactccaacg accccaaccg cccccctgac tcccgctacc caaggcccct ctgtcatcac 1800
aaccaccagc atgcacacgg tgggacccat ccgcaggcgg tactcagaca aatacaacgt 1860
gcccatctcg tcagcagata ttgcgcagaa ccaagaattt tataagaacg cagaagttag 1920
accaccattt acatatgcat ctttaattag gcaggccatt ctogaatctc cagaaaagca 1980
gctaactact aatgagatct ataactggtt cacacgaatg tttgcttact tccgacgcaa 2040

ES 2 804 308 T3

cgcggccacg tggaagaatg cagtgcgtca taatcttagt cttcacaagt gttttgtgcg 2100
 agtagaaaac gttaaagggg cagtatggac agtggatgaa gtagaattcc aaaaacgaag 2160
 gccacaaaag atcagtggta acccttcctt tattaaaaac atgcagagca gccacgccta 2220
 ctgcacacct ctcaatgcag ctttacaggc ttcaatggct gagaatagta tacctctata 2280
 cactaccgct tccatgggaa atcccactct gggcaactta gccagcgcga tacgggaaga 2340
 gctgaacggg gcaatggagc ataccaacag caacgagagt gacagcagtc caggcagatc 2400
 tcctatgcaa gccgtgcatc ctgtacacgt caaagaagag cccctcgatc cagaggaagc 2460
 tgaagggccc ctgtccttag tgacaacagc caaccacagt ccagattttg accatgacag 2520
 agattacgaa gatgaaccag taaacgagga catggagtga ctatcggggc gggccaacc 2580
 cgagaatgaa gattggaaaa aggaaaaaaaa aaaaaacacg tcaaaagtta gcagtgaaat 2640
 tgttctccat ttgtgtaca gtctggagga ttttcactac gttttgacaa ctctgaaatg 2700
 tgtaactct tagtgccatc aagaacccca tttgggagta tttttgattt ttctactttt 2760
 tgttgaaaaa aggaatttgt actctgtgca ttggatggac ttgtttgga cttgggattt 2820
 tcctctctta accgtcaaca tcagtgttgt aaatttgcta aactgattca cttttagcag 2880
 cagactttga actgcagtcc tgccaacggt ggacactgag gacgcccagc agagcttgtg 2940
 cacctaagct gcagaccaag cttttgccca gaatttaagg attccaatgg acgacctatt 3000
 tgcacagtac tgcattgtga ttatcactgc ctttactcct tttttttttt tttttttttt 3060
 tttttttttg cttccagttg ggatggggaa ggcctttgtg tgtgtattgg ggggaggggt 3120
 taaaaataa ttatcccaa ctttttaatg tattgctttt tttttttttt tttttccttc 3180
 tactatacca ttttaagttc tgacctcagg cctccatttg ggccgatggc ctcttgagg 3240
 cttaaagttt tctgtacctt gtgatgaatg ttaataggtg tttttattat acaaagctga 3300
 atgtcatttc tcgtttgtag ctttctgtca ctcatccat cttccttcag acatcaccac 3360
 gtttctctaa agtcagaaaa cattccgttt tggctttttt caaaaaggct ccaaatgctg 3420
 cactctacac atgaaggccc tctcacacag acgtgacgtc ctgccagaaa gagaatgaat 3480
 gacagaaaaa aaaaagagag acaaaactcta ggaacaatgc cgattcattc cacgcagcag 3540
 tattgggggt ggttcggggg aggggtgttt cggattttct ttttttcttt tcttttcttt 3600
 tttttttttt gcagcaacca ttaataaatg ccaccacatt ctaccagcac aaggaaacat 3660
 aggcagcact gaaaaaaaaa aaaaagctca tattaattag actgacaata tggccttggg 3720
 aggtctccc ttgtggaacc aagttgcat gggccttggg tgctctgcga taacgggtgt 3780
 gggttggtt tgtttgcaaa atggccaaaa aaaaaaacgg gcttccccga gcagctgccc 3840
 tgaaagtagg ggtggcggcg gcggcgctga gtttatacat tagttcagac ctacttggtg 3900

ES 2 804 308 T3

gcattaaact gtttgaatgc aaattcgatt tcagattgaa cttgttaagg gagttaacga 3960
 gggctgagtt cagcaaatgc taaagtgtta atttcaaata tgcaaatttg gtactgcagt 4020
 ttgttatgca atattatata accaaccag tatcacaaaa actcatagaa gatatcatgt 4080
 aggccctggg ctttgggggg gtcccaaaca tggatgcag aaatgtgatg gttacaggtc 4140
 agtacaacct cagtccttag aaccctcca cacttcagct ctgcaccac tttcctgtca 4200
 tttattata taggactgta gttttttta gttcagagagc ctttcgaagc ttaattata 4260
 ttctttcttt gtacctttt tctaaaatta ccaaagatat tacacaaagg taaattatgt 4320
 tctctgtttt atgctttatc tgatgaagcc aaatatcctc ttattgttga tcaaaggagg 4380
 caaaagaatt tagaggcaaa tgacaagcga taggctattg caacctgaga aagagaactg 4440
 ctcttcatc gtaaatttag aagaccaagt agataatgga accaaagttg ttactttttt 4500
 ctagtagtta tttttctttt ttctttttgt gtacctctac agagaccaa actcattctc 4560
 ttaaagagat tttatggggc tactgcagat aaaaatagga cacaatatta aaggagctac 4620
 agaaggaagg gagtcccatc tcaaaaaaaaa aatgaatgta tgccactgca attagagtat 4680
 ccaataaagg agacagttta gagtcaggac agaaaagctt ccataattga actagattac 4740
 ataatagtat ttctagaaaa agagatattt ttagattgta tgccactttt gtttaagaac 4800
 tgtgctgtga tcaactgtatt aattttggtt tatcttggca tatatccttc agtttgtttt 4860
 tatttttaat ttttctttt tttccgatta ggctttggtc agcatttttc atttaaagaa 4920
 aagtaacact cccatccact cataagcttg gtacaaaaac ttctctggca gttacttttg 4980
 aagcttcact ctgctttctg tataaagggc agtctgtggt cacgcaagac tttaaaaaaaa 5040
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaacttttc caggcagctt catgatgtgc 5100
 aggcagtagc cagacagggc catgggaagg gggccctgtg cttctaaact gagtggttgc 5160
 tggttagttt ggtattcaaa agaggataaa aatctggtag attagttcat tctcagcatg 5220
 tgtagctaga catgagtaaa gataacagca tgagaaactg ttagtacgca tacctcagtt 5280
 caaaccttta gggaatgatt aaaatttaa aaaaaaacat ttcactcagt tgcaacttagt 5340
 cgtatgtctt gcatgcttag tctaaagact gtagcaaaaa aaaaaaaaaa agaaaaatta 5400
 gattttacat atctttgcag gtatcacagc cttgcagaag aaccaactga aaaaaaatt 5460
 ctcaggcttt acagcaagca aacttacta tgatttttac aattctgatt ctgtatcccc 5520
 tgggggttat ccagttgct tcttttagat ggggtttatt acgttgtaca tatatcccga 5580
 tgtgtctgtg tgaatctttg tcttttttg gggagggcag agggcggttc tttttttaga 5640
 tattgttctt aaaaaggaat aaatgcatac acctgtttgt caaaacacct ttgttttttg 5700
 tgcaactgct ttatattaac gatactaaaa aaaaatagct ttggaaaaa aactactgta 5760
 tgtaacggaa ttgcagaata tgctgcacat gtattttatt tagttatcct tgctttaaga 5820

ES 2 804 308 T3

atattggatg acatttcctg acatgtggga gggagaaact ccctaacttt ttttttctgc 5880
 ttttaaactg taacatagtt gaagatttct tttttctggt ct cattgatt ggagcatttt 5940
 gtacaggttt tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgcgcgcg tgcgtgtgtg ttaatctggt 6000
 ttttgataca ttcctatccc ttgtgtttat cctaccactg ccttcctggc tatcttaaac 6060
 aagttcatac atttgaaaag aaaaaaaaaat gttgttttaa aaatgttttc tcctgctgca 6120
 gtaaataatt tgcatgatga aattccaggg tcacaactttt ccaagtttat cagtgaagta 6180
 gtgattaaca atggggagtg tcaaaaactat tgaacttttg tataaaaaaa aaaaaacttt 6240
 acaaggtgcc aagatgtaaa gaaaatctgt tacttttttt ttctcaaaga aaagcataca 6300
 ttagggaggt agtcccgtgt gtcagacaaa tgcactgtca ggaatgagga tccaacctac 6360
 ctgtccctag agtccgtctt gtaagatgag ttaggctgcc ccttggaaca gccacaaaat 6420
 ggaatatcaa ggcttatgta catacgtgaa gagttaccac cagtccctgcc acctttggac 6480
 agctctaaca ccatccccag catccagtca gacctagtaa agaaaacctt ggattcttaa 6540
 cccaagatag gctgtaaact actagctttt ttttcctcat gaaaaaaaaat agagttaaaa 6600
 aatatttcct ctcttttcca tattccagct gaactccggt tccaaaggca caaagaagag 6660
 tgtgcttatt cagattttga atctttttgg taccttttgg ttaatgacat agcctcctga 6720
 aattctggat gtcttcaaag tcagttttgc ttctttatcc tgaaaatcag atttacaatg 6780
 ctgaaggcat ttcttgggcc cagtgtagct cacgcaatct ctgctacca taagccttga 6840
 tgaagatgat acagtccgga ctgtgagcat ggtgcttcat gtatatgtgc tgccagtaac 6900
 aagaattttt ttgttttgtt ttgttttgtt ttgataaggc ataaaagaaa ctcatcctt 6960
 gacatcaact gtaattccat cattccatgt ctgoggatac agacaataaa aaaaatgttg 7020
 tgtagtcagt actaattact gacattataa gcattctcaa atgcaataaa aatgctggtt 7080
 gttcacgctg gtagtaaaag ttgccacagc ctaa 7114

<210> 7
 <211> 1923
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 7

gtgtttgacc tgaagtcttc tcgagctgca gaagcctgaa gaccaaggag tggaaagttc 60
 tccggcagcc ctgagatctc aagagtgaca tttgtgagac cagctaattt gattaaatt 120
 ctcttggaat cagctttgct agtatcatac ctgtgccaga tttcatcatg gaaacagct 180
 gttacaacat agtagccact ctgttgctgg tcctcaactt tgagaggaca agatcattgc 240
 aggatccttg tagtaactgc ccagctggta cattctgtga taataacagg aatcagattt 300
 gcagtccttg tcctccaaat agtttctcca gcgcaggtgg acaaaggacc tgtgacatat 360

10

ES 2 804 308 T3

gcaggcagtg taaaggtggt ttcaggacca ggaaggagtg ttcctccacc agcaatgcag 420
 agtgtgactg cactccaggg tttcactgcc tgggggcagg atgcagcatg tgtgaacagg 480
 attgtaaaca aggtcaagaa ctgacaaaaa aaggttgtaa agactgttgc tttgggacat 540
 ttaacgatca gaaacgtggc atctgtcgac cctggacaaa ctggttcttg gatggaaagt 600
 ctgtgcttgt gaatgggacg aaggagaggg acgtggtctg tggaccatct ccagccgacc 660
 tctctccggg agcatcctct gtgaccccgc ctgcccctgc gagagagcca ggacactctc 720
 cgcagatcat ctcttctttt cttgcgctga cgtcgactgc gttgctcttc ctgctgttct 780
 tcctcacgct ccgtttctct gttgttaaac ggggcagaaa gaaactcctg tatatattca 840
 aacaaccatt tatgagacca gtacaaaacta ctcaagagga agatggctgt agctgccgat 900
 ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgtgaaatgg aagtcaatag ggctgttggg 960
 actttcttga aaagaagcaa ggaaatatga gtcatccgct atcacagctt tcaaaagcaa 1020
 gaacaccatc ctacataata cccaggattc ccccaacaca cgttcttttc taaatgccaa 1080
 tgagttggcc tttaaaaatg caccactttt tttttttttt tgacagggtc tcaactctgtc 1140
 acccaggctg gagtgcagtg gcaccacat ggctctctgc agccttgacc tctgggagct 1200
 caagtgatcc tctgcctca gtctcctgag tagctggaac tacaaggaag ggccaccaca 1260
 cctgactaac ttttttgttt tttgtttggg aaagatggca tttcaccatg ttgtacaggc 1320
 tgggtctcaa ctctaggtt cactttggcc tcccaaagtg ctgggattac agacatgaac 1380
 tgccaggccc ggccaaaata atgcaccact ttaacagaa cagacagatg aggacagagc 1440
 tggtgataaa aaaaaaaaaa aaaagcatt ttctagatac cacttaacag gtttgagcta 1500
 gtttttttga aatccaaaga aaattatagt ttaaattcaa ttacatagtc cagtgggtcca 1560
 actataatta taatcaaaat caatgcaggt ttgttttttg gtgctaatat gacatatgac 1620
 aataagccac gaggtgcagt aagtaccga ctaaagtttc cgtgggttct gtcatgtaac 1680
 acgacatgct ccaccgtcag gggggagtat gagcagagtg cctgagtta gggcaagga 1740
 caaaaaacct caggcctgga ggaagttttg gaaagagttc aagtgtctgt atatcctatg 1800
 gtcttctcca tctcacacc ttctgccttt gtctgctcc cttttaagcc aggttacatt 1860
 ctaaaaattc ttaactttta acataatatt ttataccaaa gccataaat gaactgcata 1920
 tga 1923

5 <210> 8
 <211> 3569
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 8

ataccatcgt cttgggcccg gggagggaga gccaccttca ggcccctcga gcctcgaacc 60

ES 2 804 308 T3

ggaacctcca aatccgagac gctctgctta tgaggacctc gaaatatgcc ggccagtгаа 120
 aaaatcttgt ggctttgagg gcttttggtt ggccaggggc agtaaaaatc tcggagagct 180
 gacaccaagt cctcccctgc cacgtagcag tggtaaagtc cgaagctcaa attccgagaa 240
 ttgagctctg ttgattctta gaactggggt tcttagaagt ggtgatgcaa gaagtttcta 300
 ggaaaggccg gacaccaggt tttgagcaaa attttgact gtgaagcaag gcattggtga 360
 agacaaaatg gcctcgccgg ctgacagctg tatccagttc acccgccatg ccagtgatgt 420
 tcttctcaac cttaatcgtc tccggagtcg agacatcttg actgatggtg tcattggtgt 480
 gagccgtgag cagtttagag cccataaaac ggtcctcatg gcctgcagtг gcctgttcta 540
 tagcatcttt acagaccagt tgaaatgcaa ccttagtggtg atcaatctag atcctgagat 600
 caaccctgag ggattctgca tcctcctgga cttcatgtac acatctcggc tcaatttgcg 660
 ggagggcaac atcatggctg tgatggccac ggctatgtac ctgcagatgg agcatggtgt 720
 ggacacttgc cggaagttta ttaaggccag tgaagcagag atggtttctg ccatcaagcc 780
 tcctcgtгаа gagttcctca acagccggat gctgatgccc caagacatca tggcctatcg 840
 gggtcgtgag gtggtggaga acaacctgcc actgaggagc gcccctgggt gtgagagcag 900
 agcctttgcc cccagcctgt acagtggcct gtccacaccg ccagcctctt attccatgta 960
 cagccacctc cctgtcagca gcctcctctt ctccgatgag gagtttcggg atgtccggat 1020
 gcctgtggcc aacccttcc ccaaggagcg ggcactccca tgtgatagtг ccaggccagt 1080
 ccctggtgag tacagccggc cgactttgga ggtgtcccc aatgtgtgcc acagcaatat 1140
 ctattcaccц aaggaaacaa tcccagaaga ggcacgaagt gatatgcact acagtgtggc 1200
 tgagggcctc aaacctgctг cccctcagc ccgaaatgcc ccctacttcc cttgtgacaa 1260
 ggccagcaaa gaagaagaga gaccctcctc ggaagatgag attgccctgc atttcgagcc 1320
 cccaatgca cccctgaacc ggaagggctc ggttagtcca cagagcccc agaaatctga 1380
 ctgccagccc aactcgccca cagagtcctг cagcagtaag aatgcctgca tcctccaggc 1440
 ttctggctcc cctccagcca agagccccac tgaccccaa gcctgcaact ggaagaaata 1500
 caagttcatc gtgctcaaca gcctcaacca gaatgccaaa ccagaggggc ctgagcaggc 1560
 tgagctgggc cgcctttccc cacgagccta cacggcccca cctgcctgcc agccaacct 1620
 ggagcctgag aaccttgacc tccagtcccc aaccaagctг agtgccagcg gggaggactc 1680
 caccatccca caagccagcc ggctcaataa catcgtaac aggtccatga cgggctctcc 1740
 ccgcagcagc agcgagagcc actcaccact ctacatgcac cccccgaagt gcacgtcctг 1800
 cggctctcag tccccacagc atgcagagat gtgcctccac accgctggcc ccacgttccc 1860
 tgaggagatг ggagagaccc agtctgagta ctcagattct agctgtgaga acggggcctt 1920

ES 2 804 308 T3

cttctgcaat gagtgtgact gccgcttctc tgaggaggcc tcaactcaaga ggcacacgct 1980
 gcagacccac agtgacaaaac cctacaagtg tgaccgctgc caggcctcct tccgctacaa 2040
 gggcaacctc gccagccaca agaccgtcca taccggtgag aaaccctatc gttgcaacat 2100
 ctgtggggcc cagttcaacc ggccagccaa cctgaaaacc cacactcga ttcactctgg 2160
 agagaagccc tacaatatgcg aaacctgcgg agccagattt gtacaggtgg cccacctccg 2220
 tgcccatgtg cttatccaca ctggtgagaa gccctatccc tgtgaaatct gtggcaccgg 2280
 tttccggcac cttcagactc tgaagagcca cctgcgaatc cacacaggag agaaacctta 2340
 ccattgtgag aagtgtaac tgcatctccg tcacaaaagc cagctgcgac ttcacttgcg 2400
 ccagaagcat ggcgcatca ccaacaccaa ggtgcaatac cgcgtgtcag ccaactgacct 2460
 gcctccggag ctcccaaaag cctgctgaag catggagtgt tgatgctttc gtctccagcc 2520
 ccttctcaga atctacccaa aggatactgt aacactttac aatgttcatc ccatgatgta 2580
 gtgcctcttt catccactag tgcaaatcat agctgggggt tgggggtggg gggggtcggg 2640
 gcctggggga ctgggagccg cagcagctcc ccctcccca ctgccataaa acattaagaa 2700
 aatcatattg cttcttctcc tatgtgtaag gtgaaccatg tcagcaaaaa gcaaatcat 2760
 tttatatgtc aaagcagggg agtatgcaaa agttctgact tgactttagt ctgcaaatg 2820
 aggaatgtat atgttttgtg ggaacagatg tttcttttgt atgtaaagt gcattctttt 2880
 aaaagacaag acttcagtat gttgtcaaag agagggcttt aatTTTTTTT accaaagggtg 2940
 aaggaatata tggcagagtt gtaaataat aaatataat atatataaaa taaatatata 3000
 taaacctaaa aaagataat taaaaatata aaactgcgtt aaaggctcga ttttgtatct 3060
 gcaggcagac acggatctga gaatctttat tgagaaagag cacttaagag aatattttaa 3120
 gtattgcatc tgtataagta agaaaatatt ttgtctaaaa tgcctcagtg tatttgtatt 3180
 tttttgcaag tgaaggttta caatttacia agtgtgtatt aaaaaaaca aaaagaacaa 3240
 aaaaatctgc agaaggaaaa atgtgtaatt ttgttctagt tttcagttt tatatacccg 3300
 tacaacgtgt cctcacggtg ccttttttca cggaagtttt caatgatggg cgagcgtgca 3360
 ccatcccttt ttgaagtgt ggcagacaca gggacttgaa gttgttacta actaaactct 3420
 ctttgggaat gtttgtctca tccattctg cgtcatgctt gtgttataac tactccggag 3480
 acagggtttg gctgtgtcta aactgcatta ccgcgttgta aaatatagct gtacaaatat 3540
 aagaataaaa tgttgaaaag tcaaactgg 3569

<210> 9
 <211> 1357
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 804 308 T3

<400> 9

agcatcctga gtaatgagtg gcctgggccc gagcaggcga ggtggccgga gccgtgtgga 60
ccaggaggag cgctttccac agggcctgtg gacgggggtg gctatgagat cctgccccga 120
agagcagtac tgggatcctc tgctgggtac ctgcatgtcc tgcaaaacca tttgcaacca 180
tcagagccag cgcacctgtg cagccttctg caggtcactc agctgccgca aggagcaagg 240
caagttctat gaccatctcc tgagggactg catcagctgt gcctccatct gtggacagca 300
ccctaagcaa tgtgcatact tctgtgagaa caagctcagg agcccagtga accttccacc 360
agagctcagg agacagcggg gtggagaagt tgaaaacaat tcagacaact cgggaaggta 420
ccaaggattg gagcacagag gctcagaagc aagtccagct ctcccggggc tgaagctgag 480
tgcagatcag gtggccctgg tctacagcac gctggggctc tgccctgtgtg ccgtcctctg 540
ctgcttctctg gtggcgggtg cctgcttctc caagaagagg ggggatccct gctcctgcca 600
gccccgctca aggccccgctc aaagtccggc caagtcttcc caggatcacg cgatggaagc 660
cggcagccct gtgagcacat cccccgagcc agtggagacc tgcagcttct gcttccctga 720
gtgcagggcg cccacgcagg agagcgcagt cacgcctggg acccccgacc ccacttgtgc 780
tggaagggtg gggtgccaca ccaggaccac agtcctgcag ccttgcccac acatcccaga 840
cagtggcctt ggcatttgtt gtgtgcctgc ccaggagggg ggcccaggtg cataaatggg 900
ggtcagggag ggaaaggagg agggagagag atggagagga ggggagagag aaagagaggt 960
ggggagaggg gagagagata tgaggagaga gagacagagg aggcagagag ggagagaaac 1020
agaggagaca gagagggaga gagagacaga gggagagaga gacagagggg aagagaggca 1080
gagagggaaa gaggcagaga aggaaagaga caggcagaga aggagagagg cagagaggga 1140
gagagggcaga gagggagaga ggcagagaga cagagaggga gagagggaca gagagagata 1200
gagcaggagg tcggggcact ctgagtccca gttcccagtg cagctgtagg tcgtcatcac 1260
ctaaccacac gtgcaataaa gtcctcgtgc ctgctgctca cagccccga gagcccctcc 1320
tcctggagaa taaaaccttt ggcagctgcc cttcctc 1357

5 <210> 10
<211> 6480
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

10 <400> 10

agagcgagca ggggagagcg agaccagttt taaggggagg accggtgcga gtgaggcagc 60
cccagggtc tgctcgcca ccaccaatc ctgcctccc ttctgctcca ccttctctct 120
ctgccctcac ctctccccg aaaaccccct atttagccaa aggaaggagg tcaggggaac 180
gctctcccct ccccttccaa aaaacaaaa cagaaaaacc tttttccagg ccggggaaag 240
caggagggag aggggccgcc gggctggcca tggagctgct gtgccacgag gtggaccgag 300

ES 2 804 308 T3

tccgcagggc cgtgcgggac cgcaacctgc tccgagacga ccgcgtcctg cagaacctgc 360
tcaccatcga ggagcgctac cttccgcagt gctcctactt caagtgcgtg cagaaggaca 420
tccaacccta catgcgcaga atggtggcca cctggatgct ggaggtctgt gaggaacaga 480
agtgcgaaga agaggtcttc cctctggcca tgaattacct ggaccgtttc ttggctgggg 540
tcccgactcc gaagtcccat ctgcaactcc tgggtgctgt ctgcatgttc ctggcctcca 600
aactcaaaga gaccagcccg ctgaccgagg agaagctgtg catttacacc gacaactcca 660
tcaagcctca ggagctgctg gagtgggaac tgggtgctgt ggggaagtgt aagtggaacc 720
tggcagctgt cactcctcat gacttcattg agcacatctt gcgcaagctg ccccagcagc 780
gggagaagct gtctctgatc cgcaagcatg ctacagacct cattgctctg tgtgccaccg 840
actttaagtt tgccatgtac ccaccgtcga tgatcgcaac tgggaagtgt ggagcagcca 900
tctgtgggct ccagcaggat gaggaagtga gctcgctcac ttgtgatgcc ctgactgagc 960
tgctggctaa gatcaccaac acagacgtgg attgtctcaa agcttgccag gagcagattg 1020
aggcgggtgct cctcaatagc ctgcagcagt accgtcagga ccaacgtgac ggatccaagt 1080
cggaggatga actggaccaa gccagcacc ctacagacgt gcgggatatc gacctgtgag 1140
gatgccagtt gggccgaaag agagagacgc gtccataatc tgggtctctc ttctttctgg 1200
ttgtttttgt tctttgtggt ttagggtgaa acttaaaaaa aaaattctgc cccacctag 1260
atcatattta aagatctttt agaagtgaga gaaaaaggtc ctacgaaaac ggaataataa 1320
aaagcatttg gtgcctatth gaagtacagc ataagggaaat cccttgata tgcgaaacagt 1380
tattgtttga ttatgtaaaa gtaatagtaa aatgcttaca ggaaaacctg cagagtagtt 1440
agagaatatg tatgcctgca atatgggaac aaattagagg agactttttt ttttcatgth 1500
atgagctagc acatacacc ccttgtagta taatttcaag gaactgtgta cgccatttat 1560
ggcatgatta gattgcaaag caatgaactc aagaaggaat tgaaataagg agggacatga 1620
tggggaagga gtacaaaaca atctctcaac atgattgaac catttgggat ggagaagcac 1680
ctttgctctc agccacctgt tactaagtca ggagtgtagt tggatctcta cattaatgtc 1740
ctcttgctgt ctacagtagc tgctacctaa aaaaagatgt tttatthtgc cagttggaca 1800
caggtgattg gctcctgggt ttcattgtct gtgacatcct gcttcttctt ccaaagcag 1860
ttcattgcag acaccacat attgctatct aatggggaaa tgtagctatg ggccataacc 1920
aaaactcaca tgaaaacggag gcagatggag accaagggtg ggatccagaa tggagtctth 1980
tctgttattg tatttaaaag ggtaatgtgg ccttggcatt tcttcttaga aaaaaactaa 2040
tttttggtgc tgattggcat gtctggttca cagtttagca ttgttataaa ccattccatt 2100
cgaaaagcac tttgaaaaat tgttcccagc cgatagatgg gatggthtat gcaagctatg 2160
ctgaatactc ctcccctctt ctctthtgc ccctccctc ctgccccag tctgggttac 2220

ES 2 804 308 T3

tcttcgcttc tggatatctgg cgttcctttgg tacacagttc tgggtgttcct accaggactc 2280
 aagagacacc ccttcctgct gacattccca tcacaacatt cctcagacaa gcctgtaaac 2340
 taaaatctgt taccattctg atggcacaga aggatcttaa ttcccatctc tatacttctc 2400
 ctttggacat ggaaagaaaa gttattgctg gtgcaaagat agatggctga acatcagggt 2460
 gtggcatttt gttccctttt ccgttttttt ttttttattg ttgttgtaa ttttattgca 2520
 aagttgtatt cagcgtactt gaatctttct tcctctccac ttcttagagg cattcagtta 2580
 gcaaagaggt tggagcaaca actttttttt ttttttttgc acaattgtaa ttgacaggta 2640
 atgaagctat ttgttaaaat atttgccttt ttaagtaaaa aagaaaaatc agaacagggc 2700
 tatttgaaga attattttat acacagattc tgccttgttt catagtatga gggttgaaga 2760
 cggaaaacaa tctaagggtc tctcattttt ttaatcttgt tttgttcagt ttggtttttt 2820
 tttttttttg cgctgctaag aagctaaagt catccatcct tattcacgtt gacagtacct 2880
 agctgtaatg tttcacagag tgtgctgcta ttttataaac atttttataa tatattattt 2940
 tactgcttaa attccaagtc ctgaagtaga tggttgagat atgagttctt cgtactggaa 3000
 aagcccttcc gtagtttggt ttcttctggg agcatattca tggttgtttt tttttttctt 3060
 ttttggtttt ttggtttttt ttttttctc tgatcacatt cttcaaagac ggagtattct 3120
 ttacctcagg tttactggac aaaatcaata actacaaaag gcaatgattc acgcttttgt 3180
 tttcataata cctcacaacc gtacagtttc tgcttgggag cccattcgca tgaggaatac 3240
 agaagcagtg tgagcagggc tgactccctc tcaggtggaa ggcagggcgg tctcactccc 3300
 agggaccctt ttggtcatgg aggccatcgg gctcccagtt agaccctggt atcctcatca 3360
 tgatggaaaa aatacattga accaagggat cctccctccc cttcaaggca gacgttcagt 3420
 acaaacattt atgcggtagg ctccagatgtc gtaatttgca cttaggtacc aggtgtcagg 3480
 aaacagacta aaaagaattc caccaggctg tttggagatc ctcatcttgg agctttttca 3540
 aaagcggggc ttcatctgca aagggccctt tcatcttgaa gtttttcccc tccgtctttc 3600
 ccctcccctg gcatggacac cttgtgttta ggatcatctc tgcaggtttc ctaggtctga 3660
 atctgcgagt agatgaacct gcagcaagca gcgtttatgg tgcttccttc tccctcctct 3720
 gtctcaaaact gcgcaggcaa gcactatgca agcccaggcc ctctgctgag cgggtactaaa 3780
 cggtcggggt ttcaatcaca ctgaattggc aggataagaa aaataggtca gataagtatg 3840
 ggatgatagt tgaaggagg tgaagaggct gcttctctac agaggtgaaa ttccagatga 3900
 gtcagtctct tgggaagtgt gtttagaagg gttcaggact ttgtgagtta gcatgaccct 3960
 aaaattctag gggatttctg gtgggacaat ggggtggtgaa ttctgaagtt ttggagaggg 4020
 aagtggagca gccagcaagt aagctagcca gagttttctc aagagccagc tttgctcagc 4080

ES 2 804 308 T3

acaactctcct gggccccaag gagtcccacg gaatggggaa agcgggaacc ctggagttct 4140
 tgggaatctt ggagcctaaa gagaaaccga ggtgcaaatt catttcatgg tgactgacct 4200
 ttgagcttaa acagaagcag caaatgaaag aaccggacaa ataaggaagg gcacaagcct 4260
 accgactct atttacagtc tgtaactttc cactcttcct gtagtcccga ggcccctggg 4320
 tccttctagc ttttctctt cccatccttg gggccttggt tgatgatggg tgtggggctg 4380
 ccgatgggaa agtcgggggt tgtaggctt ttctgcctgc tcctgcttaa acacaagaag 4440
 gaatcctgga tttgcccctc tccttagctc ttagtctctt tggtaggagt tttgttccag 4500
 aggagctctc ccccttgat ttgaacttgc tctttttgtt gttgttgttc tttctcttct 4560
 ttttcttacc tcccactaaa ggggttccaa attatcctgg tctttttcta ccttgttgtg 4620
 tttctatctc gtctttactt ccatctgttt gtttttttct ccatcagtgg gggccgagtt 4680
 gttccccag cctgccaaat tttgatcctt cccctctttt ggccaaatcc tagggggaag 4740
 aatcctagt atgccaaaaa tatatgctaa gcataattaa actccatgag ggtccataac 4800
 agccaagaag cctgcaggag aaagccaagg gcagttccct ccgcagaaca ccccatgagt 4860
 gctgagaggc gagctccttg aagaaggggc tgttcttcca ggaggcctta ttttgaactg 4920
 cctcaggacc ccaactggaga gcacagcatg ccttactact gggatcatcct tgggtctatgt 4980
 gctctgtact ggaggctctg ttctgcctct tatcagccag gtcaggggca cacatggctt 5040
 aagtgacaaa gccagaggag aagacaacc ctgacagcatc acgctgcatc ccattgctag 5100
 caggattggc aactcttcag acggagctgc gcttccctgc agtctagcac ctctagggcc 5160
 tctccagact gtgccctggg agctctggga ctgaaagggt aagaacataa ggcaggatca 5220
 gatgactctc tccaagaggg caggggaatt ttctctccat gggccacagg ggacagggct 5280
 gggagaagaa atagacttgc acctatgtc atgtaaataa ttgattttct agttcaagaa 5340
 gataatattg gtagtgtggg aattggagggt aggaagggga ggaagtctga gtaagccagt 5400
 tggcttctaa gccaaaagga ttccctcttg tttatctctg agacagtcca accttgagaa 5460
 tagctttaaa agggaaatta atgctgagat gataaagtcc ccttaagcca acaaaccctc 5520
 tgtagctata gaatgagtgc aggtttctat tgggtgtggac tcagagcaat ttacaagagc 5580
 tgttcatgca gccatccatt tgtgcaaaat agggtaagaa gattcaagag gatatttatt 5640
 acttctcat accacatggc ttttgatgat tctggattct aaacaacca gaatggctcat 5700
 ttcaggcaca acgatactac attcgtgtgt gtctgctttt aaacttggct gggctatcag 5760
 acctattct cggctcaggt tttgagaagc catcagcaaa tgtgtacgtg catgctgtag 5820
 ctgcagcctg catcccttgc cctgcagcct actttgggga aataaagtgc cttactgact 5880
 gtagcatta cagtatccaa tgtcttttga cagggtgcctg tccttgaaaa acaaagtttc 5940
 tatttttatt ttaattggt ttagttctta actgctggcc aactcttaca tccccagcaa 6000

ES 2 804 308 T3

atcatcgggc cattggattt tttccattat gttcatcacc cttatatcat gtacctcaga 6060
tctctctctc tctcctctct ctcagttatg tagtttcttg tcttggactt ttttttttct 6120
tttctttttc tttttttttt tgctttaaaa caagtgtgat gccatatcaa gtccatgtta 6180
ttctctcaca gtgtactcta taagaggtgt ggggtgtctgt ttggtcagga tgttagaaag 6240
tgctgataag tagcatgata agtgtatgag aaaagggttt taggaagtat ggcaaaaatg 6300
ttgtattggc tatgatgggt acatgatata gtcagctgcc ttttaagagg tcttatctgt 6360
tcagtgttaa gtgatttaa aaaataataa cctgttttct gactagtta aagatggatt 6420
tgaaaatggt tttgaatgca attaggttat gctatttgga caataaactc accttgacct 6480

<210> 11
<211> 2345
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

5

<400> 11

ctgctcgcg cgcaccgc cgggccccgg ccgtccctgg ctcccctcct gcctcgagaa 60
gggcagggct tctcagaggc ttggcgggaa aaagaacgga gggagggatc gcgctgagta 120
taaaagccgg ttttcggggc tttatctaac tcgctgtagt aattccagcg agagggcagag 180
ggagcgagcg ggcggccggc tagggtgga gagccggggc agcagagctg cgctgcgggc 240
gtcctgggaa gggagatccg gagcgaatag ggggcttcgc ctctggcca gccctcccgc 300
tgatccccca gccagcggtc cgcaaccctt gccgcatcca cgaaactttg cccatagcag 360
cgggcgggca ctttgactg gaacttaaa caccgagca aggacgcgac tctcccagc 420
cggggaggct attctgcca tttggggaca cttccccgcc gctgccagga cccgcttctc 480
tgaaaggctc tccttgacg tgcttagacg ctggatTTTT ttcgggtagt ggaaaaccag 540
cagcctcccg cgacgatgcc cctcaacggt agcttcacca acaggaacta tgacctcgac 600
tacgactcgg tgcagccgta tttctactgc gacgaggagg agaacttcta ccagcagcag 660
cagcagagcg agctgcagcc cccggcgccc agcgaggata tctggaagaa attcgagctg 720
ctgccacccc cgcccctgtc ccctagccgc cgctccgggc tctgctcgcc ctacctagtt 780
gcggtcacac ctttctccct tcggggagac aacgacggcg gtggcgggag cttctccacg 840
gccgaccagc tggagatggt gaccgagctg ctgggaggag acatggtgaa ccagagtttc 900
atctgcgacc cggacgacga gaccttcac aaaaacatca tcatccagga ctgtatgtgg 960
agcggcttct cggccgccc caagctcgtc tcagagaagc tggcctccta ccaggctcgc 1020
cgcaaagaca gcggcagccc gaacccccgc cgcgccaca gcgtctgctc cacctccagc 1080
ttgtacctgc aggatctgag cgccgcccgc tcagagtgca tcgaccctc ggtggtcttc 1140
ccctaccctc tcaacgacag cagctcgccc aagtcctgcg cctcgcaaga ctccagcgc 1200

10

ES 2 804 308 T3

ttctctccgt cctcggattc tctgctctcc tcgacggagt cctccccgca gggcagcccc 1260
 gagcccctgg tgctccatga ggagacaccg cccaccacca gcagcgactc tgaggaggaa 1320
 caagaagatg aggaagaaat cgatgttggt tctgtggaaa agaggcaggc tcctggcaaa 1380
 aggtcagagt ctggatcacc ttctgctgga ggccacagca aacctcctca cagcccactg 1440
 gtcctcaaga ggtgccacgt ctccacacat cagcacaact acgcagcgcc tcctccact 1500
 cggaaggact atcctgctgc caagagggtc aagttggaca gtgtcagagt cctgagacag 1560
 atcagcaaca accgaaaatg caccagcccc aggtcctcgg acaccgagga gaatgtcaag 1620
 aggcgaacac acaacgtctt ggagcgccag aggaggaacg agctaaaacg gagctttttt 1680
 gccctgogtg accagatccc ggagttggaa aacaatgaaa aggccccaa ggtagttatc 1740
 cttaaaaaag ccacagcata catcctgtcc gtccaagcag aggagcaaaa gtcatttct 1800
 gaagaggact tgttgcgga aacgacgagaa cagttgaaac acaaacttga acagctacgg 1860
 aactcttgty cgtaaggaaa agtaaggaaa acgattcctt ctaacagaaa tgcctgagc 1920
 aatcacctat gaacttgttt caaatgcatg atcaaatgca acctcacaac cttggctgag 1980
 tcttgagact gaaagattta gccataatgt aaactgcctc aaattggact ttgggcataa 2040
 aagaactttt ttatgcttac catctttttt ttttctttaa cagatttgta tttagaatt 2100
 gtttttaaaa aattttaaga tttacacaat gtttctctgt aaatattgcc attaaatgta 2160
 aataacttta ataaaacgtt tatagcagtt acacagaatt tcaatcctag tatatagtac 2220
 ctagtattat aggtactata aaccctaatt ttttttattt aagtacattt tgctttttaa 2280
 agttgatttt tttctattgt ttttagaaaa aataaaataa ctggcaaata tatkattgag 2340
 ccaaa 2345

<210> 12
 <211> 5192
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 12

ggacaaaacc ctgcaggaga ctgcgagccc tgcagaactg ctagctgcgg gggagagggc 60
 aggggtcggg cgcctgtggc ggagccgggc tggggccagg gcaggaggc tgacaagcgg 120
 cgggagaagc cggcgagggg cgggatcgcg cctcctgaca tgttgggggt atccctggcc 180
 gggccgggccc ggggctaaga gcggcgctgc gggccggggg cggggtcggg tcgcggtccg 240
 cccccgctgt ccctccgtcc tgcctctgtc aggacgtgcg ttccgcactc ggccgcctcc 300
 agagggagcg agggaaagcgg ctagaggatc ggggagaagg agcattcgcc ggaggctgga 360
 ggaggctgac ccgcgtcccc gccagcctg ctccatgctg gtacttgaag gatggcgaag 420
 aggtcgcgca gtgaggatga ggatgatgac cttcagtatg ccgatcatga ttatgaagta 480

10

ES 2 804 308 T3

ccacaacaaa aaggactgaa gaaactctgg aacagagtaa aatggacaag ggacgaggat 540
 gataaattaa agaagttggt tgaacaacat ggaactgatg attggactct aattgctagt 600
 catcttcaaa atcgctctga ttttcagtgc cagcatcgat ggagaaagt tttaaatcct 660
 gaattgataa agggtccttg gactaaagaa gaagatcaga gggttattga attagttcag 720
 aaatatgggc caaaaagatg gtctttaatt gcaaaacatt taaaaggaag aataggcaag 780
 cagtgtagag aaagatggca taatcatctg aatcctgagg taaagaaatc ttcctggaca 840
 gaagaggagg acaggatcat ctatgaagca cataagcggg tgggaaatcg ttgggcagaa 900
 attgccaaac tacttccagg aaggactgat aattctatca aaaatcattg gaattctact 960
 atgcgaagaa aagtggaaca ggagggctat ttacaagatg gaataaaatc agaacgatct 1020
 tcatctaaac ttcaacacaa accttggtgca gctatggatc atatgcaaac ccagaatcag 1080
 ttttacatac ctgttcagat ccctgggtat cagtatgtgt cacctgaagg caattgtata 1140
 gaacatgttc agcctacttc tgcctttatt cagcaaccct tcattgatga agatcctgat 1200
 aaggaaaaga aaataaagga acttgagatg cttcttatgt cagctgagaa tgaagttaga 1260
 agaaagcgaa ttccatcaca gcctggaagt ttttctagct ggtctggtag tttcctcatg 1320
 gatgataaca tgtctaatac tctaaatagc cttgacgagc aactagtga gttttacagt 1380
 atggatgaaa atcagcctgt gtctgctcag cagaattcac ccacaaagt cctggccgtg 1440
 gaggcaaacg ctgtgttatc ctctttgcag accatcccag aatttgaga gactctagaa 1500
 cttattgaat ctgatcctgt agcatggagt gacgttacca gttttgatat ttctgatgct 1560
 gctgcttctc ctatcaaatc caccctcagt aaattaatga gaattcagca caatgaagga 1620
 gccatggaat gccaatttaa cgtcagctct gtacttgaag ggaaaaaaaa cacttghtaat 1680
 ggtggcaaca gtgaagctgt tcctttaaca tccccaaata tagccaagt tagcactcca 1740
 ccagccatcc tcagaaagaa gagaaaaatg cgagtgggtc attccccagg cagcgaactt 1800
 agggatggct cattgaacga tgggtgtaat atggcgctaa aacatacacc actgaaaaca 1860
 ctaccattht ctcttcaca gtttttcaac acatgtcctg gtaatgaaca acttaataa 1920
 gaaaatcctt catttacatc aaccctatt tgtgggcaga aagctctcat tacaactcct 1980
 cttcataagg aaacaactcc caaagatcaa aaggaaaatg tagggtttag aacacctact 2040
 attagaagat ctatactggg taccacacca agaactccta ctcttttaa gaatgcgctt 2100
 gctgctcagg agaaaaaata tggacctctt aaaattgtgt ccagccact tgctttcttg 2160
 gaagaagata ttcgggaagt tttaaaagaa gaaactggaa cagacctatt cctcaaagag 2220
 gaagatgaac ctgcttaca aagctgcaaa caagagaata ccgcttctgg gaagaaagtc 2280
 agaaaatcac tagtcttaga taattgggaa aaagaagaat caggcactca actgttgact 2340

ES 2 804 308 T3

gaagacattt cagacatgca gtcagaaaat agatttacta catccttatt aatgatacca 2400
 ttattggaaa tacatgacaa taggtgcaac ttgattcctg aaaaacaaga tataaattca 2460
 accaacaanaa catatacact tactaaaaag aaaccaaac ctaacacttc caaagttgtc 2520
 aaattggaaa agaactctca gtcaaattgt gaatgggaaa cagtggttta tgggaagaca 2580
 gaagaccaac ttattatgac tgaacaagca agaagatata tgagtactta cacagctacc 2640
 agtagtactt caagagctct catactgtaa ttgttattaa aattgatgaa atgccccact 2700
 cccttactgc agtctctact aaattaggtt gcagtgaaat ttttctcaat tagttgtttt 2760
 taaagttgta agatagccct tttaatacag catctttttt ctattctata tagtaggcag 2820
 aaagctagta agtcacttaa ggggtagata gtttcatagt ttatttttta agagatgaga 2880
 tttttaaaaa ttgtttttaa agaacaagat gggaaaataa tagaatgttc atggatttct 2940
 aaaagtaaat tctcatatat tttcttcaca agatatatgt tgctactctc ttgatgctgc 3000
 agttttgtta tagataggtg tatgagtata tatgatttct gaaattagtc tatgtatgga 3060
 aagcacacat gattttatga agtacttttg cccatgtgct gatttactta ggctaccatt 3120
 tacaagaaa cacattgaaa aggaatttaa aggaaggata gaaagttgca ctactaattt 3180
 ttgttttttt ttttcagaag cagtaaaatt aactacagtg ttaaagtat ttatttgagc 3240
 atagtactga aaacaaaaag cattcaaaaa agagtttttt ctttattagt aatagtatt 3300
 ttcttaactc cagaggagct gagagttttg ttgaatgat tgtacagtat gtaggagcag 3360
 gagaactttg taaattggaa agaagtctgt ttttataatt tatttttatt tttaaagctt 3420
 aatgtagat atttatacgt atacagggtg cctagaagcc aatggtggtt cctgttatta 3480
 cagctaacac agtaaagaat aattttgact ttaagtatga aacagtagta agttatagct 3540
 gcaaagaata caatatctat actgtatgtc acatctacct aaatggtgca ctatgccctt 3600
 taaatcatgc tggttataaa gtagttctaa aaatgtacta aataataatt taatattttc 3660
 tttttaaatt atatcggggg tgggtcatata cattaatctg gtgatttgta tatgtgtttg 3720
 aaatttttgc atttgttta aaaaataata tgggtaccttg gtccttaaaa acagtctgca 3780
 cttagaagtt tatatttact cagtgtttca gaagtggaga acattatctt ttatttataa 3840
 aatatttttg tcctttttta aatgttttgt gtttctctac aggttacaac agttgcttca 3900
 gttgcctggt ttaggtgttt gcacttattt tatttcttct tgaagaatt tttatttget 3960
 tttgtggtag agattatatg taattttttt tcagtcatat aatgggtgtgc tgtcaactta 4020
 aacactgaca ggtaaataga attgtacact gtagtttgaa ttatttataa ttgacacact 4080
 ctctccctct ccactcctga agtatgctgc tatagaaaat agcagaatcg gcttgctgct 4140
 acgagagaag gaaagagcga ccaccacttg cactgtgtga aaagataaaa acaaatgat 4200
 ggcaagttct caagttaact aatggaatc aaccattacc aggcaaattc ttgcaaatc 4260

ES 2 804 308 T3

caaaatacta ctatgcctta taaaacaaaa tgaaagcagg ttaagatfff ctgctctggt 4320
 tgtatgtaa tagaaatgga aataactaagt atfftaatgc ttagctcttg aacagtagac 4380
 ctaaaagggt ttaagctat ttaaatctac ttgctagfff ttgcatatff tatatatata 4440
 tatatffata tatatatata gtgagaagtg aagaaaatgt atggactaa gattatgcct 4500
 tattgataaa tagataaacc aatffgaatc ctcttagcat gfftaagat gffgattgct 4560
 ffctaattaa tgaactfftc acagaaatff cacttagtga aaccaatgat tgtagcaaac 4620
 tcatactgga tcatffcagt taccttgaac taatagcaca taatggffff ttgffgffg 4680
 tgtffffaat gtagccctta cctggatata catagtctgc aatcaccaaa gtataatatc 4740
 ttgtaaggct atatffffta aagcatatff ffcttgagc atffaaatfat cctaaatggf 4800
 aatatatffg ggataagtct gggcttattg gacataatac atatffggf tggactggf 4860
 tgaatccttc agttaactgc fffgffgctt fffgcaagat fffffatctt aaacatgtca 4920
 ggcactffaa gfcacctffta tactgffffg ffctctgag ffctfftcag fatgffatac 4980
 aatgccaga cataacatgt agcagccata cffgcatgga aactgactac acatacataa 5040
 tactgcattt tattgtaagg ffffcacatt aatacagcaa ffacctgac faaattgagf 5100
 fffgtgatat atggaaaact fcattgtaag agaatctgfc atacaatgff gacatattaa 5160
 catccaaaat aaagcatctg tgtacaagct ga 5192

<210> 13
 <211> 3209
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 13

accacctct tctcccacc cctcgccgca ccacacacag cgcgggcttc tagcgcctcg 60
 caccggcggg ccaggcgcgt cctgccttca ffatccagc agctfffcgg faaatgcatt 120
 tgctgffcg agfftaatca gaagaggatt cctgcctccg fcccggtc cffcatcgtc 180
 ccctctcccc tgtctctctc ctggggaggc gtgaagcggf cccgtggata gagattcatg 240
 cctgtgcccc cgcgtgtgtg cgcgcgtgta aatgcccag aaggggaaaa catcacagga 300
 cffctgcgaa taccggactg faaatgtaa ffcatctgcc gccgccgctg cffffffft 360
 ffctcgagct cffgagatct ccgfffgga ffctgcgga ffgacatff tgtgaagcag 420
 aagtctggga atcgatctg faatcctct aatffftact ccctctcccc gcgactcctg 480
 atfcattggg aagfffcfaa fcagctataa ctggagagtg ctgaagattg atgggatcgt 540
 tgccttatgc atffgffffg gffftacaaa aaggaaactt gacagaggat catgctgtac 600
 ftaaaaaata caacatcaca gaggaagtag actgatatta acaactffa ctaataataa 660
 cgtgcctcat gaaataaaga fccgaaagga atfgaataa faatffctg catctcatgc 720

10

ES 2 804 308 T3

caaggggaa acaccagaat caagtgttcc gcgtgattga agacaccccc tcgtccaaga 780
 atgcaaagca catccaataa aatagctgga ttataactcc tcttctttct ctgggggccc 840
 tgggggtggga gctggggcga gaggtgccgt tggcccccgt tgcttttcct ctgggaagga 900
 tggcgcacgc tgggagaaca gggtagcata accgggagat agtgatgaag tacatccatt 960
 ataagctgtc gcagaggggc tacgagtggg atgcgggaga tgtgggcgcc gcgcccccg 1020
 gggccgcccc cgcaccgggc atcttctcct ccagccccg gcacacgccc catccagccg 1080
 catcccggga cccggtcgcc aggacctcgc cgctgcagac cccggctgcc cccggcgcg 1140
 ccgcggggcc tgcgctcagc ccggtgccac ctgtgttcca cctgaccctc cgccagccg 1200
 gcgacgactt ctcccgcgc taccgccgcg acttcgccga gatgtccagc cagctgcacc 1260
 tgacgccctt caccgcgcgg ggacgctttg ccacggtggt ggaggagctc ttcagggacg 1320
 ggggtgaactg ggggaggatt gtggccttct ttgagttcgg tggggtcatg tgtgtggaga 1380
 gcgtcaaccg ggagatgtcg ccctggtgg acaacatcgc cctgtggatg actgagtacc 1440
 tgaaccggca cctgcacacc tggatccagg ataacggagg ctgggatgcc tttgtggaac 1500
 tgtacggccc cagcatgcgg cctctgtttg atttctcctg gctgtctctg aagactctgc 1560
 tcagtttggc cctggtggga gcttgcata ccctgggtgc ctatctgggc cacaagtga 1620
 gtcaacatgc ctgccccaaa caaatatgca aaaggttcac taaagcagta gaaataatat 1680
 gcattgtcag tgatgtacca tgaacaaaag ctgcaggctg ttaagaaaa aataacacac 1740
 atataaacat cacacacaca gacagacaca cacacacaca acaattaaca gtcttcaggc 1800
 aaaacgtcga atcagctatt tactgcaaaa gggaaatatc atttatttt tacattatta 1860
 agaaaaaaag atttatttat ttaagacagt cccatcaaaa ctctgtctt tggaaatccg 1920
 accactaatt gccaaagcacc gcttcgtgtg gctccacctg gatgttctgt gcctgtaaac 1980
 atagattcgc tttccatggt gttggccgga tcaccatctg aagagcagac ggatggaaaa 2040
 aggacctgat cattggggaa gctggctttc tggctgctgg aggctgggga gaaggtgttc 2100
 attcacttgc atttctttgc cctgggggct gtgatattaa cagagggagg gttcctgtgg 2160
 ggggaagtcc atgcctccct ggctgaaga agagactctt tgcatatgac tcacatgatg 2220
 catacctggt gggaggaaaa gagttgggaa cttcagatgg acctagtacc cactgagatt 2280
 tccacgccga aggacagcga tgggaaaaat gcccttaaat cataggaaag tattttttta 2340
 agtaccaat tgtgccgaga aaagcatttt agcaatttat acaatatcat ccagtacctt 2400
 aagccctgat tgtgtatatt catatatttt ggatacgcac cccccaactc ccaatactgg 2460
 ctctgtctga gtaagaaaca gaatcctctg gaacttgagg aagtgaacat ttcggtgact 2520
 tccgcatcag gaaggctaga gttaccacaga gcatcaggcc gccacaagtg cctgctttta 2580

ES 2 804 308 T3

ggagaccgaa gtccgcagaa cctgcctgtg tcccagcttg gaggcctggt cctggaactg 2640
 agccggggcc ctcaactggcc tctccaggg atgatcaaca gggcagtgtg gtctccgaat 2700
 gtctggaagc tgatggagct cagaattcca ctgtcaagaa agagcagtag aggggtgtgg 2760
 ctgggcctgt caccctgggg ccctccaggt agggccgttt tcacgtggag catgggagcc 2820
 acgacccttc ttaagacatg tatcaactgta gaggggaagga acagaggccc tgggccccttc 2880
 ctatcagaag gacatggtga aggctgggaa cgtgaggaga ggcaatggcc acggcccatt 2940
 ttggctgtag cacatggcac gttggctgtg tggccttggc ccacctgtga gtttaaagca 3000
 aggctttaa tgactttgga gagggtcaca aatcctaaaa gaagcattga agtgaggtgt 3060
 catggattaa ttgaccctg tctatggaat tacatgtaaa acattatctt gtcactgtag 3120
 tttggtttta tttgaaaacc tgacaaaaaa aaagttccag gtgtggaata tgggggttat 3180
 ctgtacatcc tggggcatta aaaaaaaaa 3209

<210> 14
 <211> 928
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 14

accctcccag tgtgcttgag aaacaaactg caccactga actccgcagc tagcatccaa 60
 atcagccctt gagatttgag gccttggaga ctgaggagt ttgagagcaa aatgacaaca 120
 cccagaaatt cagtaaattg gactttcccg gcagagccaa tgaaaggccc tattgctatg 180
 caatctggtc caaaaccact cttcaggagg atgtcttcac tggaaactgt aatagctggc 240
 atcgttgaga atgaatggaa aagaacgtgc tccagacca aatctaact agttctcctg 300
 tcagcagaag aaaaaaaaaa acagactatt gaaataaaaag aagaagtggg tgggctaact 360
 gaaacatctt cccaacccaaa gaatgaagaa gacattgaaa ttattccaat ccaagaagag 420
 gaagaagaag aaacagagac gaactttcca gaacctccc aagatcagga atcctcacca 480
 atagaaaatg acagctctcc ttaagtgatt tcttctgttt tctgtttcct tttttaaaca 540
 ttagtgttca tagcttccaa gagacatgct gactttcatt tcttgaggta ctctgcacat 600
 acgcaccaca tctctatctg gcctttgcat ggagtgacca tagctccttc tctcttacat 660
 tgaatgtaga gaatgtagc attgtagcag cttgtgttgt cacgcttctt cttttgagca 720
 actttcttac actgaagaaa ggcagaatga gtgcttcaga atgtgatttc ctactaacct 780
 gttccttggga taggcttttt agtatagtat tttttttgt cattttctcc atcaacaacc 840
 agggagactg cacctgatgg aaaagatata tgactgcttc atgacattcc taaactatct 900
 tttttttatt ccacatctac gtttttgg 928

10

ES 2 804 308 T3

5	<210> 15 <211> 24 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> región específica de diana (L) de NEK6	
10	<400> 15 cctgtgcatc ctctgaccc acag	24
15	<210> 16 <211> 23 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> región específica de diana (R) de NEK6	
20	<400> 16 aggcattcca acacgctgctc ttt	23
25	<210> 17 <211> 24 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> región específica de diana (L) de IRF4	
30	<400> 17 ctgccgaagc ctggcgctc tcag	24
35	<210> 18 <211> 25 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> región específica de diana (L) de IRF4	
40	<400> 18 actgccggct gcacatctgc ctgta	25
45	<210> 19 <211> 22 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> región específica de diana (L) de IGHM	
50	<400> 19 gcgtcctcca tgttggtccc cg	22
55	<210> 20 <211> 26 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> región específica de diana (R) de IGHM	
60	<400> 20 atcaagacac agccatccgg gtcttc	26

ES 2 804 308 T3

	<210> 21	
	<211> 25	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
5	<220>	
	<223> región específica de diana (L) de CCND1	
	<400> 21	
10	accttcgttg ccctctgtgc cacag	25
	<210> 22	
	<211> 27	
	<212> ADN	
15	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> región específica de diana (R) de CCND1	
20	<400> 22	
	atgtgaagtt catttccaat cgcacct	27
	<210> 23	
	<211> 29	
25	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> región específica de diana (L) de LMO2	
30	<400> 23	
	cggaagctct gccggagaga ctatctcag	29
	<210> 24	
35	<211> 25	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
40	<223> región específica de diana (R) de LMO2	
	<400> 24	
	gctttttggg caagacggtc tctgc	25
45	<210> 25	
	<211> 27	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
50	<220>	
	<223> región específica de diana (L) de FOXP1	
	<400> 25	
55	cccttcccct tcaacctctt gctcaag	27
	<210> 26	
	<211> 27	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
60	<220>	
	<223> región específica de diana (R) de FOXP1	
	<400> 26	
65	gcatgattcc aacagaactg cagcagc	27

ES 2 804 308 T3

5	<210> 27 <211> 30 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> región específica de diana (L) de TNFRSF9	
10	<400> 27 ggacctgtga catatgcagg cagtgtaaag	30
	<210> 28 <211> 29 <212> ADN <213> Artificial	
15	<220> <223> región específica de diana (R) de TNFRSF9	
20	<400> 28 gtgttttcag gaccaggaag gagtgttcc	29
	<210> 29 <211> 26 <212> ADN <213> Artificial	
25	<220> <223> región específica de diana (L) de BCL6	
30	<400> 29 cataaaacgg tcctcatggc ctgcag	26
	<210> 30 <211> 34 <212> ADN <213> Artificial	
35	<220> <223> región específica de diana (R) de BCL6	
40	<400> 30 tggcctgttc tatagcatct ttacagacca gttg	34
	<210> 31 <211> 23 <212> ADN <213> Artificial	
45	<220> <223> región específica de diana (L) de TNFRSF13B	
50	<400> 31 ggcacactgt gcagccttct gca	23
	<210> 32 <211> 24 <212> ADN <213> Artificial	
55	<220> <223> región específica de diana (R) de TNFRSF13B	
60	<400> 32 ggtcactcag ctgccgcaag gagc	24
	<210> 32 <211> 24 <212> ADN <213> Artificial	
65	<220> <223> región específica de diana (R) de TNFRSF13B	

ES 2 804 308 T3

5	<210> 33 <211> 26 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> región específica de diana (L) de CCND2	
10	<400> 33 gaccttcatt gctctgtgtg ccaccg	26
15	<210> 34 <211> 30 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> región específica de diana (R) de CCND2	
20	<400> 34 actttaagtt tgccatgtac ccaccgtoga	30
25	<210> 35 <211> 26 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> región específica de diana (L) de MYC	
30	<400> 35 tcgggtagtg gaaaaccagc agcctc	26
35	<210> 36 <211> 24 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> región específica de diana (R) de MYC	
40	<400> 36 ccgcgacgat gccctcaac gtta	24
45	<210> 37 <211> 36 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> región específica de diana (L) de MYBL1	
50	<400> 37 ccagaattg cagagactct agaactatt gaatct	36
55	<210> 38 <211> 33 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> región específica de diana (R) de MYBL1	
60	<400> 38 gatcctgtag catggagtga cggtaccagt ttt	33

ES 2 804 308 T3

5	<210> 39 <211> 26 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> región específica de diana (R) de BCL2	
10	<400> 39 cctggatcca ggataacgga ggctgg	26
	<210> 40 <211> 25 <212> ADN <213> Artificial	
15	<220> <223> región específica de diana (R) de BCL2	
20	<400> 40 gatgccttgg tggactgta cggcc	25
	<210> 41 <211> 30 <212> ADN <213> Artificial	
25	<220> <223> región específica de diana (L) de MS4A1	
30	<400> 41 ttctcatga gggaatctaa gactttgggg	30
	<210> 42 <211> 30 <212> ADN <213> Artificial	
35	<220> <223> MS4A1	
	<400> 42 gctgtccaga ttatgaatgg gctctccac	30
40	<210> 43 <211> 23 <212> ADN <213> Artificial	
45	<220> <223> región de cola (TL)	
	<400> 43 gtgccagcaa gatccaatct aga	23
50	<210> 44 <211> 19 <212> ADN <213> Artificial	
55	<220> <223> región de cola (TR)	
60	<400> 44 tccaaccctt agggaacc	19

ES 2 804 308 T3

5	<210> 45 <211> 3 <212> ADN <213> Artificial <220> <223> región espaciadora	
10	<400> 45 tac	3
15	<210> 46 <211> 4 <212> ADN <213> Artificial <220> <223> región espaciadora	
20	<400> 46 tact	4
25	<210> 47 <211> 5 <212> ADN <213> Artificial <220> <223> región espaciadora	
30	<400> 47 tacta	5
35	<210> 48 <211> 7 <212> ADN <213> Artificial <220> <223> región espaciadora	
40	<400> 48 tactact	7
45	<210> 49 <211> 10 <212> ADN <213> Artificial <220> <223> región espaciadora	
50	<400> 49 tactactact	10
55	<210> 50 <211> 11 <212> ADN <213> Artificial <220> <223> región espaciadora	
60	<400> 50 tactactact a	11
65	<210> 51 <211> 12 <212> ADN	

ES 2 804 308 T3

	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> región espaciadora	
5	<400> 51 tactactact ac	12
	<210> 52	
10	<211> 14 <212> ADN <213> Artificial	
	<220>	
15	<223> región espaciadora	
	<400> 52 tactactact acta	14
20	<210> 53 <211> 16 <212> ADN <213> Artificial	
	<220>	
25	<223> región espaciadora	
	<400> 53 tactactact actact	16
30	<210> 54 <211> 47 <212> ADN <213> Artificial	
35	<220>	
	<223> primera sonda de NEK6	
	<400> 54 gtgccagcaa gatccaatct agacctgtgc atctctctga cccacag	47
	<210> 55 <211> 42 <212> ADN <213> Artificial	
45	<220>	
	<223> segunda sonda de NEK6	
50	<400> 55 aggcatcca acacgctgtc tttccaacc ctagggaac cc	42
	<210> 56 <211> 48 <212> ADN <213> Artificial	
55	<220>	
	<223> primera sonda de IRF4	
60	<400> 56 gtgccagcaa gatccaatct agatctgccg aagccttggc gttctcag	48
	<210> 57 <211> 44 <212> ADN	
65		

ES 2 804 308 T3

	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> segunda sonda	
5	<400> 57	
	actgccggct gcacatctgc ctgtatccaa cccttaggga accc	44
	<210> 58	
10	<211> 46	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
15	<223> primera sonda de IGHM	
	<400> 58	
	gtgccagcaa gatccaatct agatgcgtcc tccatgtgtg gccccg	46
20	<210> 59	
	<211> 50	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
25	<220>	
	<223> segunda sonda de IGHM	
	<400> 59	
30	atcaagacac agccatccgg gtcttctact atccaaccct tagggaaccc	50
	<210> 60	
	<211> 49	
	<212> ADN	
35	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> primera sonda de CCND1	
	<400> 60	
40	gtgccagcaa gatccaatct agataccttc gttgccctct gtgccacag	49
	<210> 61	
	<211> 50	
45	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> segunda sonda de CCND1	
50	<400> 61	
	atgtgaagtt catttccaat cggcccttac ttccaaccct tagggaaccc	50
	<210> 62	
55	<211> 52	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> primera sonda de LMO2	
60	<400> 62	
	gtgccagcaa gatccaatct agacggaagc tctgccggag agactatctc ag	52
	<210> 63	
65	<211> 49	
	<212> ADN	

ES 2 804 308 T3

	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> segunda sonda de LMO2	
5	<400> 63	
	gcttttggg caagacggtc tctgctacta tccaaccctt agggaacc	49
	<210> 64	
10	<211> 50	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
15	<223> primera sonda de FOXP1	
	<400> 64	
	gtgccagcaa gatccaatct agacccttc cctcaacct ctgctcaag	50
20	<210> 65	
	<211> 55	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
25	<220>	
	<223> segunda sonda de FOXP1	
	<400> 65	
30	gcatgattcc aacagaactg cagcagctac tactactcca acccttaggg aacc	55
	<210> 66	
	<211> 56	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
35	<220>	
	<223> primera sonda de TNFRSF9	
	<400> 66	
40	gtgccagcaa gatccaatct agatacggac ctgtgacata tgcaggcagt gtaaag	56
	<210> 67	
	<211> 51	
	<212> ADN	
45	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> segunda sonda de TNFRSF9	
50	<400> 67	
	gtgtttcag gaccaggaag gagtgttct actccaacc ttaggaacc c	51
	<210> 68	
	<211> 56	
55	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> primera sonda de BCL6	
60	<400> 68	
	gtgccagcaa gatccaatct agatactact cataaaaacgg tcctcatggc ctgcag	56
	<210> 69	
65	<211> 53	
	<212> ADN	

ES 2 804 308 T3

	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> segunda sonda de BCL6	
5	<400> 69	
	tgccctgttc tatagcatct ttacagacca gttgtccaac ccttagggaa ccc	53
	<210> 70	
10	<211> 57	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
15	<223> primera sonda de TNFRSF13B	
	<400> 70	
	gtgccagcaa gatccaatct agatactact actagcgcac ctgtgcagcc ttctgca	57
20	<210> 71	
	<211> 55	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
25	<220>	
	<223> segunda sonda de TNFRSF13B	
	<400> 71	
30	ggctcactcag ctgccgcaag gagctactac tactactcca acccttaggg aacc	55
	<210> 72	
	<211> 56	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
35	<220>	
	<223> primera sonda de CCND2	
	<400> 72	
40	gtgccagcaa gatccaatct agatactact gacctcatt gctctgtgtg ccaccg	56
	<210> 73	
	<211> 57	
	<212> ADN	
45	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> segunda sonda de CCND2	
50	<400> 73	
	actttaagtt tgccatgtac ccaccgtcga tactactatc caacccttag ggaacc	57
	<210> 74	
	<211> 59	
55	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> primera sonda de MYC	
60	<400> 74	
	gtgccagcaa gatccaatct agatactact acttcgggta gtggaaaacc agcagcctc	59
	<210> 75	
65	<211> 57	
	<212> ADN	

ES 2 804 308 T3

<213> Artificial
 <220>
 <223> segunda sonda de MYC
 5
 <400> 75
 ccgcgacgat gccctcaac gttatactac tactactatc caacccttag ggaacct 57
 <210> 76
 10 <211> 59
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 15 <223> primera sonda de MYBL1
 <400> 76
 gtgccagcaa gatccaatct agaccagaat ttgcagagac tctagaactt attgaatct 59
 <210> 77
 20 <211> 59
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 25 <223> segunda sonda de MYBL1
 <400> 77
 gatcctgtag catggagtga cgttaccagt tttactact tccaaccctt agggaacct 59
 30 <210> 78
 <211> 61
 <212> ADN
 <213> Artificial
 35 <220>
 <223> primera sonda de BCL2
 <400> 78
 40 **gtgccagcaa gatccaatct agatactact actaccctgg atccaggata acggaggctg 60**
g 61
 <210> 79
 45 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> segunda sonda de BCL2
 50 <400> 79
 gatgcctttg tggaactgta cggcctacta ctactactac ttccaacct tagggaacct 60
 <210> 80
 55 <211> 64
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 60 <223> primera sonda de MS4A1
 <400> 80

ES 2 804 308 T3

	gtgccagcaa gatccaatct agatactact actattcttc atgaggggaat ctaagacttt	60
	gggg	64
5	<210> 81 <211> 60 <212> ADN <213> Artificial	
10	<220> <223> segunda sonda de MS4A1	
	<400> 81 gctgtccaga ttatgaatgg gctctccac tactactact atccaacct tagggaacct 60	
15	<210> 82 <211> 23 <212> ADN <213> Artificial	
20	<220> <223> sonda competidora de NEK6	
	<400> 82 aggcatcca acacgctgctc ttt	23
25	<210> 83 <211> 26 <212> ADN <213> Artificial	
30	<220> <223> sonda competidora de IGHM	
35	<400> 83 atcaagacac agccatccgg gtcttc	26
40	<210> 84 <211> 19 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> cebador ILLU1	
45	<400> 84 gggtcccta agggttga	19
50	<210> 85 <211> 23 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> cebador ILLU2	
55	<400> 85 gtgccagcaa gatccaatct aga	23

REIVINDICACIONES

1. Un método para clasificar un linfoma de linfocitos B grande difuso (DLBCL) de un sujeto en un GCB-DLBCL o en un ABC-DLBCL, que comprende la etapa de determinar el nivel de expresión de 10 genes en una muestra de tejido tumoral obtenida del sujeto realizando un ensayo de amplificación con sonda dependiente de ligamiento múltiple con retrotranscriptasa (RT-MLPA) en el que los 10 genes son NEK6, IRF4, IGHM, LMO2, FOXP1, TNFRSF9, BCL6, TNFRSF13B, CCND2 y MYBL1, comprendiendo dicho método las etapas de i) preparar una muestra de ADNc a partir de la muestra de tejido tumoral, ii) incubar la muestra de ADNc de la etapa i) con una mezcla de al menos 10 pares diferentes de sondas específicas de una secuencia de ácido nucleico diana de NEK6, IRF4, IGHM, LMO2, FOXP1, TNFRSF9, BCL6, TNFRSF13B, CCND2 y MYBL1, iii) ligar la primera sonda con la segunda sonda de los partes de sondas, iv) amplificar las sondas ligadas producidas en la etapa iii) y v) detectar y cuantificar los amplicones producidos en la etapa iv), en el que el par de sondas consiste en:

15 - una primera sonda que tiene

- una región específica de diana (L) complementaria al primer segmento de la secuencia de ácido nucleico diana y

20 - una región de cola (TL) en el extremo 5' de la región específica de diana (L) que no es complementaria a dicha secuencia de ácido nucleico diana,

- una segunda sonda que tiene

25 - una región específica de diana (R) complementaria al segundo segmento de la secuencia de ácido nucleico diana y

- una región de cola (TR) en el extremo 3' de la región específica de diana (R) que no es complementaria a dicha secuencia de ácido nucleico diana,

en el que

30 el par de sondas específicas para NEK6 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:54 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGACCTGTGCATCCTCCTGACCCACAG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:55 (AGGCATCCCAACACGCTGTCTTTTCCAACCCTTAGGGAACCC);

35 el par de sondas específicas para IRF4 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:56 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATCTGCCGAAGCCTTGCCGTTCTCAG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:57 (ACTGCCGGCTGCACATCTGCCTGTATCCAACCCTTAGGGAACCC);

el par de sondas específicas para IGHM consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:58 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATGCGTCTCCATGTGTGGCCCG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:59 (ATCAAGACACAGCCATCCGGTCTTCTACTATCCAACCCTTAGGGAACCC);

40 el par de sondas específicas para LMO2 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:62 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGACGGAAGCTCTGCCGGAGAGACTATCTCAG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:63 (GCTTTTGGGCAAGACGGTCTCTGCTACTATCCAACCCTTAGGGAACCC);

el par de sondas específicas para FOXP1 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:64 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGACCCTTCCCCTTCAACCTCTTGCTCAAG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:65 (GCATGATTCCAACAGAAGTGCAGCAGCTACTACTACTCCAACCCTTAGGGAACCC);

45 el par de sondas específicas para TNFRSF9 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:66 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATACGGACCTGTGACATATGCAGGCAGTGTAAG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:67 (GTGTTTTCAGGACCAGGAAGGAGTGTTTCTACTCCAACCCTTAGGGAACCC); el par de sondas específicas para BCL6 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:68 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATACTACTACTATAAAACGGTCTCATGGCCTGCAG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:69 (TGGCCTGTTCTATAGCATCTTTACAGACCAGTTGTCCAACCCTTAGGGAACCC);

50 el par de sondas específicas para TNFRSF13B consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:70 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATACTACTACTAGCGCACCTGTGCAGCCTTCTGCA) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:71 (GGTCACTCAGCTGCCGCAAGGAGCTACTACTACTACTCCAACCCTTAGGGAACCC); el par de sondas específicas para CCND2 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:72 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATACTACTGACCTTCATTGCTCTGTGTGCCACCG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:73 (ACTTTAAGTTTGCCATGTACCCACCGTCGATACTACTACTATCCAACCCTTAGGGAACCC); y

55 el par de sondas específicas para MYBL1 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:76 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGACCAGAATTTGCAGAGACTCTAGAATTATTGAAT CT) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:77 (GATCCTGTAGCATGGAGTGACGTTACCAGTTTTTACTACTTCCAACCCTTAGGGAACC

60 C).

2. El método de la reivindicación 1, en el que el ensayo de RT-MPLPA comprende además un medio para determinar el nivel de expresión de al menos un gen seleccionado del grupo que consiste en CCND1, MS4A1, MYC o BCL2 en la muestra de tumor.

65 3. El método de la reivindicación 2, que comprende una etapa de determinar el nivel de expresión de 14 genes en una

muestra de tejido tumoral obtenida del sujeto realizando un ensayo de amplificación con sonda dependiente de ligamiento múltiple con retrotranscriptasa (RT-MLPA) en el que los 14 genes son NEK6, IRF4, IGHM, CCND1, LMO2, FOXP1, TNFRSF9, BCL6, TNFRSF13B, CCND2, MYC, MYBL1, BCL2 y MS4A1.

- 5 4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la muestra de tumor es un tejido de tumor incluido en parafina fijado en formol.
5. El método de la reivindicación 3, en el que el par de sondas específicas para MYC consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:74 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATACTACTACTTCGGGTAGTGAAAACCAGCAGCC TC) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:75 (CCGCGACGATGCCCTCAACGTTATACTACTACTATCCAACCCTTAGGGAACCC); el par de sondas específicas para CCND1 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:60 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATACCTTCGTTGCCCTCTGTGCCACAG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:61 (ATGTGAAGTTCATTTCCAATCCGCCCTTACTTCCAACCCTTAGGGAACCC);
- 10 15 el par de sondas específicas para BCL2 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:78 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATACTACTACTACCCTGGATCCAGGATAACGGAGG CTGG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:79 (GATGCCTTTGTGGAAGTGTACGGCCTACTACTACTACTTCCAACCCTTAGGGAAC CC); y el par de sondas específicas para MS4A1 consiste en una primera sonda que es la SEQ ID NO:80 (GTGCCAGCAAGATCCAATCTAGATACTACTACTATTCTTCATGAGGGAATCTAAGAC TTTGGGG) y una segunda sonda que es la SEQ ID NO:81 (GCTGTCCAGATTATGAATGGGCTCTTCCACTACTACTACTATCCAACCCTTAGGGAAC CC).
- 20 25 6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que la muestra de ADNc también se incuba en la etapa ii) con una sonda competidora específica para NEK6, que es la SEQ ID NO:82 (AGGCATCCCAACACGCTGTCTTT) y/o con una sonda competidora específica para IGHM, que es la SEQ ID NO:83 (ATCAAGACACAGCCATCCGGGTCTTC).
- 30 7. El método de la reivindicación 3, que comprende una etapa que consiste en calcular una puntuación que representa la probabilidad de que el DLBCL pertenezca a la clase ABC o la clase GCB, en el que la puntuación (LPS) se calcula mediante la fórmula:

$$LPS(X) = \sum_{g \in G} \left(\frac{t_g}{m_g} * X_g \right) \text{ en la que } X_g = \frac{H_g}{\frac{1}{n} * \sum_{j \in J} H_j}$$

- 35 40 en la que G representa el conjunto de 10 genes GCB-ABC, J representa el conjunto de n = 14 genes medidos, t_g representa el valor estadístico t generado por un ensayo de la t para la diferencia en la expresión del gen g entre los casos de GCB y de ABC en la serie de capacitación, m_g representa la media aritmética de las expresiones génicas para el gen g en la serie de capacitación y X_g representa la expresión génica del gen g en la muestra considerada, la expresión génica X_g del gen g en una muestra dada se calcula como la altura máxima H_g del pico de fluorescencia medido para el gen g dividida por la media aritmética de los 14 picos medidos para la muestra considerada.

8. El método de la reivindicación 7, en el que los valores de t_g y m_g se definen de acuerdo con la tabla A:

Tabla A

Gen (g)	t_g	m_g
NEK6	-6,09456	0,37762
MYBL1	-4,00549	0,30712
LMO2	-8,80942	0,79006
TACI	4,46992	0,41455
TNFRSF9	-2,50028	0,34052
BCL6	-3,16453	0,44348
CCND2	2,7198	0,70859
IRF4	5,35073	1,95678
IGHM	5,0939	2,87208
FOXP1	2,67211	1,63401

9. Un kit para realizar un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende los 10 pares diferentes de sondas específicas de una secuencia de ácido nucleico diana de NEK6, IRF4, IGHM, LMO2, F0XP1, TNFRSF9, BCL6, TNFRSF13B, CCND2 y MYBL1, como se define en la reivindicación 1.

A. Serie CHB : n = 195

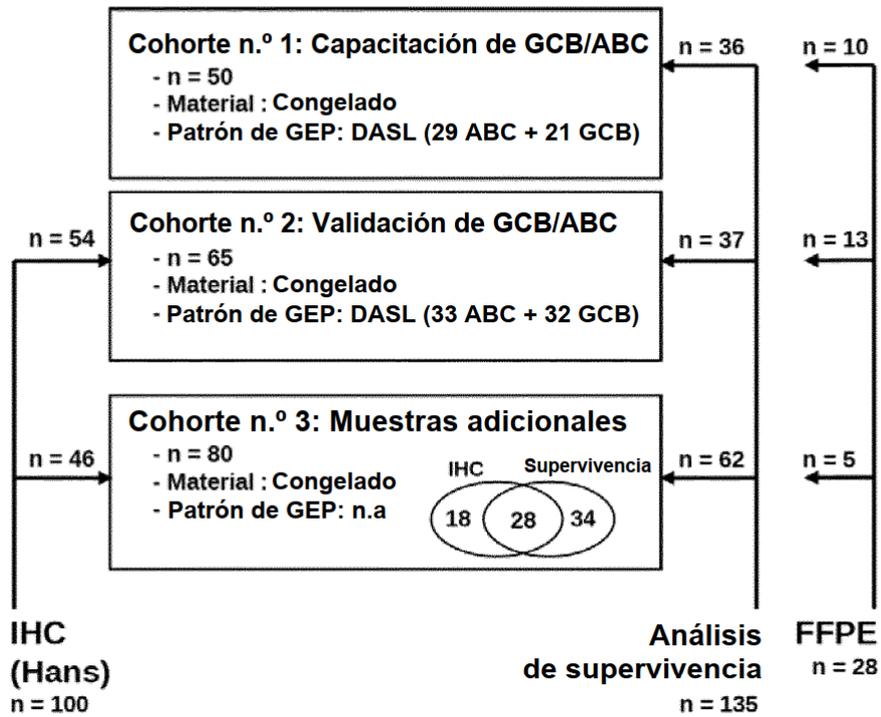


Figura 1A

B. Serie Lysa : n=64 (independiente)

Cohorte n.º 4: Validación de Affymetrix

- n = 64
- Material : Congelado
- Patrón de GEP : Affymetrix (25 ABC + 28 GCB + 11 Otro)

Figura 1B

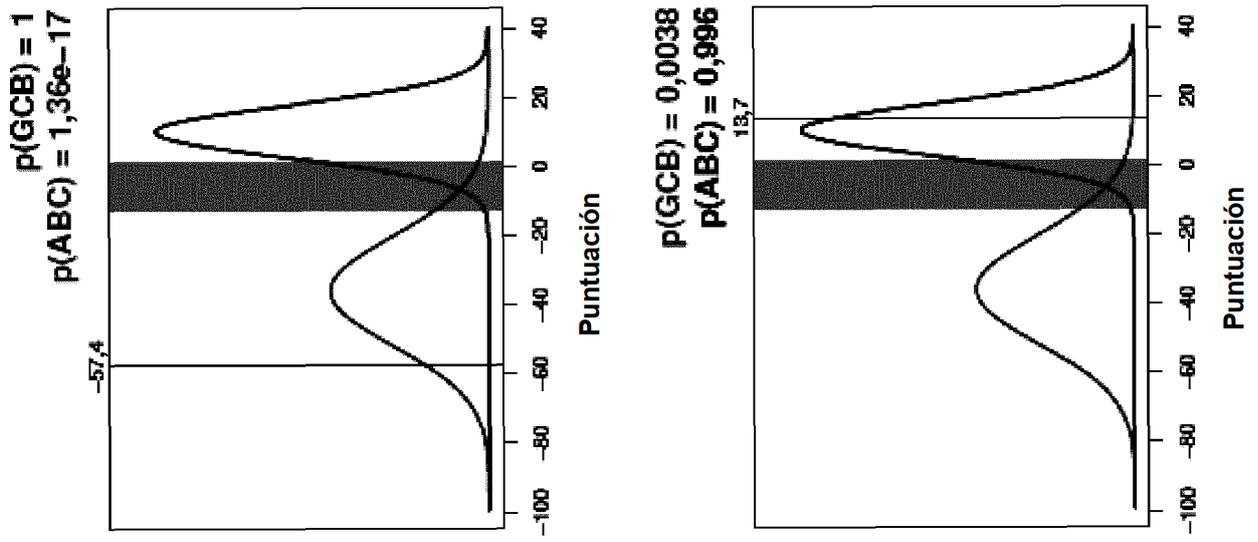


Figura 2 (parte 1/2)

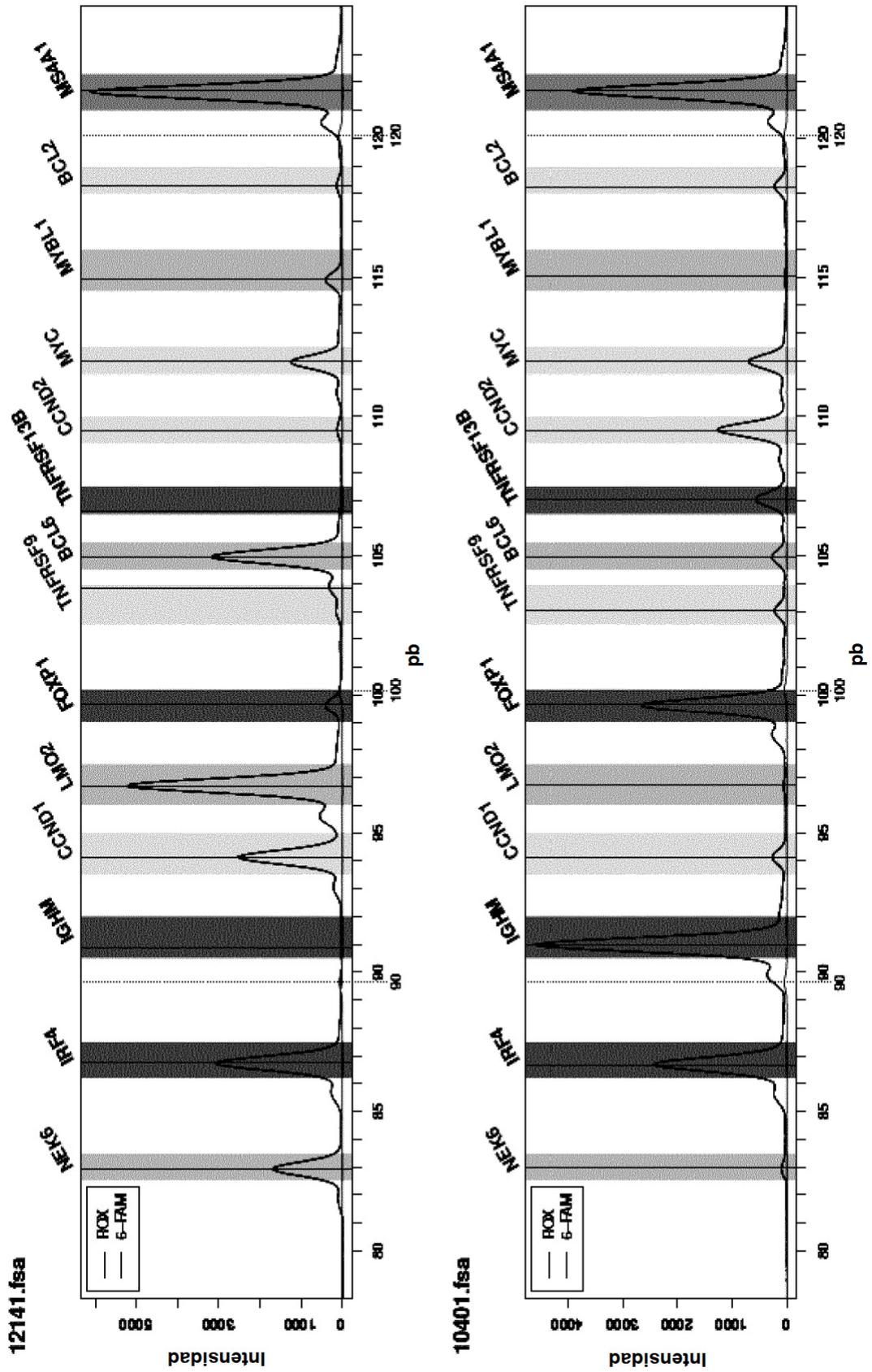


Figura 2 (parte 2/2)

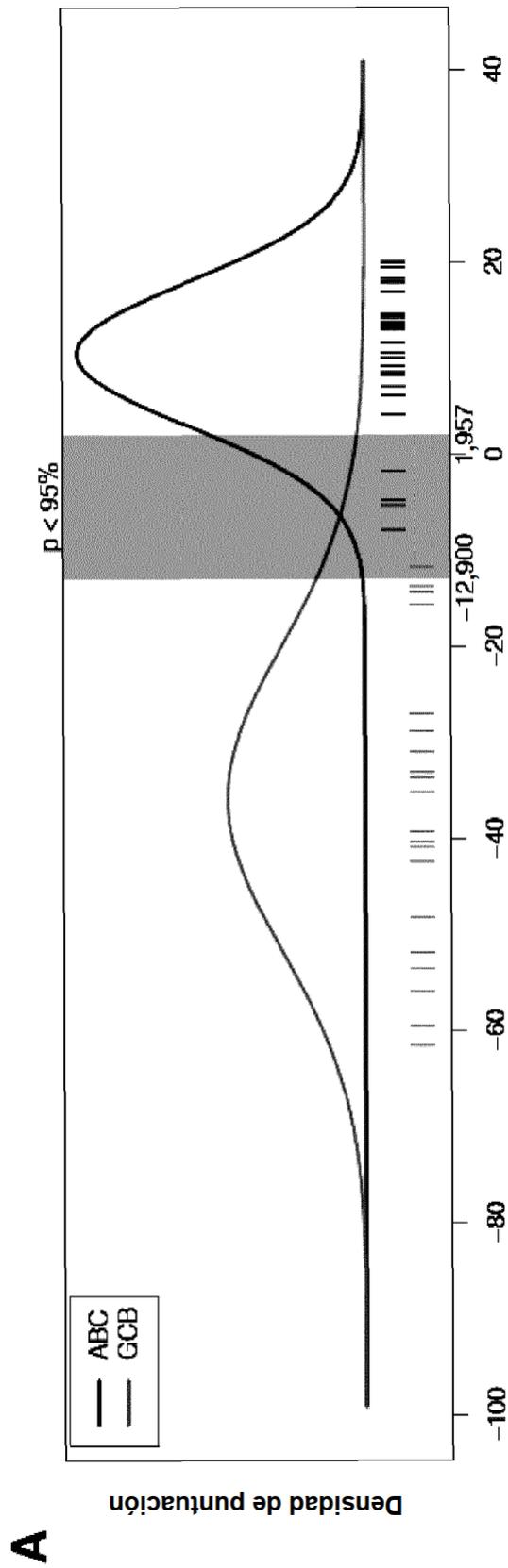


Figura 3A

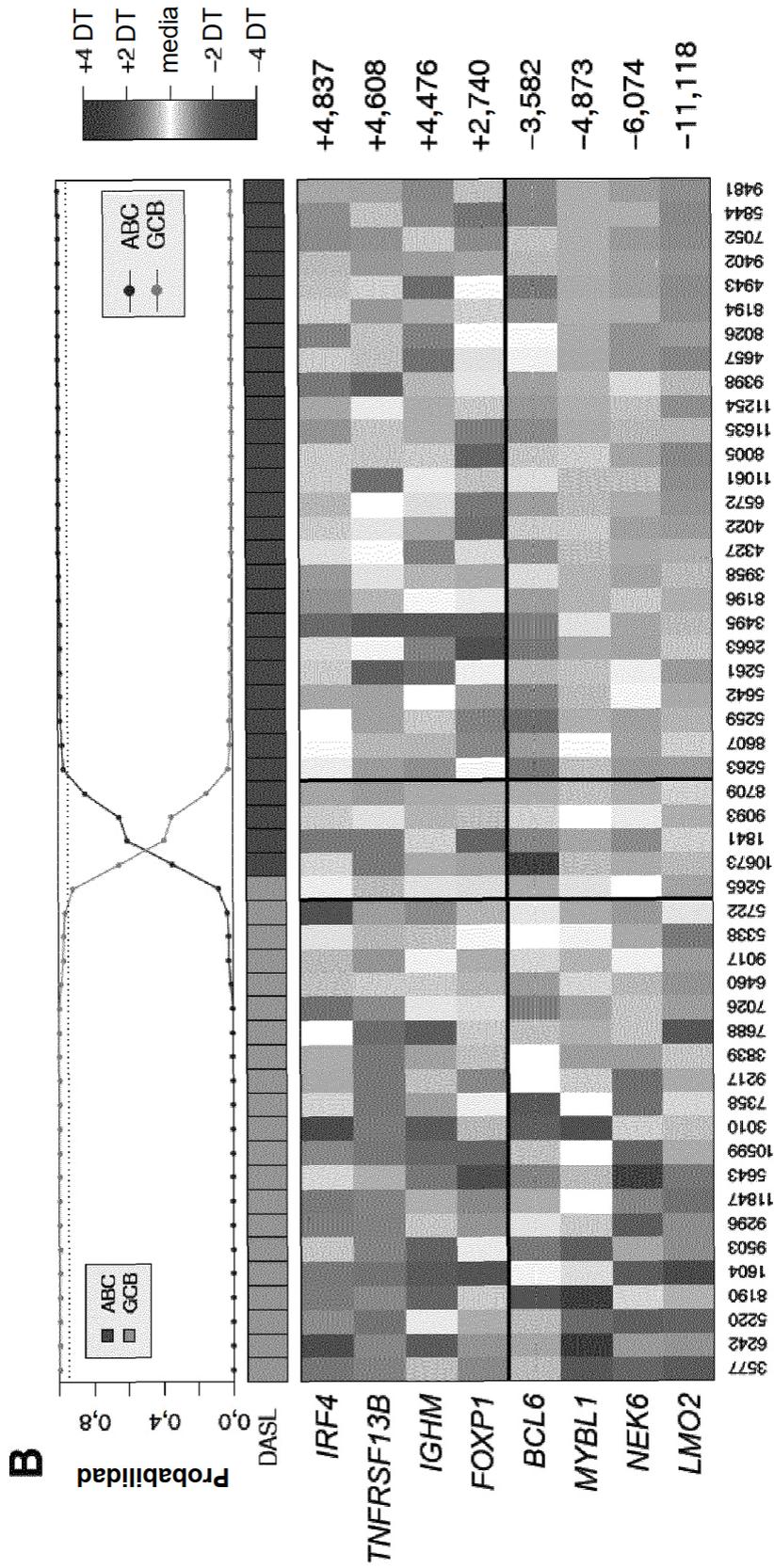


Figura 3B

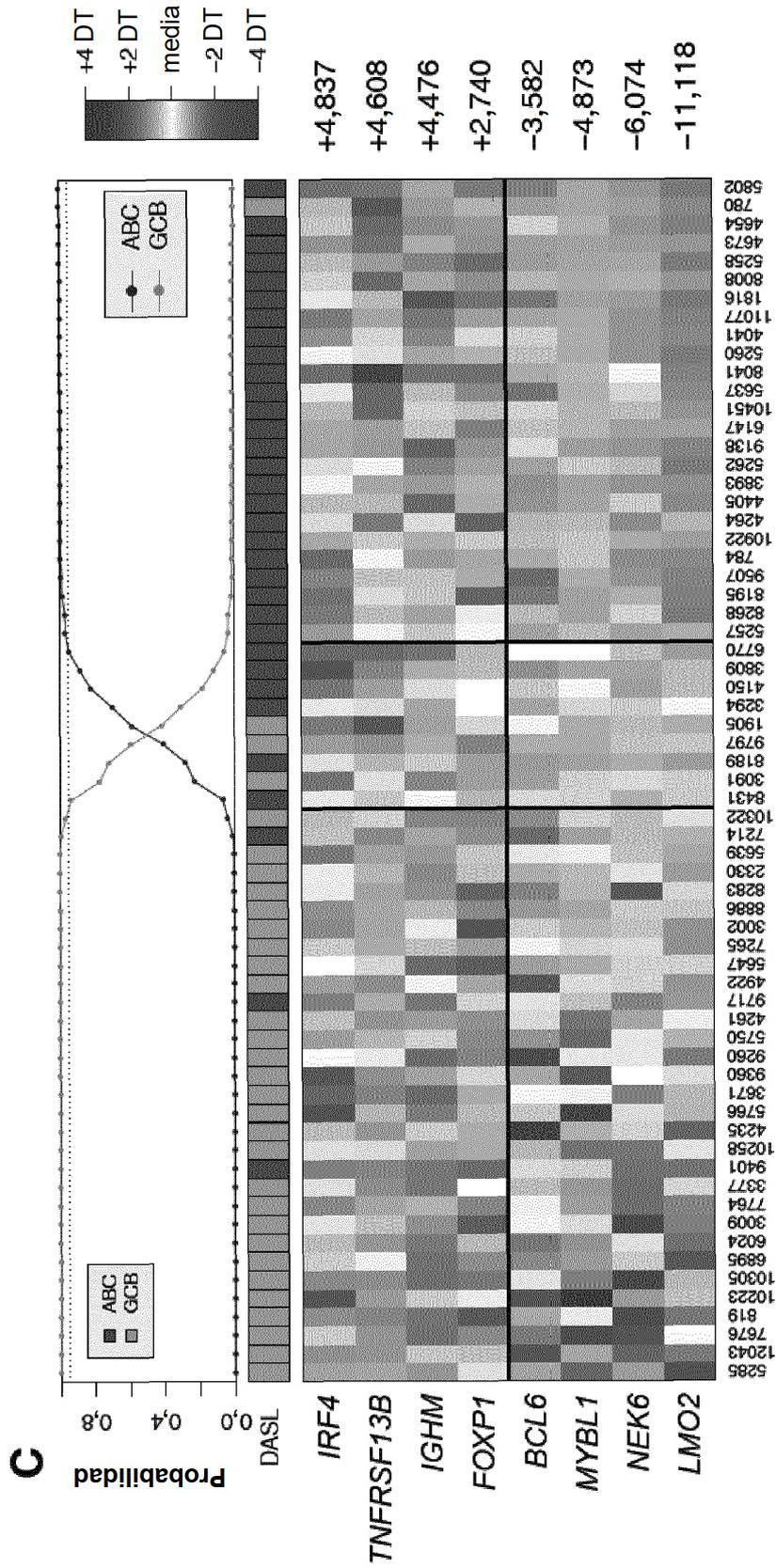


Figura 3C

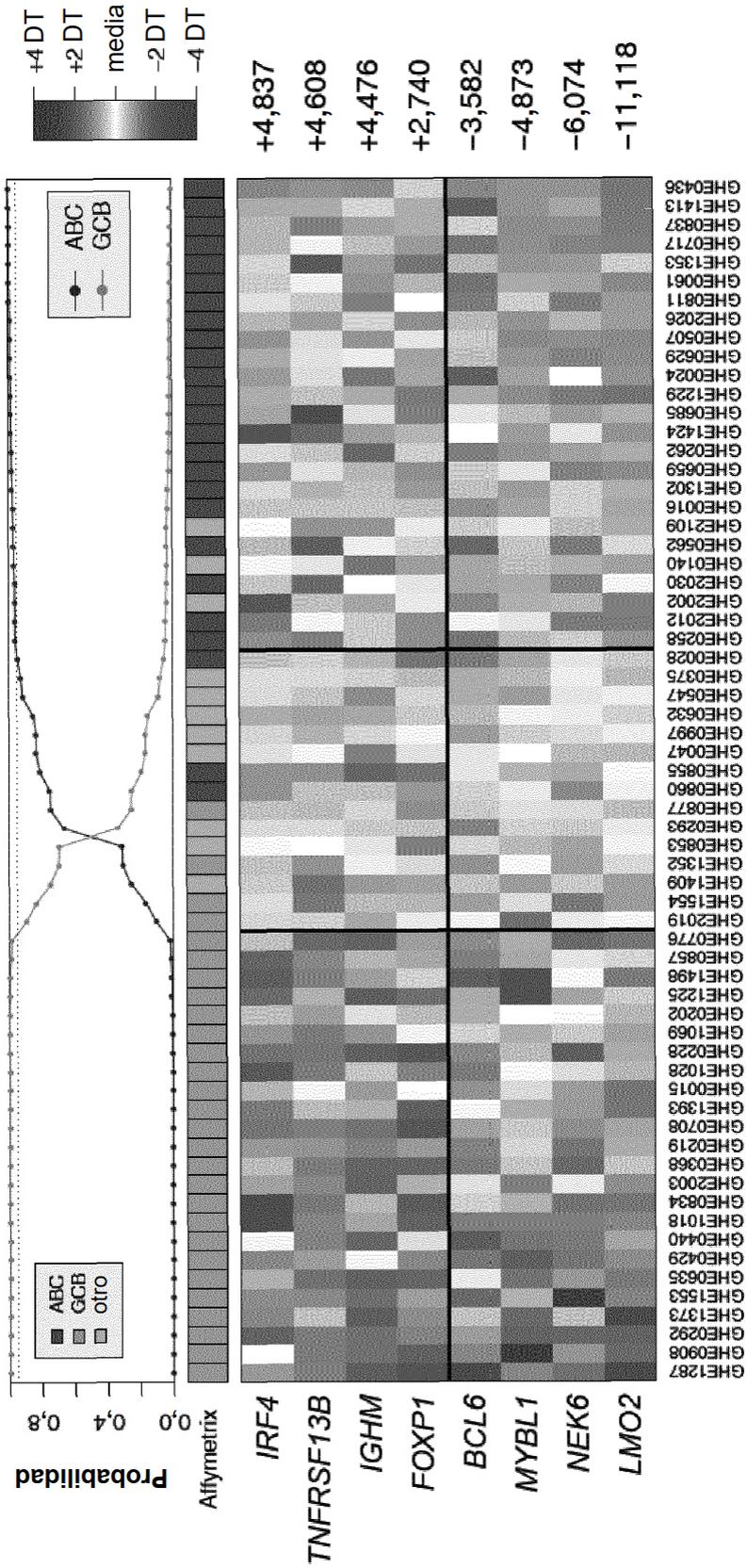


Figura 4

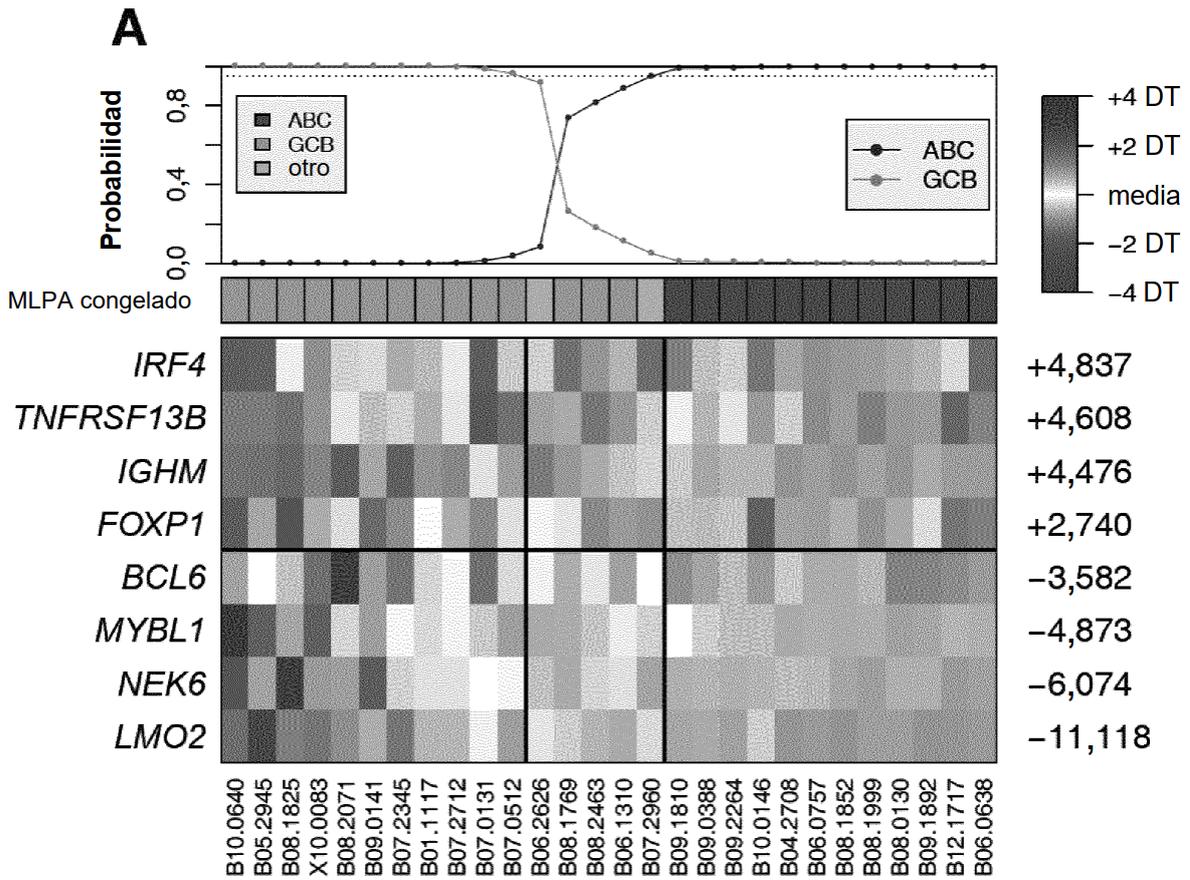


Figura 5A

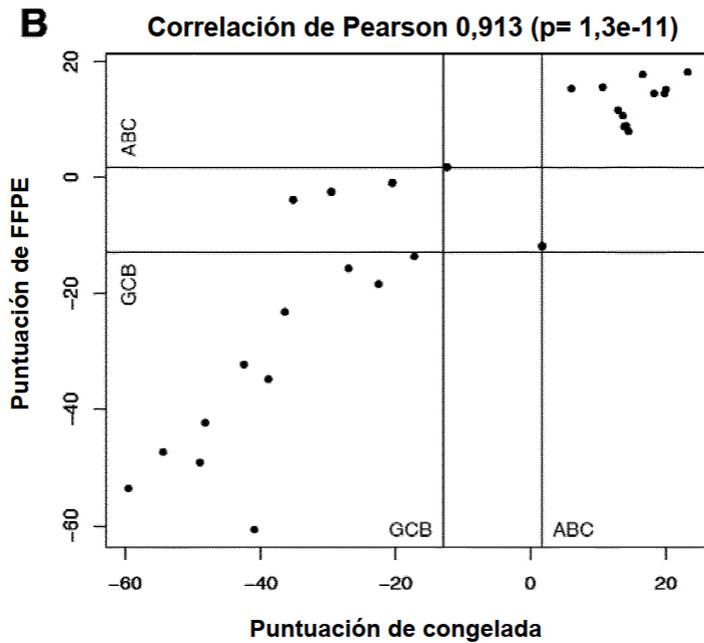


Figura 5B

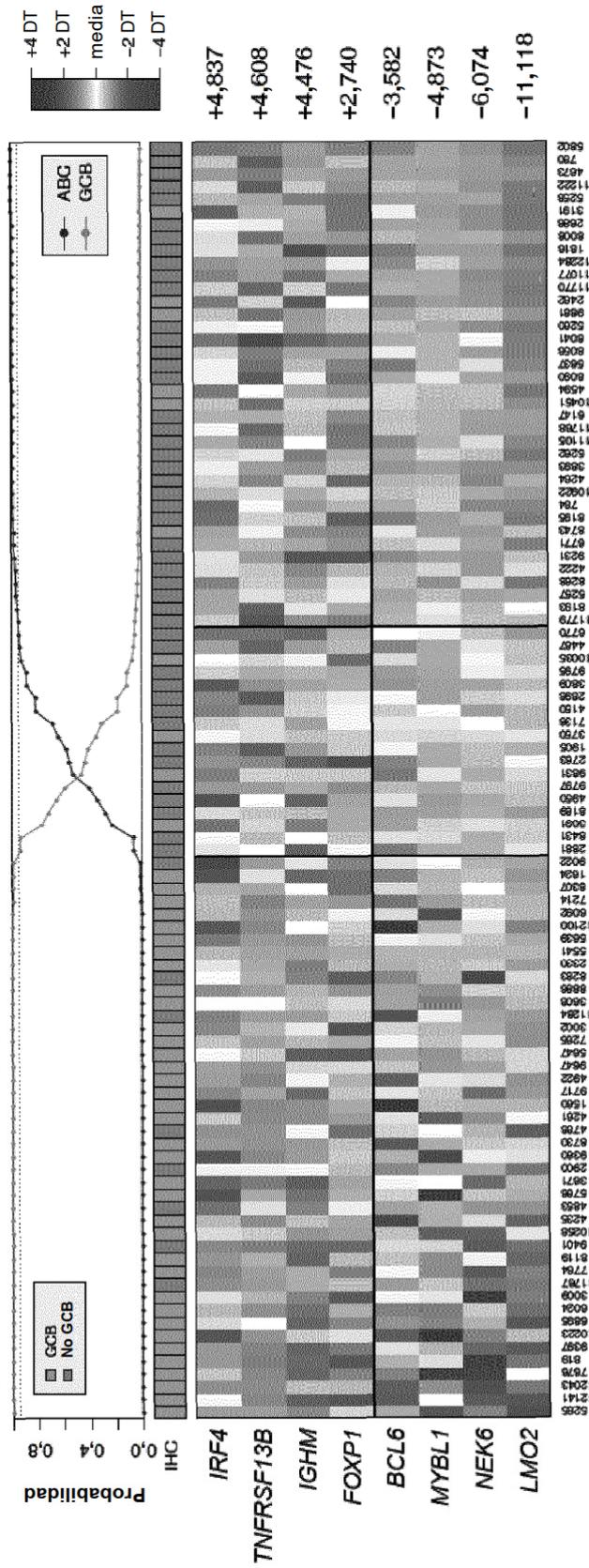


Figura 6

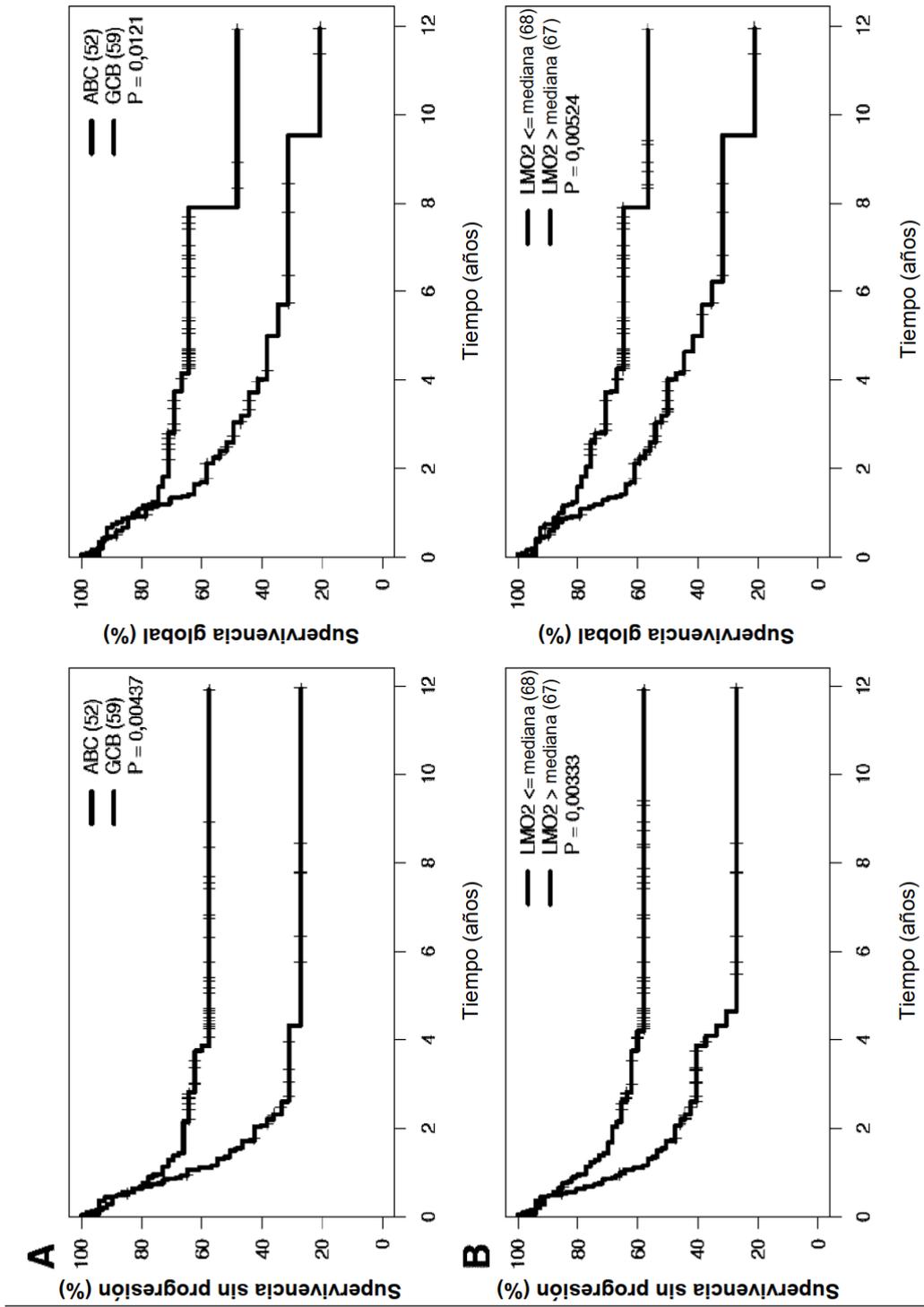
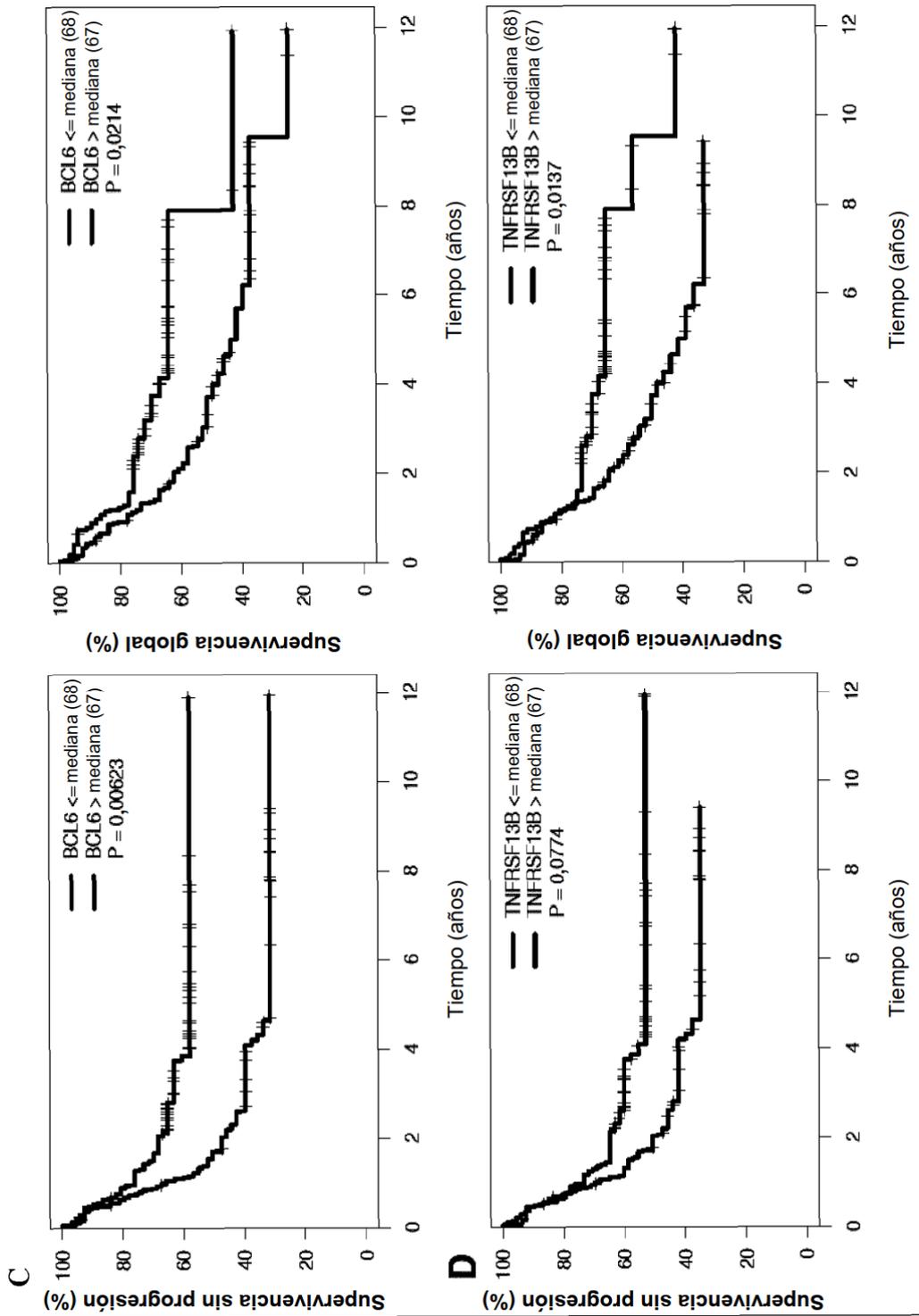


Figura 7A y 7B



Figuras 7c y 7D

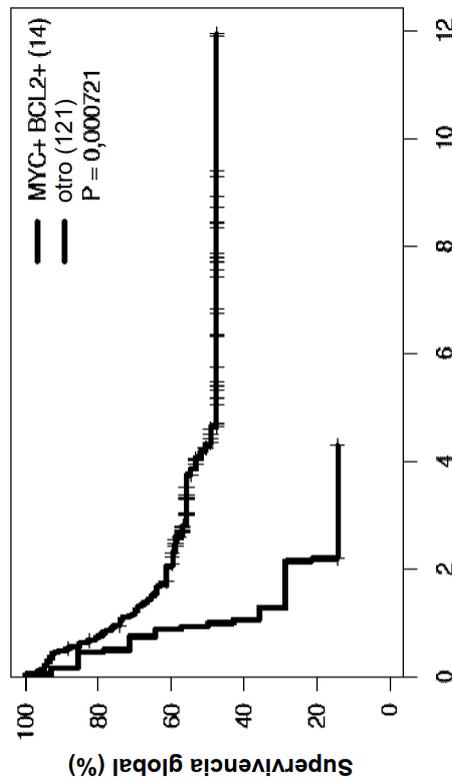
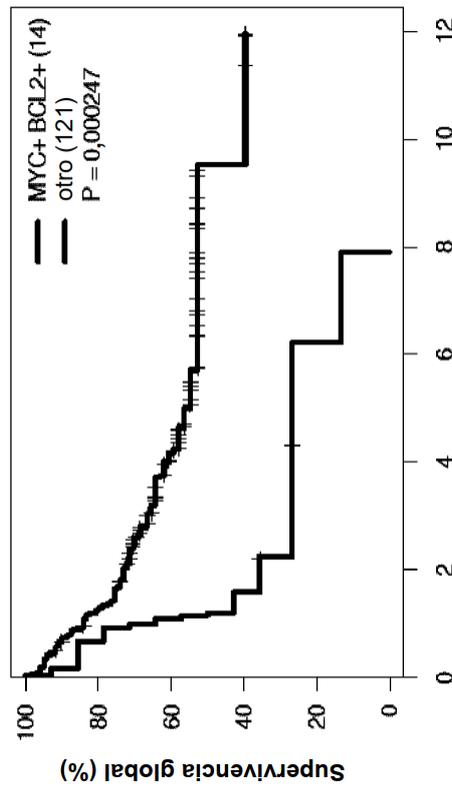


Figura 7E

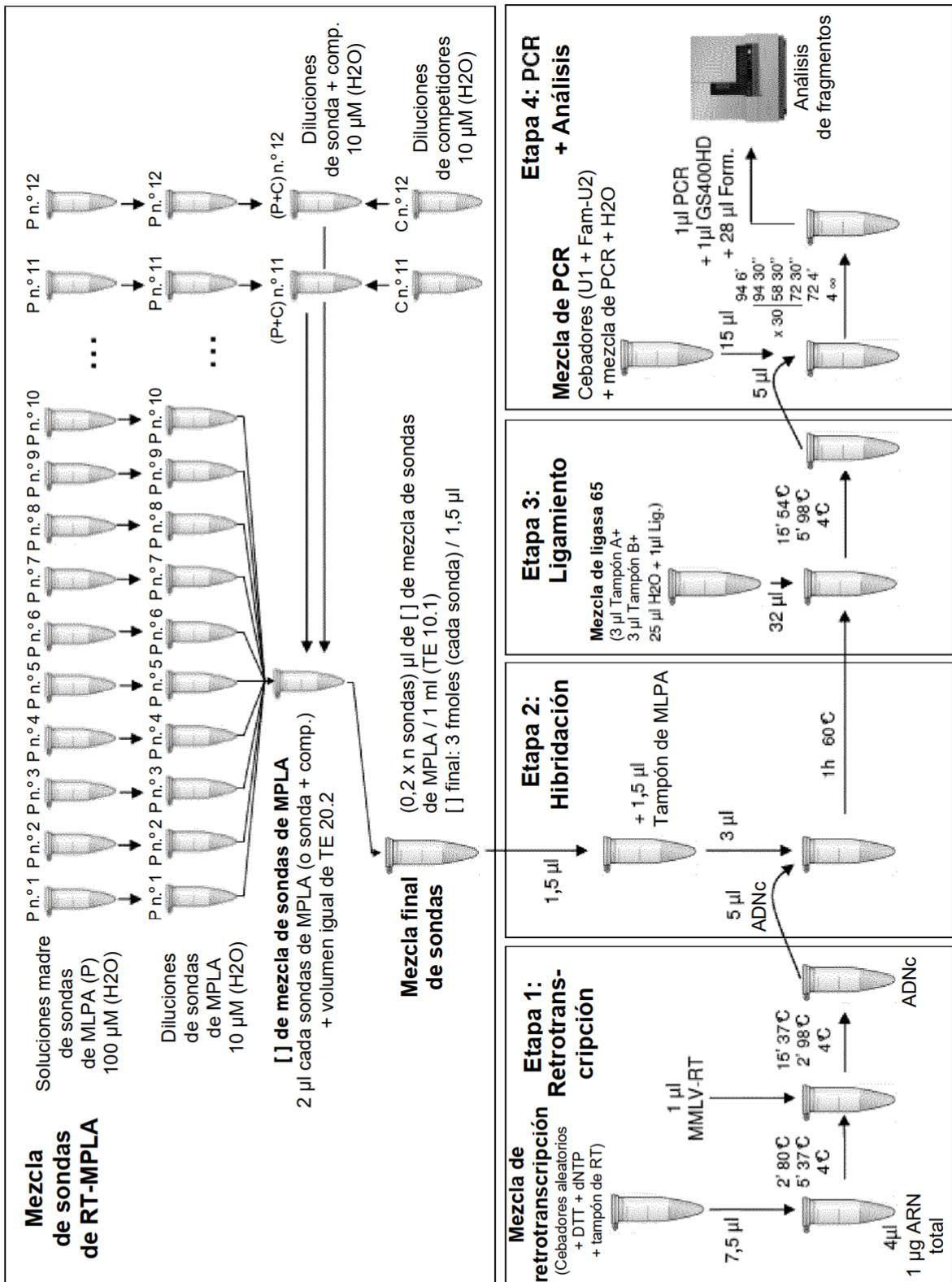


Figura S1

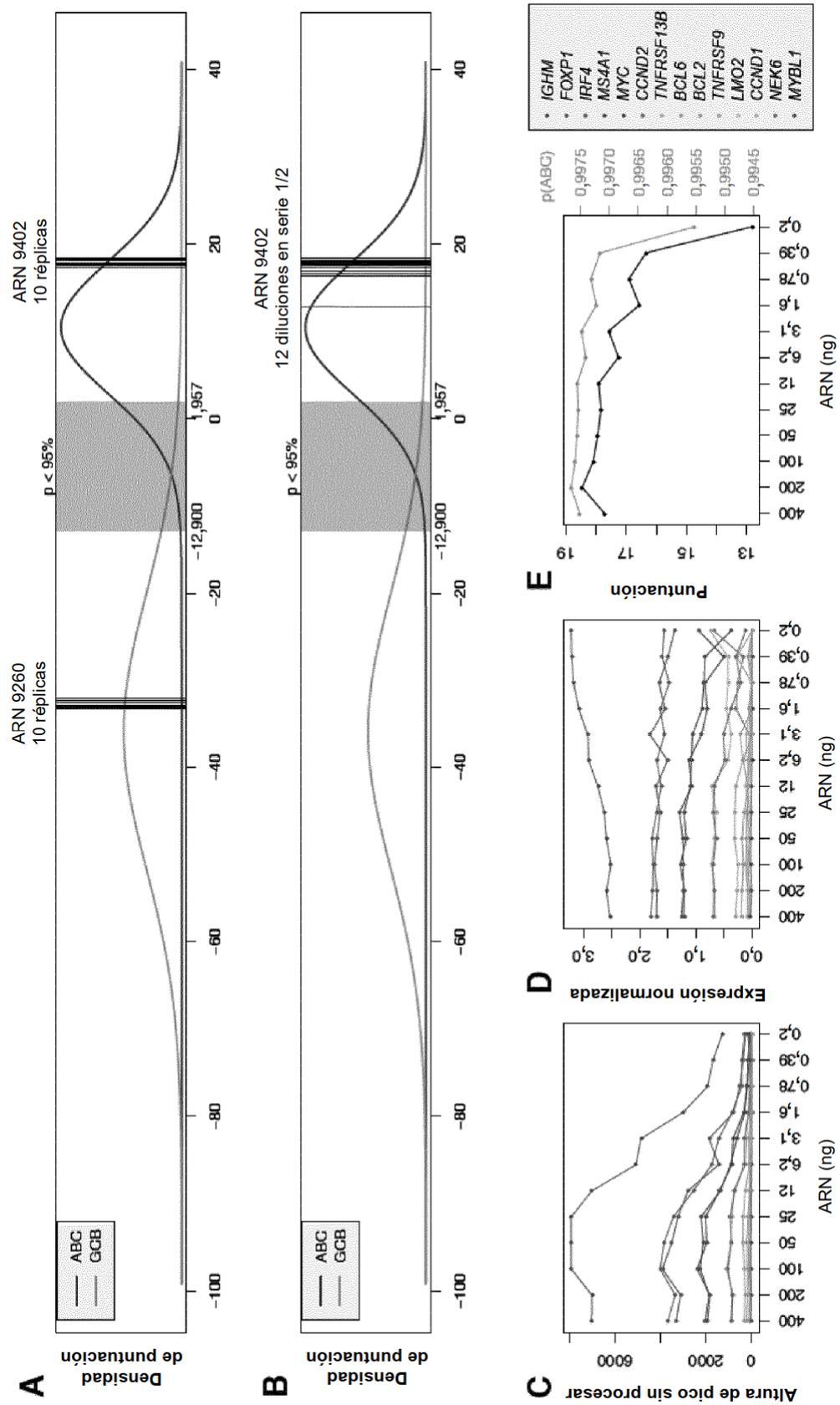


Figura S2