(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad Intelectual
Oficina internacional

(43) Fecha de publicación internacional
1 de septiembre de 2016 (01.09.2016)

WIPO | PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2016/135363 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
C12Q 1/68 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2016/070115

(22) Fecha de presentación internacional:
23 de febrero de 2016 (23.02.2016)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P201530221
23 de febrero de 2015 (23.02.2015) ES
P201530222
23 de febrero de 2015 (23.02.2015) ES

(71) Solicitantes: **SERVICIO ANDALUZ DE SALUD** [ES/ES]; Avda. de la Constitución 18, 41071 Sevilla (ES). **UNIVERSIDAD DE GRANADA** [ES/ES]; OTRI-Universidad de Granada, Complejo Adminsitrativo Triunfo, pabellón 1, Cuesta del Hospicio s/n, 18071 Granada (ES). **CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN RED (CIBER)** [ES/ES]; Monforte de Lemos, 5, Pabellón 11, 28029 Madrid (ES).

(72) Inventores: **RUIZ EXTREMERA, Ángeles**; Complejo Adminsitrativo Triunfo, pabellón 1, Cuesta del Hospicio s/n, 18071 Granada (ES). **PAVÓN CASTILLERO, Esther José**; Avda de la Constitución18, 41071 Sevilla (ES). **SALMERÓN ESCOBAR, Javier**; Complejo Adminsitrativo Triunfo, pabellón 1, Cuesta del Hospicio s/n, 18071 Granada (ES). **MUÑOZ DE RUEDA, Paloma**; Avda de la Constitución18, 41071 Sevilla (ES). **MUÑOZ GÁMEZ, José Antonio**; Avda de la Constitución18, 41071 Sevilla (ES). **CASADO RUIZ, Jorge**; Avda de la Constitución18, 41071 Sevilla (ES). **CARAZO GALLEGO, Ángeles**; Avda de la Constitución18, 41071 Sevilla (ES). **QUILES PÉREZ, Rosa**; Monforte de Lemos, 5, Pabellón 11, 28029 Madrid (ES). **GILA MEDINA, Ana**; Avda de la Constitución18, 41071 Sevilla (ES). **LEÓN LÓPEZ, Josefa**; Avda. de la Constitución18, 41071 Sevilla (ES). **MARTÍN ÁLVAREZ, Ana B.**; Avenida de la Constitución18, 41071 Sevilla (ES). **JIMÉNEZ RUIZ, Sergio**; Complejo Administrativo Triunfo, pabellón 1, Cuesta del Hospicio s/n, 18071 Granada (ES).

(74) Mandatario: **FUSTER, Gustavo**; Paseo de la Habana 9-11, 28036 Madrid (ES).

(81) Estados designados *(a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados *(a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

— *con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))*

(54) **Title**: METHOD FOR OBTAINING DATA FOR PREDICTING OR FORECASTING THE VERTICAL TRANSMISSION, CHRONIFICATION AND/OR CLEARANCE OF THE HEPATITIS C VIRUS

(54) **Título** : MÉTODO DE OBTENCIÓN DE DATOS ÚTILES PARA PREDECIR O PRONOSTICAR LA TRANSMISIÓN VERTICAL, LA CRONIFICACIÓN Y/O EL ACLARAMIENTO DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C

(57) **Abstract**: The invention relates to an *in vitro* method for obtaining data for predicting or forecasting the vertical transmission of the hepatitis C virus (HCV) and/or chronification and/or clearance in the descendent by means of the analysis of the presence of HLA-C1, HLA-C2, HLA-DQAO1, HLA-Bw4, HLA-Bw6, HLA-DQ *03, KIR2DS3 KIR2DS1, KIR3DS1, KIR3DL1 KIR2DL2, KIR2DL3 and KIR2DL1 in the mother or the child, or the allelic homogeneity of the genes HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB 1, HLA- DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1 and HLA-DPB 1 of the mother and child.

(57) **Resumen**: La presente invención, se refiere a un método in vitro de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la transmisión vertical del virus de la hepatitis C (VHC) y/o cronificacion y/o aclaramiento en el descendiente mediante el análisis de la presencia de HLA-C1, HLA-C2, HLA-DQAO1, HLA-Bw4, HLA-Bw6, HLA-DQ *03, KIR2DS3 KIR2DS1, KIR3DS1, KIR3DL1 KIR2DL2, KIR2DL3 y KIR2DL1 en la madre o el hijo, o la concordancia alélica de los genes HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB 1, HLA- DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1 y HLA-DPB 1 entre ambos.

WO 2016/135363 A1

MÉTODO DE OBTENCIÓN DE DATOS ÚTILES PARA PREDECIR O PRONOSTICAR LA TRANSMISIÓN VERTICAL, LA CRONIFICACIÓN Y/O EL ACLARAMIENTO DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se encuentra dentro del campo de la Biología Molecular y la Medicina Clínica. Específicamente, se refiere a un método *in vitro* de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la transmisión vertical del virus de la hepatitis C (VHC) y/o su herencia y/o su cronificación y/o aclaramiento en el descendiente.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Se calculan 170 millones de personas infectadas por el virus de la hepatitis C (VHC) en todo el mundo. En Estados Unidos y Europa, la prevalencia está entre 1-2%, pero puede ser del 8% en algunos países en vías de desarrollo [Arshad *et al.,* 2011. *J. Viral. Hepat.* 18: 229 -236, Zahran *et al.,* 2010. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 111:171 -174] y entre un 0,05%-5% en los niños [Schwimmer *et al.,* 2000. *Semin. Liver Dis.* 20:37-46]. En España, su prevalencia en gestantes es del 0,5% al 1,4% [Ruiz Extremera A, *et al.*, 2005. *Am J Obstet Gynecol.* 193 (6):2010-6, Muñoz-Almagro C, *et al.,* 2002. *Med Clin (Barc)* 118(12):452-4], semejante a la de la población general.

En la transmisión vertical (TV) del VIH, VHB y del VHC el momento de mayor riesgo de transmisión es el parto y se acepta que las madres sin viremia no transmiten la infección.

Aunque la tasa de TV del VHC es baja, 1-8% en madres no coinfectadas y en torno a 20% en las coinfectadas (VIH), hay que tener en cuenta que el 90% de los niños infectados han adquirido el virus por transmisión vertical. También se conoce que en los primeros meses de vida los niños pueden aclarar espontáneamente el virus. Por otro lado, de los que persisten con viremias intermitentes, un 53% quedarán crónicamente infectados [Ruiz-Extremera A, et al., 2011; 53(6):1830-8]. A pesar de los numerosos estudios publicados, los únicos factores que tienen evidencia científica, relacionados con un mayor riesgo de TV son la alta carga viral en la madre y la coinfección con el VIH.

Los resultados del grupo europeo para el estudio de la TV del VHC [Pembrey L *et al.,* 2005. *J Hepatol* 43:515-25] son parecidos y no han conseguido implicar a otros factores como el tipo de parto, horas de bolsa rota, drogadicción materna, procedimientos obstétricos y lactancia materna. No obstante, a medida que aumenta el conocimiento sobre el VHC y la importancia de los factores inmunogenéticos del hospedador, es posible profundizar en los factores que

influyen en que unos niños se infecten y otros no, ante iguales condiciones de carga viral materna o intervenciones obstétricas.

Aunque la prevención farmacológica de la TV del VHC no era posible con el tratamiento convencional de interferón pegilado alfa y la ribavirina porque están contraindicados en el embarazo y durante el período neonatal, la situación ha cambiado con el desarrollo de agentes antivirales de acción directa, que han mostrado su elevada eficacia en bajar y negativizar la carga viral del VHC de forma relativamente rápida y sin necesidad de añadir interferón pegilado y ribavirina, de otro lado, por la experiencia en el tratamiento de adultos con estos fármacos se sabe que cuentan con muy pocos efectos adversos y parecen bastante seguros. La profilaxis de dicha transmisión va a ser posible, como ha sucedido con la TV del VIH, al aplicar los antivirales en la última etapa de la gestación e incluso con la administración al recién nacido.

Se necesitarán ensayos clínicos y posiblemente pruebas diagnósticas para conocer que niños tienen mayor riesgo de infectarse por el VHC y/o cronificar la infección ya que el coste de estos fármacos es muy elevado y la tasa de transmisión baja.

OBJETO DE LA INVENCIÓN

El objeto de la invención está relacionado con el estudio de los genes implicados en la respuesta inmunológica frente al VHC: las moléculas HLA clase I, clase II y los receptores tipo inmunoglobinas de las células NK (KIRs), que pueden ayudar a aclarar algunos de estos mecanismos.

Estos nuevos marcadores genéticos permiten conocer que madre gestante con VHC tiene mayor probabilidad de transmitir el virus a su hijo, así como la probabilidad de que puede tener su hijo de cronificar el virus si se infecta, basándonos en el análisis de los distintos genotipos de la madre y/o hijo.

Empleando estos marcadores, las madres con mayor riesgo de transmisión podrían ser tratadas con antivirales directos para impedir la transmisión a su hijo en el parto, como por ejemplo ocurre en la transmisión vertical del VIH.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

El **primer aspecto** de la invención se refiere a un método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que una madre portadora del virus de la hepatitis C (ARN-VHC (+)) transmita verticalmente el virus a su descendencia, o de que un individuo cuya madre

es portadora del virus de la hepatitis C, herede y/o cronifique y/o aclare, en caso de que sea contagiado, el virus de la hepatitis C, que comprende

a) obtener una muestra biológica aislada de la madre, y

b) determinar el genotipo de los genes HLA y KIR en la muestra aislada del paso (a).

Transmisión Vertical

En cuanto a la transmisión vertical del VHC de una madre portadora a sus descendientes, la invención se centra en los siguientes aspectos:

Un **segundo aspecto** de la invención se refiere a un método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que una madre ARN-VHC (+) transmita verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia, de ahora en adelante primer método de la invención, que comprende:

a) obtener una muestra biológica aislada de la madre gestante, y

b) determinar el genotipo de los genes *HLA-C y KIR* en la muestra aislada del paso (a).

En una realización preferida de este aspecto de la invención, en el paso (b) se determina el genotipo de los genes *KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1,* y *KIR2DS4*

Un **tercer aspecto** de la invención se refiere a un método para predecir o pronosticar la transmisión vertical del virus de la hepatitis C a la descendencia, de ahora en adelante segundo método de la invención, que comprende los pasos (a) y (b) del primer método de la invención y además comprende uno o más de los siguientes pasos, preferiblemente todos ellos y más preferiblemente todos ellos de forma secuencial:

c1) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad al menos 5 veces mayor, y preferiblemente 6 veces mayor, de transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C2, en comparación con una madre que no lo presente.

c2) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad al menos 3 veces mayor, y preferiblemente 3,9 veces mayor, de transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C2 en homocigosis (HLA-C2C2), en comparación con una madre que presente otro genotipo.

c3) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad de al menos 9 veces mayor, y preferiblemente 10,7 veces mayor, de transmitir verticalmente

el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C2 en homocigosis (HLA-C2C2) en combinación con el genotipo KIR2DL2 y KIR2DL3, en comparación con una madre que no presente dichos genotipos.

c4) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad al menos 5 veces mayor, y preferiblemente 6 veces mayor, de transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C2 en combinación con KIR2DL1, o el genotipo HLA-C2 en combinación con KIR2DS4, en comparación con una madre que no lo presente;

c5) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad al menos 4 veces mayor, y preferiblemente 5 veces mayor, de no transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C1 o HLA-C1 en homocigosis (HLA-C1C1), en comparación con una madre que no lo presente.

c6) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad al menos 2 veces mayor, y preferiblemente 2,5 veces mayor, de no transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C1 en combinación con KIR2DL3, en comparación con una madre que no lo presente;

c7) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad al menos 3 veces mayor, y preferiblemente 3,3 veces mayor, de no transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C1 en combinación con KIR2DS4, en comparación con una madre que no lo presente.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la muestra biológica aislada de la madre gestante del paso (a) es una muestra de sangre.

Un **cuarto aspecto** de la invención se refiere a un kit o dispositivo, de ahora en adelante primer kit o dispositivo de la invención, que comprende los elementos necesarios para detectar los genotipos *HLA-C, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1* y/o *KIR2DS4.*

En una realización preferida, el kit o dispositivo de la invención comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-C, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1* y/o *KIR2DS4*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la

SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 3 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 5 (KIR2DL3), SEQ ID NO: 7 (KIR2DL1), SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 y/o SEQ ID NO: 13 (KIR2DS4);

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 3 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 5 (KIR2DL3), SEQ ID NO: 7 (KIR2DL1), SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 y/o SEQ ID NO: 13 (KIR2DS4).

- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 2 (HLA-C), SEQ ID NO: 4 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 6 (KIR2DL3), SEQ ID NO: 8 (KIR2DL1), SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12 y/o SEQ ID NO: 14 (KIR2DS4).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, los cebadores, sondas o anticuerpos están modificados o marcados, por ejemplo, pero sin limitarnos, mediante un marcaje radiactivo o inmunológico.

Un **quinto aspecto** de la invención se refiere al uso del primer kit o dispositivo de la invención para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la transmisión vertical del virus de la hepatitis C.

Un **sexto aspecto** de la invención se refiere a un método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de infección mediante transmisión vertical del virus de la hepatitis C de un individuo con una madre ARN-VHC (+), de ahora en adelante tercer método de la invención, que comprende:

a) obtener una muestra biológica aislada del individuo, y

b) detectar el genotipo de los genes *HLA-C y KIR* en la muestra aislada del paso (a).

En una realización preferida de este aspecto de la invención, en el paso (b) se determina el genotipo de los genes *KIR2DL2, KIR2DL3,* y *KIR2DS3*

Un **séptimo aspecto** de la invención se refiere a un método para predecir o pronosticar el riesgo de infección mediante transmisión vertical del virus de la hepatitis C de un individuo con una madre ARN-VHC (+), de ahora en adelante cuarto método de la invención, que comprende los pasos (a) y (b) según el tercer método de la invención, y además comprende uno o más de

los siguientes pasos, preferiblemente todos ellos y más preferiblemente todos ellos de forma secuencial:

c1) clasificar al individuo del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 3 veces mayor, y preferiblemente 3,3 veces mayor, de ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C si presenta el genotipo HLA-C2 en homocigosis (HLA-C2C2) en comparación con un individuo que no lo presente

c2) clasificar al individuo del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 4 veces mayor, preferiblemente 4,2 veces mayor, de ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C si presenta el genotipo HLA-C2 en homocigosis (HLA-C2C2) en combinación con la homocigosis de KIR2DL2 (KIR2DL2/2DL2), en comparación con un individuo que no lo presente.

c3) clasificar al individuo del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 13 veces mayor, y preferiblemente 14 veces mayor, de ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C si presenta el genotipo HLA-C2 en homocigosis (HLA-C2C2) en combinación con la homocigosis de KIR2DL3 (KIR2DL3/2DL3), en comparación con un individuo que no lo presente.

c4) clasificar al individuo del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 13 veces mayor, y preferiblemente 14,3 veces mayor, de no ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C si presenta el genotipo KIR2DS3, en comparación con un individuo que no lo presente.

c5) clasificar al individuo del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 3 veces mayor, y preferiblemente 3,3 veces mayor, de no ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C si presenta el genotipo HLA-C1, en comparación con un individuo que no lo presente.

c6) clasificar al individuo del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 4 veces mayor, y preferiblemente 5 veces mayor de no ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C si presenta el genotipo HLA-C1 en combinación con KIR2DL3, en comparación con un individuo que no lo presente.

En otra realización preferida de este aspecto, la muestra biológica aislada del individuo del paso (a) es una muestra de sangre.

Un **octavo aspecto** de la invención se refiere a un kit o dispositivo, de ahora en adelante segundo kit o dispositivo de la invención, que comprende los elementos necesarios para detectar el genotipo *HLA-C y, KIR2DL2, KIR2DL3, y/o KIR2DS3.*

Preferiblemente comprende los elementos necesarios para determinar el genotipo *HLA-C* y todos los genes KIR.

En una realización preferida de este aspecto el segundo kit o dispositivo de la invención comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-C, KIR2DL2, KIR2DL3,* y/o *KIR2DS3*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 3 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 5 (KIR2DL3), y/o SEQ ID NO: 15 (KIR2DS3);

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 3 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 5 (KIR2DL3), SEQ ID NO: 7 (KIR2DL1), SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 y/o SEQ ID NO: 13 (KIR2DS4).

- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 2 (HLA-C), SEQ ID NO: 4 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 6 (KIR2DL3), y/o SEQ ID NO: 16 (KIR2DS3).

En otra realización preferida de este aspecto los cebadores, sondas o anticuerpos están modificados o marcados, por ejemplo, pero sin limitarnos, mediante un marcaje radiactivo o inmunológico.

Un **noveno aspecto** de la invención se refiere al uso del primer o segundo kit o dispositivo de la invención para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la transmisión vertical del virus de la hepatitis C.

Cronificación y Aclaramiento del VHC

Un **décimo aspecto** de la invención se refiere a un método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) cronifique la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, de ahora en adelante quinto método de la invención, que comprende:

a) obtener una muestra biológica aislada de una madre gestante, y

b) determinar el genotipo de los genes *HLA-DQA1*, *HLA-B* y *KIR* en la muestra aislada del paso (a).

En una realización preferida de este aspecto de la invención, en el paso (b) se determina el genotipo de los genes *KIR2DS1*, *KIR3DS1* y *KIR3DL1*.

Un **undécimo aspecto** de la invención se refiere a un método para predecir o pronosticar la cronificación de la hepatitis C en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, de ahora en adelante sexto método de la invención, que comprende los pasos (a) y (b) según el quinto método de la invención, y además y además comprende uno o más de los siguientes pasos, preferiblemente todos ellos y más preferiblemente todos ellos de forma secuencial:

c1) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo HLADQA-01, en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 1,5 veces mayor, y preferiblemente 2 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

c2) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo KIR2DS1, en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 6 veces mayor, y preferiblemente 7 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

c3) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo KIR3DS1, en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 12 veces mayor, y preferiblemente 13 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

c4) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo KIR3DL1 en combinación con KIR3DS1, en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 12 veces mayor, y preferiblemente 13 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

c5) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo HLA-Bw6, en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 14 veces

mayor, y preferiblemente 15,6 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la muestra biológica aislada de la madre gestante del paso (a) es una muestra de sangre.

Un **duodécimo aspecto** de la invención se refiere a un kit o dispositivo, de ahora en adelante tercer kit o dispositivo de la invención, que comprende los elementos necesarios para detectar los genotipos *HLA-DQA1*, *HLA-B, KIR2DS1*, *KIR3DS1* y/o *KIR3DL1*.

En una realización preferida, el tercer kit o dispositivo de la invención comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-DQA1*, *HLA-B, KIR2DS1*, *KIR3DS1* y/o *KIR3DL1*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 17 (HLA-DQA01), SEQ ID NO: 19 (KIR2DS1), SEQ ID NO: 21 (KIR3DS1), SEQ ID NO: 23 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 25 (HLA-B).

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 17 (HLA-DQA01), SEQ ID NO: 19 (KIR2DS1), SEQ ID NO: 21 (KIR3DS1), SEQ ID NO: 23 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 25 (HLA-B).

- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 18 (HLA-DQA01), SEQ ID NO: 20 (KIR2DS1), SEQ ID NO: 22 (KIR3DS1), SEQ ID NO: 24 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 26 (HLA-B).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, los cebadores, sondas o anticuerpos están modificados o marcados, por ejemplo, pero sin limitarnos, mediante un marcaje radiactivo o inmunológico.

Un **decimotercer aspecto** de la invención se refiere al uso del tercer kit o dispositivo de la invención para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que un

individuo con una madre ARN-VHC (+) cronifique la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical.

Un **decimocuarto aspecto** de la invención se refiere a un método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la probabilidad de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) aclare el VHC en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, de ahora en adelante séptimo método de la invención, que comprende:

a) obtener una muestra biológica aislada de una madre gestante, y

b) determinar el genotipo de los genes *HLA-B y KIR* en la muestra aislada del paso (a).

En una realización preferida de este aspecto de la invención, en el paso (b) se determina el genotipo del gen *KIR3DL1*.

Un **decimoquinto aspecto** de la invención se refiere a un método para predecir o pronosticar el aclaramiento del VHC en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, de ahora en adelante octavo método de la invención, que comprende los pasos (a) y (b) según el séptimo método de la invención, y además comprende uno o más de los siguientes pasos, preferiblemente todos ellos y más preferiblemente todos ellos de forma secuencial:

c1) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo KIR3DL1 en homocigosis, en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 12 veces mayor, y preferiblemente 12,5 veces mayor de aclarar el virus de la hepatitis C, comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

c2) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo HLA-Bw4 en homocigosis (HLA-Bw4-Bw4), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 16 veces mayor, y preferiblemente 16,7 veces mayor de aclarar el virus de la hepatitis C, comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la muestra biológica aislada de la madre gestante del paso (a) es una muestra de sangre.

Un **decimosexto aspecto** de la invención se refiere a un kit o dispositivo, de ahora en adelante cuarto kit o dispositivo de la invención, que comprende los elementos necesarios para detectar los genotipos *HLA-B* y/o *KIR3DL1*.

En una realización preferida, el cuarto kit o dispositivo de la invención comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-B* y/o *KIR3DL1*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 23 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 25 (HLA-B).

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 23 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 25 (HLA-B).

- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 24 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 26 (HLA-B).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, los cebadores, sondas o anticuerpos están modificados o marcados, por ejemplo, pero sin limitarnos, mediante un marcaje radiactivo o inmunológico.

Un **decimoséptimo aspecto** de la invención se refiere al uso del cuarto kit o dispositivo de la invención para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la probabilidad de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) aclare el VHC en el caso que sea contagiado por transmisión vertical.

Un **decimoctavo aspecto** de la invención se refiere a un método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la probabilidad de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) aclare el VHC en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, de ahora en adelante noveno método de la invención, que comprende:

a) obtener una muestra biológica aislada de un individuo, y

b) determinar el genotipo de los genes *HLA-DQ y KIR* en la muestra aislada del paso (a).

En una realización preferida de este aspecto de la invención, en el paso (b) se determina el genotipo de los genes *KIR2DS3*.

Un **decimonoveno aspecto** de la invención se refiere a un método para predecir o pronosticar el aclaramiento del VHC en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea

contagiado por transmisión vertical, de ahora en adelante décimo método de la invención, que comprende los pasos (a) y (b) según el noveno método de la invención, y y además comprende uno o más de los siguientes pasos, preferiblemente todos ellos y más preferiblemente todos ellos de forma secuencial

c1) clasificar al individuo del paso (a) si presenta el genotipo HLA-DQ*03, en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 18 veces mayor, y preferiblemente 20 veces mayor de aclarar el virus de la hepatitis C, comparación con un individuo que no lo presente.

c2) clasificar al individuo del paso (a), si presenta el genotipo *KIR2DS3*, en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 1,5 veces mayor, y preferiblemente 2 veces mayor de aclarar el virus de la hepatitis C, comparación con un individuo que no lo presente.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la muestra biológica aislada de la madre gestante del paso (a) es una muestra de sangre.

Un **vigésimo aspecto** de la invención se refiere a un kit o dispositivo, de ahora en adelante quinto kit o dispositivo de la invención, que comprende los elementos necesarios para detectar los genotipos *HLA-DQ* y/o *KIR2DS3*.

En una realización preferida, el quinto kit o dispositivo de la invención comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-DQ* y/o *KIR2DS3*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 27 (HLA-DQ) y/o SEQ ID NO: 15 (KIR2DS3).

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 27 (HLA-DQ) y/o SEQ ID NO: 15 (KIR2DS3).

- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 28 (HLA-DQ) y/o SEQ ID NO: 16 (KIR2DS3).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, los cebadores, sondas o anticuerpos están modificados o marcados, por ejemplo, pero sin limitarnos, mediante un marcaje radiactivo o inmunológico.

Un **vigesimoprimer aspecto** de la invención se refiere al uso del quinto kit o dispositivo de la invención para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la probabilidad de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) aclare el VHC en el caso que sea contagiado por transmisión vertical.

Un **vigesimosegundo aspecto** de la invención se refiere a un método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) cronifique la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, de ahora en adelante undécimo método de la invención, que comprende:

a) obtener una muestra biológica aislada de un individuo y otra muestra biológica aislada de su madre gestante, y

b) determinar el genotipo de los genes *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y *HLA-DPB1* en las muestras aisladas del paso (a).

Un **vigesimotercer aspecto** de la invención se refiere a un método para predecir o pronosticar la cronificación de la hepatitis C en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, de ahora en adelante duodécimo método de la invención, que comprende los pasos (a) y (b) según el undécimo método de la invención, y además comprende uno o más de los siguientes pasos, preferiblemente todos ellos y más preferiblemente todos ellos de forma secuencial

c1) clasificar al individuo del paso (a), si presenta al menos un 60% de corcondancia alélica en los genes *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y *HLA-DPB1*, y preferiblemente al menos un 65,60% de concordancia alélica en dichos genes, con la madre gestante del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 2 veces mayor, y preferiblemente 3 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo que no presente concordancia alélica con su madre.

c2) clasificar al individuo del paso (a), si presenta al menos un 50% de corcondancia alélica en los genes *HLA-A*, *HLA-B* y *HLA-C,* y preferiblemente al menos un 58,40% de concordancia alélica en dichos genes, con la madre gestante del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 1,1 veces mayor, y preferiblemente 1.9 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo que no presente concordancia alélica con su madre.

c3) clasificar al individuo del paso (a), si presenta al menos un 70% de corcondancia alélica en los genes *HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y *HLA-DPB1*, y preferiblemente al menos un 75% de concordancia alélica en dichos genes, con la madre gestante del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 1,1 veces mayor, y preferiblemente 1,6 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo que no presente concordancia alélica con su madre.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la muestra biológica aislada del individuo del paso (a) es una muestra de sangre y la muestra biológica aislada de la madre gestante del paso (a) es una muestra de sangre.

Un **vigesimocuarto aspecto** de la invención se refiere a un kit o dispositivo, de ahora en adelante sexto kit o dispositivo de la invención, que comprende los elementos necesarios para detectar los genotipos *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y/o *HLA-DPB1*.

En una realización preferida, el sexto kit o dispositivo de la invención comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y/o *HLA-DPB1*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 31 (HLA-A), SEQ ID NO: 25 (HLA-B), SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 35 (HLA-DRB1), SEQ ID NO: 17 (HLA-DQA1), SEQ ID NO: 37 (HLA-DQB1), SEQ ID NO: 39 (HLA-DQB1), SEQ ID NO: 41 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 43 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 45 (HLA-DPA1) y/o SEQ ID NO: 47 (HLA-DPB1).

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 31 (HLA-A), SEQ ID NO: 25 (HLA-B), SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 35 (HLA-DRB1), SEQ ID NO: 17 (HLA-DQA1), SEQ ID NO: 37 (HLA-DQB1), SEQ ID NO: 39 (HLA-DQB1), SEQ ID NO: 41 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 43 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 45 (HLA-DPA1) y/o SEQ ID NO: 47 (HLA-DPB1).

- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 32 (HLA-A), SEQ ID NO: 26 (HLA-B), SEQ ID NO: 2 (HLA-C), SEQ ID NO: 36 (HLA-DRB1), SEQ ID NO: 18 (HLA-DQA1), SEQ ID NO: 38 (HLA-DQB1), SEQ ID NO: 40 (HLA-DQB1), SEQ ID NO: 42 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 44 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 46 (HLA-DPA1) y/o SEQ ID NO: 48 (HLA-DPB1).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, los cebadores, sondas o anticuerpos están modificados o marcados, por ejemplo, pero sin limitarnos, mediante un marcaje radiactivo o inmunológico.

Un **vigesimoquinto aspecto** de la invención se refiere al uso del sexto kit o dispositivo de la invención para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) cronifique la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical.

Implementación de los métodos de la invención

Una vez obtenida la muestra y determinados los genotipos correspondientes, los métodos o procedimientos para la obtención de datos útiles previamente descritos pueden ejecutarse mediante medios informáticos, por lo que la invención también comprende los siguientes aspectos:

Un **vigesimosexto aspecto** de la invención se refiere a un programa de ordenador que comprende instrucciones de programa para hacer que, una vez tomada la muestra y determinados los correspondientes genotipos, un ordenador lleve a la práctica el procedimiento de acuerdo con cualquiera de los métodos de la invención.

Un **vigesimoséptimo aspecto** de la invención se refiere a un medio de almacenamiento legible por un ordenador que comprende instrucciones de programa capaces de hacer que un ordenador lleve a cabo los pasos de cualquiera de los métodos de la invención.

Un **vigesimoctavo aspecto** de la invención se refiere a una señal transmisible que comprende instrucciones de programa capaces de hacer que un ordenador lleve a cabo los pasos de cualquiera de los métodos de la invención.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Fig.1. Curvas de rendimiento diagnóstico (ROC) para las concordancias alélicas (Todos HLA, HLA-clase I y HLA-clase II).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Definiciones y consideraciones generales

En esta memoria se entiende por "transmisión vertical" la transmisión de una infección u otra enfermedad, en particular la transmisión del virus de la hepatitis C, de la madre a su hijo o descendiente inmediatamente antes y después del parto durante el período perinatal. Por tanto, la transmisibilidad de un agente patógeno se refiere a su capacidad para transmitirse verticalmente. Se considera que ha ocurrido transmisión vertical cuando se detectan. Equivalentemente por "heredar" se entiende que la madre transmite verticalmente la enfermedad a su descendiente.

Preferiblemente, en esta memoria se entiende por transmisión vertical la transmisión de cualquier agente infeccioso de la madre a su hijo, intraútero, en el parto o en el periodo postnatal bien por lactancia materna o por el contacto intimo de la madre y el hijo. Los agentes capaces de transmitirse intraútero tienen capacidad de producir corioamnionitis y alteración de la barrera placentaria relacionándose con abortos o malformaciones. Para los virus de la hepatitis B y C el momento de máximo riesgo es el parto no habiéndose comunicado transmisión por lactancia materna. El diagnóstico de infección en los niños se efectúa por la presencia de ARN-VHC positivo en al menos dos muestras de sangre consecutivas o por la presencia de anti-VHC positivo después de los 18 meses de vida. La cronificación de la infección por VHC es la presencia de ARN-VHC de forma permanente. En este estudio a los niños se les determinó el ARN-VHC al nacer, a los 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18 y 24 meses y anualmente hasta los 6 años.

En esta memoria se entiende como "virus de la hepatitis C" a los virus clasificados en el grupo IV (virus de ARN monocatenario positivo), de la familia *Flaviviridae* y del género *Hepacivirus*.

El gen *HLA-C* pertenece al complejo mayor de histocompatibilidad de clase I de cadena pesada. Esta molécula es un heterodímero que consiste en una cadena pesada y una cadena ligera (beta-2-microglobulina). La cadena pesada está anclada en la membrana. Las moléculas de clase I juegan un papel central en el sistema inmunológico mediante la presentación de péptidos derivados de lumen del retículo endoplásmico. Se expresan en casi todas las células. La cadena pesada es de aproximadamente 45 kDa y su gen contiene 8 exones. El exón uno codifica el dominio del péptido líder, los exones 2 y 3 codifican los dominios alfa1 y alfa2, ambos se unen al péptido, el exón 4 codifica el dominio alfa 3, el exón 5 codifica la región transmembrana, y los exones 6 y 7 codifican la cola citoplásmica. Los polimorfismos en el exón 2 y el exón 3 son responsables de la especificidad de unión de péptidos de cada clase de una molécula. El estudio de estos polimorfismos se realiza de forma rutinaria para la médula ósea y el trasplante de riñón. Se han descrito más de un centenar de alelos HLA-C.

Los genes *KIR* pertenecen a los receptores de tipo inmunoglobulina de las células asesinas (KIR), son glicoproteínas transmembranales expresadas por células y subconjuntos de células T asesinas naturales. Los genes KIR son polimórficos y altamente homólogos y se encuentran en un grupo en el cromosoma 19q13.4 en el complejo receptor de leucocitos 1 Mb (LRC). El contenido de genes de la agrupación de genes KIR varía entre los haplotipos, aunque varios genes "marco" se encuentran en todos los haplotipos (KIR3DL3, KIR3DP1, KIR3DL4, KIR3DL2). Las proteínas KIR se clasifican por el número de dominios de inmunoglobulina extracelulares (2D o 3D) y por si tienen un dominio citoplásmico largo (L) o corto (S). Las proteínas KIR con el dominio citoplásmico largo transducen señales inhibidoras tras la unión a través de un motivo inhibidor basado en un ligando tirosina inmune (ITIM), mientras que las proteínas KIR con el dominio citoplásmico corto carecen del motivo ITIM y en lugar de asociarse con la proteína tirosina quinasa TYRO proteína de unión para transducir señales de activación. Los ligandos para varias proteínas KIR son subconjuntos de moléculas HLA de clase I; por lo tanto, se cree que las proteínas KIR desempeñan un papel importante en la regulación de la respuesta inmune.

En esta memoria se entiende por “genotipo” a la información genética que posee un organismo en particular, en forma de ADN. Normalmente el genoma de una especie incluye numerosas variaciones o polimorfismos en muchos de sus genes. El genotipado se usa para determinar qué variaciones específicas existen en el individuo. Específicamente, el genotipo puede definirse como el conjunto de genes de un organismo, y aún más concretamente el “genotipo de un gen” como el conjunto de información genética para ese gen concreto.

Con carácter general, cada kit o dispositivo descrito en la invención puede incluir controles positivos y/o negativos. El kit además puede contener, sin ningún tipo de limitación, tampones, soluciones de extracción de proteínas, agentes para prevenir la contaminación, inhibidores de la degradación de las proteínas, etc.

Por otro lado el kit puede incluir todos los soportes y recipientes necesarios para su puesta en marcha y optimización. Preferiblemente, el kit comprende además las instrucciones para llevar a cabo los métodos de la invención.

Es también posible que el(los) oligonucleótido(s) diseñados a partir de una secuencia conocida o un ARNm de los genes empleados en los métodos descritos, y/o capaces de hibridar con la secuencias de dichos genes, estén inmovilizados en manchas sobre una superficie (preferiblemente sólida).

Una micromatriz de ARN es una matriz sobre un sustrato sólido (normalmente un porta de vidrio o una celda de una película fina de silicio) que evalúa grandes cantidades de diferentes ARN que son detectables mediante sondas específicas inmovilizadas sobre manchas sobre un

sustrato sólido. Cada mancha contiene una secuencia específica de ácido nucleico, normalmente una secuencia de ADN, como sondas (o indicadores). Aunque el número de manchas no está limitado de manera alguna, existe una realización preferida en la que la micromatriz se personaliza para los procedimientos de la invención. Dicha matriz personalizada comprenderá preferentemente cincuenta manchas o menos, tal como treinta manchas o menos, incluyendo veinte manchas o menos.

A modo de ejemplo, las secuencias de oligonucleótidos pueden ser construidas en la superficie un chip mediante el elongamiento secuencial de una cadena en crecimiento con un sólo nucleótido utilizando fotolitografía. Así, los oligonucleótidos son anclados por el extremo 3' mediante un método de activación selectiva de nucleótidos, protegidos por un reactivo fotolábil, mediante la incidencia selectiva de luz a través de una fotomáscara. La fotomáscara puede ser física o virtual.

Así, las sondas de oligonucleótidos pueden ser de entre 10 y 100 nucleótidos, más preferiblemente, de entre 20 y 70 nucleótidos, y aún más preferiblemente, de entre 24 y 30 nucleótidos.

La síntesis *in situ* sobre un soporte sólido (por ejemplo, vidrio), podría hacerse mediante tecnología chorro de tinta (ink-jet), lo que requiere sondas más largas. Los soportes podrían ser, pero sin limitarse a, filtros o membranas de NC o nylon (cargadas), silicio, o Portas de vidrio para microscopios cubiertos con aminosilanos, polilisina, aldehídos o epoxy. La sonda es cada una de las muestras del chip. El target es la muestra a analizar: RNA mensajero, RNA total, un fragmento de PCR, etc.

Una “muestra biológica aislada” incluye, pero sin limitarnos a, células, tejidos y/o fluidos biológicos de un organismo, obtenidos mediante cualquier método conocido por un experto en la materia. Preferiblemente, la muestra biológica aislada es sangre periférica.

El término “individuo”, tal y como se utiliza en la descripción, se refiere a animales, preferiblemente mamíferos, y más preferiblemente, humanos. El término “individuo” en esta memoria, es sinónimo de “paciente”, y no pretende ser limitativo en ningún aspecto, pudiendo ser éste de cualquier edad, sexo y condición física.

El término “fármaco”, tal y como se usa en esta memoria, hace referencia a cualquier sustancia usada para prevención, diagnóstico, alivio, tratamiento o curación de enfermedades en el hombre y los animales. En el contexto de la presente invención, la enfermedad es producida por la infección del virus de la hepatitis C.

Una secuencia de ácido nucleico o polinucleótido puede comprender las cinco bases que aparecen biológicamente (adenina, guanina, timina, citosina y uracilo) y/o bases distintas de las

cinco que aparecen biológicamente. Estas bases pueden servir para distintos propósitos, por ejemplo, para estabilizar o desestabilizar la hibridación; para estimular o inhibir la degradación de la sonda; o como puntos de unión para restos detectables o restos de apantallamiento. Por ejemplo, un polinucleótido de la invención puede contener uno o más restos de base modificados, no estándar, derivatizados, incluyendo, pero sin limitarse a, N^6-metil-adenina, N^6-terc-butil-bencil-adenina, imidazol, imidazoles sustituidos, 5-fluorouracilo, 5-bromouracilo, 5-clorouracilo, 5-yodouracilo, hipoxantina, xantina, 4-acetilcitosina, 5-(carboxihidroximetil) uracilo, 5-carboximetilaminometil-2-tiouridina, 5-carboximetilaminometiluracilo, dihidrouracilo,beta-D-galactosilqueosina, inosina, N6-isopenteniladenina,1- metilguanina, 1-metilinosina, 2,2-dimetilguanina, 2-metiladenina, 2-metilguanina, 3-metilcitosina, 5-metilcitosina, N6-metiladenina, 7-metilguanina, 5-metilaminometiluracilo, 5-metoxiaminometil-2-tiouracilo, beta-D-manosilqueosina, 5'-metoxicarboximetiluracilo, 5-metoxiuracilo, 2-metiltio-N6-isopenteniladenina, ácido uracil-5-oxiacético, wybutoxosina, pesudouracilo, queosina, 2-tiocitosina, 5-metil-2-tiouracilo, 2-tiouracilo, 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 5-metiluracilo (es decir, timina), éster metílico del ácido uracil-5-oxiacético, 3-(3-amino-3-N-2-carboxipropil) uracilo, (acp3)w, 2,6-diaminopurina, y 5-propinil pirimidina. Otros ejemplos de restos de bases modificados, no estándar, o derivatizados pueden encontrarse en las Patentes de EEUU Nos. 6.001.611; 5.955.589; 5.844.106; 5.789.562; 5.750.343; 5.728.525; y 5.679.785. Además, una secuencia de ácido nucleico o polinucleótido puede comprender uno o más restos de azúcares modificados incluyendo, pero sin limitarse a, arabinosa, 2-fluoroarabinosa, xilulosa, y una hexosa.

Los términos “polinucleótido” y “ácido nucleico” se usan aquí de manera intercambiable, refiriéndose a formas poliméricas de nucleótidos de cualquier longitud, tanto ribonucleótidos (ARN ó RNA) como desoxirribonucleótidos (ADN ó DNA).

Los términos “secuencia aminoacídica”, “péptido”, “oligopéptido”, “polipéptido” y “proteína” se usan aquí de manera intercambiable, y se refieren a una forma polimérica de aminoácidos de cualquier longitud, que pueden ser codificantes o no codificantes, química o bioquímicamente modificados.

En la presente invención se entiende por variante o fragmento biológicamente activo, aquellas variantes o fragmentos de los péptidos indicados que tienen un efecto fisiológico, metabólico o inmunológico igual, o presentan la misma utilidad que los descritos. Esto es, son funcionalmente equivalentes. Dichos efectos se pueden determinar mediante métodos convencionales.

El término "identidad", tal y como se utiliza en esta memoria, hace referencia a la proporción de nucleótidos o aminoácidos idénticos entre dos secuencias nucleotídicas o aminoacídicas que se comparan. Los métodos de comparación de secuencias son conocidos en el estado de la

técnica, e incluyen, aunque sin limitarse a ellos, el programa GAG, incluyendo GAP (Devereux *et al.*, Nucleic Acids Research 12: 287 (1984) Genetics Computer Group University of Wisconsin, Madison, (WI); BLAST, BLASTP o BLASTN, y FASTA (Altschul *et al.,* 1999. *J. Mol. Biol.* 215: 403-410.

En realizaciones preferidas de la invención, la determinación de genotipos se realiza mediante PCR. En otra realización preferida, la detección además comprende el uso de la tecnología Luminex.

La tecnología xMAP de Luminex está basada en el uso de microesferas de poliestireno (perlas) de 5,6 micrones, cada una internamente teñida/coloreada con una combinación única de tinte rojo e infrarrojo. La combinación de diferentes intensidades de los dos tintes permite la identificación de cada perla por su característica única cuando estimulados por un rayo láser. Esto permite analizar hasta 100 parámetros simultáneamente en un solo tubo.

La química de la superficie de las esferas (o perlas) les permite recubrirse químicamente con un número de diferentes objetos, incluyendo secuencias de ADN de HLA y antígenos HLA. Las esferas por lo tanto pueden utilizarse para determinar en la muestras la presencia o ausencia de analitos específicos. La plataforma de Luminex utiliza los principios de citometría de flujo para alinear las esferas y pasarlas por un par de láseres. Se utiliza un láser rojo para estimular e identificar así esferas específicas y se utiliza un láser verde para estimular y así detectar cualquier tinte asociado a las esferas durante el ensayo. Por cuanto la identificación de la perlas y la fluorescencia asociada capturada por las esferas se realiza en cada perla individual, un sistema multiplexado puede desarrollarse con, normalmente, hasta 100 esferas. Las sondas utilizadas para recubrir las 100 perlas son cuidadosamente seleccionadas de modo que los analitos individuales de interés pueden identificarse mediante los patrones de reacción única de las perlas.

El tipaje de HLA utilizando Luminex requiere un paso previo que implica una amplificación mediante PCR (PCR – *polymerase chain reaction*) de regiones específicas dentro de la clase de MHC I o II con grupos de cebadores (primers) específicos, con oligonucleótidos o sondas específicas de secuencias (PCR-SSO) seguidos por un proceso de sondeo del amplicón con esferas de Luminex, cada una cubierta con probes de oligonucleótidos específicos de secuencia para identificar la presencia o ausencia de alelos específicos. La asignación del tipo HLA se basa entonces en la reacción patrón observado, y se compara la secuencia con diferentes patrones conocidos.

Los cebadores/primers utilizados para la amplificación son biotinilados. La amplificación puede ser simétrica, que por lo tanto requiere un paso de desnaturalización para crear dos hebras de cadena simple/single strands o puede ser asimétrica para generar un exceso de una sola

hebra. El único producto trenzado es entonces hibridado mediante un termociclador a 60 ºC y posteriormente con un múltiplex de hasta 100 perlas, pueden ser identificados por su tinción interna de forma selectiva, ya que están recubiertos con secuencias de oligonucleótidos específicos. El ADN amplificado hibrida el ADN complementario sondeado en las esferas. A continuación la metodología requiere varias etapas de lavado. El amplicon enlazado es detectado por el marcado con un conjugado estreptavidina-ficoeritrina (SAPE), con estreptavidina vinculante a la biotina utilizado para etiquetar los iniciadores y ficoeritrina sirviendo como el tinte asociado para la presencia de amplicon enlazado. Otra vez un paso de lavado puede ser necesario según el kit en uso. Finalmente las muestras se pasan a una placa para su lectura en el Luminex mediante el uso del software específico, y son determinadas posteriormente con el programa adecuado que será el que nos genera el tipaje completo.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

Método de la invención

En este contexto, el **primer aspecto** de la invención se refiere a un método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que una madre portadora del virus de la hepatitis C (ARN-VHC (+)) transmita verticalmente el virus a su descendencia, o de que un individuo cuya madre es portadora del virus de la hepatitis C, herede y/o cronifique y/o aclare, en caso de que sea contagiado, el virus de la hepatitis C, que comprende:

a) obtener una muestra biológica aislada de la madre, y

b) determinar el genotipo de los genes HLA y KIR en la muestra aislada del paso (a).

Transmisión Vertical

En un primer conjunto de realizaciones particulares, los autores de la presente invención han estudiado la importancia de los marcadores *HLA-C*, *KIR2DL2*, *KIR2DL3*, *KIR2DL1*, *KIR2DS4* y *KIR2DS3* en la probabilidad de que una madre ARN-VHC (+) transmita verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia y/o, en la probabilidad de contagio mediante transmisión vertical del virus de la hepatitis C de un individuo con una madre ARN-VHC (+).

Así, un **segundo aspecto** de la invención se refiere a un método, primer método de la invención, de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que una madre ARN-VHC (+) transmita verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia, que comprende:

a) obtener una muestra biológica aislada de la madre gestante, y

b) detectar el genotipo de los genes *HLA-C y KIR (KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1, KIR2DS4)* en la muestra aislada del paso (a).

Un **tercer aspecto** de la invención se refiere a un método, de ahora en adelante segundo método de la invención, de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la transmisión vertical del virus de la hepatitis C, que comprende los pasos (a) y (b) según el primer método de la invención, y además comprende uno o más de los siguientes pasos, preferiblemente todos ellos y más preferiblemente todos ellos de forma secuencial:

c1) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad mayor, al menos 5 veces mayor, preferiblemente al menos 6 veces mayor, y aún más preferiblemente 6,2 veces mayor de transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C2, en comparación con una madre que no lo presente.

c2) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad mayor, al menos 2 veces mayor, preferiblemente al menos 3 veces mayor, y aún más preferiblemente 3,9 veces mayor de transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C2 en homocigosis (HLA-C2C2), en comparación con una madre que no lo presente.

c3) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad mayor, al menos 9 veces mayor, preferiblemente al menos 10 veces mayor, y aún más preferiblemente 10,7 veces mayor de transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C2 en homocigosis (HLA-C2C2) en combinación con *KIR2DL2 y KIR2DL3*, en comparación con una madre que no lo presente.

c4) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad mayor, al menos 4 veces mayor, preferiblemente al menos 5 veces mayor, y aún más preferiblemente 6 veces mayor de transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C2 en combinación con *KIR2DL1* o HLA-C2 en combinación con *KIR2DS4*, en comparación con una madre que no lo presente.

c5) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad mayor, al menos 3 veces mayor, preferiblemente al menos 4 veces mayor, y aún más preferiblemente 5 veces mayor de no transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C1 o HLA-C1 en homocigosis (HLA-C1C1), en comparación con una madre que no lo presente.

c6) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad mayor, al menos 2 veces mayor, y aún más preferiblemente 2,5 veces mayor de no transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C1 en combinación con *KIR2DL3*, en comparación con una madre que no lo presente.

c7) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad mayor, al menos 2 veces mayor, preferiblemente al menos 3 veces mayor, y aún más preferiblemente 3,3 veces mayor de no transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C1 en combinación con *KIR2DS4*, en comparación con una madre que no lo presente.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la muestra biológica aislada de la madre gestante del paso (a) es una muestra de sangre.

Los pasos (b) y/o (c), del método descrito anteriormente pueden ser total o parcialmente automatizados, por ejemplo, por medio de un equipo robótico sensor para la detección de la presencia en el paso (b) o la clasificación computarizada en el paso (c).

En una realización preferida de este aspecto de la invención, la detección del paso (b) se realiza mediante PCR. En otra realización preferida, la detección además comprende el uso de la tecnología Luminex.

Un **cuarto aspecto** de la invención se refiere a un kit o dispositivo, de ahora en adelante primer kit o dispositivo de la invención, que comprende los elementos necesarios para detectar el genotipo de los genes *HLA-C y KIR (KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1, KIR2DS4)*, tal y como se han definido el primer método de la invención.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, el primer kit o dispositivo de la invención es adecuado para amplificar secuencias nucleotídicas, que comprenden sondas y/o cebadores diseñados a partir de las secuencias SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:11 y/o SEQ ID NO:13, así como opcionalmente todos aquellos elementos necesarios para llevar a cabo un procedimiento PCR.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, el kit puede contener oligonucleótidos diseñados a partir de una secuencia conocida o un ARNm del gen, y/o

capaces de hibridar con la secuencia de los genes *HLA-C y KIR (KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1, KIR2DS4),* para posterior amplificación por PCR. Más preferiblemente las secuencias de los genes *HLA-C y KIR (KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1, KIR2DS4),* son las secuencias nucleotídicas indicadas para cada gen en la tabla 1. Preferiblemente, los oligonucleótidos presentan modificaciones en alguno de sus nucleótidos, como por ejemplo, pero sin limitarnos a, nucleótidos que tengan alguno de sus átomos con un isótopo radiactivo, normalmente ^{32}P o tritio, nucleótidos marcados inmunológicamente, como por ejemplo con una molécula de digoxigenina, y/o inmovilizadas en una membrana. Varias posibilidades son conocidas en el estado de la técnica.

Así pues, el primer kit o dispositivo de la invención comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-C, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1* y/o *KIR2DS4*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 3 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 5 (KIR2DL3), SEQ ID NO: 7 (KIR2DL1), SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 y/o SEQ ID NO: 13 (KIR2DS4);

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 3 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 5 (KIR2DL3), SEQ ID NO: 7 (KIR2DL1), SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 y/o SEQ ID NO: 13 (KIR2DS4).

- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 2 (HLA-C), SEQ ID NO: 4 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 6 (KIR2DL3), SEQ ID NO: 8 (KIR2DL1), SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12 y/o SEQ ID NO: 14 (KIR2DS4).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el kit o dispositivo de la invención comprende anticuerpos o fragmentos de los mismos específicos frente a cualquiera de las secuencias SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID

NO:12 o SEQ ID NO:14, o frente a secuencias aminoacídicas que presenten un grado de identidad con dichas secuencias aminoacídicas de, al menos del 85%, típicamente de, al menos del 90%, preferiblemente de, al menos del 95%, más preferiblemente de, al menos del 98%, aún más preferiblemente de, al menos del 99%. En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el anticuerpo es humano, humanizado o sintético. En otra realización preferida, el anticuerpo es monoclonal y/o se encuentra marcado con un fluorocromo. Preferiblemente, el flurocromo se selecciona de la lista que comprende Fluoresceína (FITC), Tetrametilrodamina y derivados, Ficoeritrina (PE), PerCP, Cy5, Texas, aloficocianina, o cualquiera de sus combinaciones.

Otro aspecto de la invención se refiere a una micromatriz que comprende oligonucleótidos diseñados a partir de una secuencia conocida o un ARNm de los genes, y/o capaces de hibridar con la secuencias de los genes *HLA-C y/o KIR (KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1, KIR2DS4).* Más preferiblemente las secuencias de los *HLA-C y/o KIR (KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1, KIR2DS4)* son las secuencias nucleotídicas indicadas para cada gen en la tabla 1.

Un **quinto aspecto** de la invención se refiere al uso del primer kit o dispositivo de la invención, para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la transmisión vertical del virus de la hepatitis C.

Un **sexto aspecto** de la invención se refiere a un método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de infección mediante transmisión vertical del virus de la hepatitis C de un individuo con una madre ARN-VHC (+), de ahora en adelante tercer método de la invención, que comprende:

a) obtener una muestra biológica aislada del individuo, y

b) detectar el genotipo de los genes *HLA-C y KIR (KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DS3)* en la muestra aislada del paso (a).

Un **séptimo aspecto** de la invención se refiere a un método, cuarto método de la invención, de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de infección mediante transmisión vertical del virus de la hepatitis C de un individuo con una madre ARN-VHC (+), que comprende los pasos (a) y (b) del tercer método de la invención, y además comprende uno o más de los siguientes pasos, preferiblemente todos ellos y más preferiblemente todos ellos de forma secuencial:

c1) clasificar al individuo del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad mayor, al menos 3 veces mayor, preferiblemente 4 veces mayor, y aún más preferiblemente 4,2 veces mayor de ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C si presenta el genotipo HLA-C2 en homocigosis (HLA-C2C2) en

combinación con la homocigosis de KIR2DL2 (KIR2DL2/2DL2), en comparación con un individuo que no lo presente.

c2) clasificar al individuo del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad mayor, al menos 13 veces mayor, preferiblemente 13,5 veces mayor, y aún más preferiblemente 14 veces mayor de ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C si presenta el genotipo HLA-C2 en homocigosis (HLA-C2C2) en combinación con la homocigosis de KIR2DL3 (KIR2DL3/2DL3), en comparación con un individuo que no lo presente.

c3) clasificar al individuo del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad mayor, al menos 13 veces mayor, preferiblemente 14 veces mayor, y aún más preferiblemente 14,3 veces mayor de no ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C si presenta el genotipo KIR2DS3, en comparación con un individuo que no lo presente.

c4) clasificar al individuo del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad mayor, al menos 2 veces mayor, preferiblemente 3 veces mayor, y aún más preferiblemente 3,3 veces mayor de no ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C si presenta el genotipo HLA-C1, en comparación con un individuo que no lo presente.

c5) clasificar al individuo del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad mayor, al menos 4 veces mayor, preferiblemente 4,5 veces mayor, y aún más preferiblemente 5 veces mayor de no ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C si presenta el genotipo HLA-C1 en combinación con KIR2DL3, en comparación con un individuo que no lo presente.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, la muestra biológica aislada del individuo del paso (a) es una muestra de sangre.

Los pasos (b) y/o del método descrito anteriormente pueden ser total o parcialmente automatizados, por ejemplo, por medio de un equipo robótico sensor para la detección de la presencia en el paso (b) o la clasificación computarizada en el paso (c).

Un **octavo aspecto** de la invención se refiere a un kit o dispositivo, de ahora en adelante segundo kit o dispositivo de la invención, que comprende los elementos necesarios para detectar el genotipo de los genes *HLA-C y KIR (KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DS3),* tal y como se han definido el tercer método de la invención.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, el segundo kit o dispositivo de la invención es adecuado para amplificar secuencias nucleotídicas, que comprenden sondas y/o

cebadores diseñados a partir de las secuencias SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5 o SEQ ID NO: 15, así como opcionalmente todos aquellos elementos necesarios para llevar a cabo un procedimiento PCR.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, el segundo kit o dispositivo de la invención puede contener oligonucleótidos diseñados a partir de una secuencia conocida o un ARNm del gen, y/o capaces de hibridar con la secuencia de los genes *HLA-C y KIR (KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DS3),* para posterior amplificación por PCR. Más preferiblemente las secuencias de los genes *HLA-C y KIR (KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DS3)*, son las secuencias nucleotídicas indicadas para cada gen en la tabla 1. Preferiblemente, los oligonucleótidos presentan modificaciones en alguno de sus nucleótidos, como por ejemplo, pero sin limitarnos a, nucleótidos que tengan alguno de sus átomos con un isótopo radiactivo, normalmente ^{32}P o tritio, nucleótidos marcados inmunológicamente, como por ejemplo con una molécula de digoxigenina, y/o inmovilizadas en una membrana. Varias posibilidades son conocidas en el estado de la técnica.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el segundo kit o dispositivo de la invención comprende anticuerpos o fragmentos de los mismos específicos frente a cualquiera de las secuencias SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 16 o frente a secuencias aminoacídicas que presenten un grado de identidad con dichas secuencias aminoacídicas de, al menos del 85%, típicamente de, al menos del 90%, preferiblemente de, al menos del 95%, más preferiblemente de, al menos del 98%, aún más preferiblemente de, al menos del 99%. En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el anticuerpo es humano, humanizado o sintético. En otra realización preferida, el anticuerpo es monoclonal y/o se encuentra marcado con un fluorocromo. Preferiblemente, el flurocromo se selecciona de la lista que comprende Fluoresceína (FITC), Tetrametilrodamina y derivados, Ficoeritrina (PE), PerCP, Cy5, Texas, aloficocianina, o cualquiera de sus combinaciones.

En otra realización preferida de este aspecto el segundo kit o dispositivo de la invención comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-C, KIR2DL2, KIR2DL3,* y/o *KIR2DS3*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 3 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 5 (KIR2DL3), y/o SEQ ID NO: 15 (KIR2DS3);

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 3 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 5 (KIR2DL3), SEQ ID NO: 7 (KIR2DL1), SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 y/o SEQ ID NO: 13 (KIR2DS4).

- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 2 (HLA-C), SEQ ID NO: 4 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 6 (KIR2DL3), y/o SEQ ID NO: 16 (KIR2DS3).

Otro aspecto de la invención se refiere a una micromatriz que comprende oligonucleótidos diseñados a partir de una secuencia conocida o un ARNm de los genes, y/o capaces de hibridar con la secuencias de los genes *HLA-C y KIR (KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DS3).* Más preferiblemente las secuencias de los genes *HLA-C y KIR (KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DS3)*, son las secuencias nucleotídicas indicadas para cada gen en la tabla 1.

Un **noveno aspecto** de la invención se refiere al uso del segundo kit o dispositivo de la invención, para la obtención de datos útiles predecir o pronosticar el riesgo de infección mediante transmisión vertical del virus de la hepatitis C de un niño con una madre ARN-VHC (+).

Cronificación y/o aclaramiento del VHC

En otro conjunto de realizaciones particulares, los autores de la presente invención han estudiado la importancia de los marcadores *HLA-DQA01*, *KIR2DS1*, *KIR3DS1*, *KIR3DL1*, *HLA-B, HLA-DQB3, KIR2DS3, HLA-A, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y *HLA-DPB1* en la probabilidad de que un individuo cronifique la hepatitis C y en la probabilidad de que aclare el virus de la hepatitis C.

Así, un **décimo aspecto** de la invención se refiere a un método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) cronifique la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, de ahora en adelante quinto método de la invención, que comprende:

a) obtener una muestra biológica aislada de una madre gestante, y

b) determinar el genotipo de los genes *HLA-DQA1*, *HLA-B* y *KIR* en la muestra aislada del paso (a).

En una realización preferida de este aspecto de la invención, en el paso (b) se determina el genotipo de los genes *KIR2DS1*, *KIR3DS1* y *KIR3DL1*.

Un **undécimo aspecto** de la invención se refiere a un método para predecir o pronosticar la cronificación de la hepatitis C en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, de ahora en adelante sexto método de la invención, que comprende los pasos (a) y (b) según el quinto método de la invención, y además comprende uno o más de los siguientes pasos, preferiblemente todos ellos y más preferiblemente todos ellos de forma secuencial:

c1) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo HLADQA-01, en el grupo de individuos con una probabilidad mayor, al menos 1,5 veces mayor, y preferiblemente 2 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

c2) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo KIR2DS1, en el grupo de individuos con una probabilidad mayor, al menos 6 veces mayor, y preferiblemente 7 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

c3) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo KIR3DS1, en el grupo de individuos con una probabilidad mayor, al menos 12 veces mayor, y preferiblemente 13 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

c4) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo KIR3DL1 en combinación con KIR3DS1, en el grupo de individuos con una probabilidad mayor, al menos 12 veces mayor, y preferiblemente 13 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

c5) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo HLA-Bw6, en el grupo de individuos con una probabilidad mayor, al menos 14 veces mayor, y preferiblemente 15,6 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la muestra biológica aislada de la madre gestante del paso (a) es una muestra de sangre.

Los pasos (b) y/o (c), del método descrito anteriormente pueden ser total o parcialmente automatizados, por ejemplo, por medio de un equipo robótico sensor para la detección de la presencia en el paso (b) o la clasificación computarizada en el paso (c).

En una realización preferida de este aspecto de la invención, la detección del paso (b) se realiza mediante PCR. En otra realización preferida, la detección además comprende el uso de la tecnología Luminex.

Un **duodécimo aspecto** de la invención se refiere a un kit o dispositivo, de ahora en adelante tercer kit o dispositivo de la invención, que comprende los elementos necesarios para detectar los genotipos *HLA-DQA1*, *HLA-B, KIR2DS1*, *KIR3DS1* y/o *KIR3DL1*.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, el tercer kit o dispositivo de la invención es adecuado para amplificar secuencias nucleotídicas, que comprenden sondas y/o cebadores diseñados a partir de las secuencias SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23 y/o SEQ ID NO: 25, así como opcionalmente todos aquellos elementos necesarios para llevar a cabo un procedimiento PCR.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, el kit puede contener oligonucleótidos diseñados a partir de una secuencia conocida o un ARNm del gen, y/o capaces de hibridar con la secuencia de los genes *HLA-DQA1*, *HLA-B y KIR (KIR2DS1*, *KIR3DS1* y *KIR3DL1),* para posterior amplificación por PCR. Más preferiblemente las secuencias de los genes *HLA-DQA1*, *HLA-B y KIR (KIR2DS1*, *KIR3DS1* y *KIR3DL1),* son las secuencias nucleotídicas indicadas para cada gen en la tabla 1. Preferiblemente, los oligonucleótidos presentan modificaciones en alguno de sus nucleótidos, como por ejemplo, pero sin limitarnos a, nucleótidos que tengan alguno de sus átomos con un isótopo radiactivo, normalmente ^{32}P o tritio, nucleótidos marcados inmunológicamente, como por ejemplo con una molécula de digoxigenina, y/o inmovilizadas en una membrana. Varias posibilidades son conocidas en el estado de la técnica.

En una realización preferida, el tercer kit o dispositivo de la invención comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-DQA1*, *HLA-B, KIR2DS1*, *KIR3DS1* y/o *KIR3DL1*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la

SEQ ID NO: 17 (HLA-DQA01), SEQ ID NO: 19 (KIR2DS1), SEQ ID NO: 21 (KIR3DS1), SEQ ID NO: 23 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 25 (HLA-B).

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 17 (HLA-DQA01), SEQ ID NO: 19 (KIR2DS1), SEQ ID NO: 21 (KIR3DS1), SEQ ID NO: 23 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 25 (HLA-B).

- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 18 (HLA-DQA01), SEQ ID NO: 20 (KIR2DS1), SEQ ID NO: 22 (KIR3DS1), SEQ ID NO: 24 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 26 (HLA-B).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el kit o dispositivo de la invención comprende anticuerpos o fragmentos de los mismos específicos frente a cualquiera de las secuencias SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 26, o frente a secuencias aminoacídicas que presenten un grado de identidad con dichas secuencias aminoacídicas de, al menos del 85%, típicamente de, al menos del 90%, preferiblemente de, al menos del 95%, más preferiblemente de, al menos del 98%, aún más preferiblemente de, al menos del 99%. En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el anticuerpo es humano, humanizado o sintético. En otra realización preferida, el anticuerpo es monoclonal y/o se encuentra marcado con un fluorocromo. Preferiblemente, el flurocromo se selecciona de la lista que comprende Fluoresceína (FITC), Tetrametilrodamina y derivados, Ficoeritrina (PE), PerCP, Cy5, Texas, aloficocianina, o cualquiera de sus combinaciones.

El kit de la invención puede incluir controles positivos y/o negativos. El kit además puede contener, sin ningún tipo de limitación, tampones, soluciones de extracción de proteínas, agentes para prevenir la contaminación, inhibidores de la degradación de las proteínas, etc.

Por otro lado el kit puede incluir todos los soportes y recipientes necesarios para su puesta en marcha y optimización. Preferiblemente, el kit comprende además las instrucciones para llevar a cabo los métodos de la invención.

Es también posible que el(los) oligonucleótido(s) estén inmovilizados en manchas sobre una superficie (preferiblemente sólida). En una de sus realizaciones, el kit comprende una micromatriz, o micromatriz de la invención. Por tanto, otro aspecto de la invención se refiere a una micromatriz que comprende oligonucleótidos diseñados a partir de una secuencia conocida o un ARNm de los genes, y/o capaces de hibridar con la secuencias de los genes *HLA-DQA1*,

HLA-B y KIR (KIR2DS1, KIR3DS1 y *KIR3DL1).* Más preferiblemente las secuencias de los *HLA-DQA1, HLA-B y KIR (KIR2DS1, KIR3DS1* y *KIR3DL1)* son las secuencias nucleotídicas indicadas para cada gen en la tabla 1.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, los cebadores, sondas o anticuerpos están modificados o marcados, por ejemplo, pero sin limitarnos, mediante un marcaje radiactivo o inmunológico.

Un **decimotercer aspecto** de la invención se refiere al uso del tercer kit o dispositivo de la invención para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) cronifique la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical.

En esta memoria se entiende por "cronificación" de la hepatitis C en niños a la presencia de ARN-VHC positivo en al menos dos muestras de sangre consecutivas o por la presencia de anti-VHC positivo después de los 18 meses de vida. La cronificación de la infección por VHC es la presencia de ARN-VHC de forma permanente. Preferiblemente, el estudio en los niños consiste en determinar el ARN-VHC al nacer, a los 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18 y 24 meses y anualmente hasta los 6 años.

Se acepta que los hijos de madres positivas pueden aclarar el virus en los primeros meses del nacimiento (Ceci O, *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2001 Nov;33(5):570-5), hasta en el 75% de los casos. Los niños que se infectan y quedan crónicamente infectados, suelen estar asintomáticos, pero presentan elevación de transaminasas entre los seis y doce meses de vida (Bortolotti F, *J. Pediatr.* 1997; 130: 990-993). El curso clínico de la infección es aparentemente leve y no existe consenso en cuanto al momento de tratarlos. La terapéutica en niños con infección crónica no está bien definida, lo que indica que es necesario investigar sobre la epidemiología, curso clínico y tratamiento del VHC en los niños (Jonas MM. Hepatology 2002 Nov;36 (5 Suppl 1):S173-8. Estudios recientes demuestran que en las biopsias hepáticas de niños con infección crónica por VHC existe una actividad inflamatoria moderada, sin embargo, hay una tendencia importante a la fibrosis y la evolución de la misma puede ser grave aunque la duración de la infección sea corta (Badizadegan K, Hepatology 1998 Nov 28(5):1416-23. En un metanalisis Jacobson KR, (J Pediatr Gastroenterol Nutr 2002 Jan;34(1):52-8), que incluye a 366 niños tratados con INF y 105 no tratados, la respuesta virológica fue del 36% para el grupo tratado y del 5% para el grupo control. La respuesta fue más favorable en el genotipo no-1 (70%) que el genotipo 1 (27%). Estos datos sugieren que el INF-alfa es una propuesta terapéutica con una seguridad y eficacia razonable para el tratamiento de la hepatitis C crónica en niños. También se ha ensayado el tratamiento combinado con ribavirina Wirth S, Hepatology 2002 Nov;36(5):1280-4), mejorando los resultados anteriores, ya que la tasa de respuesta

virológica del 61%, aunque la presencia de efectos adversos graves es del 21%. Se desconoce la efectividad del IFN-Peg más ribavirina.

En esta memoria se entiende como "virus de la hepatitis C" a los virus clasificados en el grupo IV (virus de ARN monocatenario positivo), de la familia *Flaviviridae* y del género *Hepacivirus*.

Un **decimocuarto aspecto** de la invención se refiere a un método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la probabilidad de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) aclare el VHC en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, de ahora en adelante séptimo método de la invención, que comprende:

a) obtener una muestra biológica aislada de una madre gestante, y

b) determinar el genotipo de los genes *HLA-B y KIR* en la muestra aislada del paso (a).

En una realización preferida de este aspecto de la invención, en el paso (b) se determina el genotipo del gen *KIR3DL1*.

Un **decimoquinto aspecto** de la invención se refiere a un método para predecir o pronosticar el aclaramiento del VHC en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, de ahora en adelante octavo método de la invención, que comprende los pasos (a) y (b) según el séptimo método de la invención, y además comprende:

c1) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo KIR3DL1 en homocigosis, en el grupo de individuos con una probabilidad mayor, al menos 12 veces mayor, y preferiblemente 12,5 veces mayor de aclarar el virus de la hepatitis C, comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

En otra realización preferida, el octavo método de la invención comprende:

c2) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo HLA-Bw4 en homocigosis (HLA-Bw4-Bw4), en el grupo de individuos con una probabilidad mayor, al menos 16 veces mayor, y preferiblemente 16,7 veces mayor de aclarar el virus de la hepatitis C, comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la muestra biológica aislada de la madre gestante del paso (a) es una muestra de sangre.

Los pasos (b) y/o del método descrito anteriormente pueden ser total o parcialmente automatizados, por ejemplo, por medio de un equipo robótico sensor para la detección de la presencia en el paso (b) o la clasificación computarizada en el paso (c).

Un **decimosexto aspecto** de la invención se refiere a un kit o dispositivo, de ahora en adelante cuarto kit o dispositivo de la invención, que comprende los elementos necesarios para detectar los genotipos *HLA-B* y/o *KIR3DL1*.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, el cuarto kit o dispositivo de la invención es adecuado para amplificar secuencias nucleotídicas, que comprenden sondas y/o cebadores diseñados a partir de las secuencias SEQ ID NO: 23 o SEQ ID NO: 25, así como opcionalmente todos aquellos elementos necesarios para llevar a cabo un procedimiento PCR.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, el cuarto kit o dispositivo de la invención puede contener oligonucleótidos diseñados a partir de una secuencia conocida o un ARNm del gen, y/o capaces de hibridar con la secuencia de los genes *HLA-B y KIR (KIR3DL1)*, para posterior amplificación por PCR. Más preferiblemente las secuencias de los genes *HLA-B y KIR (KIR3DL1)*, son las secuencias nucleotídicas indicadas para cada gen en la tabla 1. Preferiblemente, los oligonucleótidos presentan modificaciones en alguno de sus nucleótidos, como por ejemplo, pero sin limitarnos a, nucleótidos que tengan alguno de sus átomos con un isótopo radiactivo, normalmente ^{32}P o tritio, nucleótidos marcados inmunológicamente, como por ejemplo con una molécula de digoxigenina, y/o inmovilizadas en una membrana. Varias posibilidades son conocidas en el estado de la técnica.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el cuarto kit o dispositivo de la invención comprende anticuerpos o fragmentos de los mismos específicos frente a cualquiera de las secuencias SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 26 o frente a secuencias aminoacídicas que presenten un grado de identidad con dichas secuencias aminoacídicas de, al menos del 85%, típicamente de, al menos del 90%, preferiblemente de, al menos del 95%, más preferiblemente de, al menos del 98%, aún más preferiblemente de, al menos del 99%. En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el anticuerpo es humano, humanizado o sintético. En otra realización preferida, el anticuerpo es monoclonal y/o se encuentra marcado con un fluorocromo. Preferiblemente, el flurocromo se selecciona de la lista que comprende Fluoresceína (FITC), Tetrametilrodamina y derivados, Ficoeritrina (PE), PerCP, Cy5, Texas, aloficocianina, o cualquiera de sus combinaciones.

En una realización preferida, el cuarto kit o dispositivo de la invención comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-B* y/o *KIR3DL1*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un

98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 23 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 25 (HLA-B).

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 23 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 25 (HLA-B).

- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 24 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 26 (HLA-B).

El cuarto kit de la invención puede incluir controles positivos y/o negativos. El kit además puede contener, sin ningún tipo de limitación, tampones, soluciones de extracción de proteínas, agentes para prevenir la contaminación, inhibidores de la degradación de las proteínas, etc.

Por otro lado el kit puede incluir todos los soportes y recipientes necesarios para su puesta en marcha y optimización. Preferiblemente, el kit comprende además las instrucciones para llevar a cabo los métodos de la invención.

Es también posible que el(los) oligonucleótido(s) estén inmovilizados en manchas sobre una superficie (preferiblemente sólida). En una de sus realizaciones, el kit comprende una micromatriz, o micromatriz de la invención. Por tanto, otro aspecto de la invención se refiere a una micromatriz que comprende oligonucleótidos diseñados a partir de una secuencia conocida o un ARNm de los genes, y/o capaces de hibridar con la secuencias de los genes *HLA-B y KIR (KIR3DL1)*. Más preferiblemente las secuencias de los genes *HLA-B y KIR (KIR3DL1)* son las secuencias nucleotídicas indicadas para cada gen en la tabla 1.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, los cebadores, sondas o anticuerpos están modificados o marcados, por ejemplo, pero sin limitarnos, mediante un marcaje radiactivo o inmunológico.

Un **decimoséptimo aspecto** de la invención se refiere al uso del cuarto kit o dispositivo de la invención para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la probabilidad de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) aclare el VHC en el caso que sea contagiado por transmisión vertical.

En esta memoria se entiende por “aclaramiento” del virus de la hepatitis C la presencia de ARN-VHC positivo en al menos dos muestras o alguna más, de sangre consecutivas, y en todos los demás controles, hasta el alta hospitalaria, presentarán ARN-VHC negativo.

Preferiblemente, el estudio en los niños consiste en determinar el ARN-VHC al nacer, a los 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18 y 24 meses (o hasta alta hospitalaria).

Un **decimoctavo aspecto** de la invención se refiere a un método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la probabilidad de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) aclare el VHC en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, de ahora en adelante noveno método de la invención, que comprende:

a) obtener una muestra biológica aislada de un individuo, y

b) determinar el genotipo de los genes *HLA-DQ y KIR* en la muestra aislada del paso (a).

En una realización preferida de este aspecto de la invención, en el paso (b) se determina el genotipo de los genes *KIR2DS3*.

Un **decimonoveno aspecto** de la invención se refiere a un método para predecir o pronosticar el aclaramiento del VHC en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, de ahora en adelante décimo método de la invención, que comprende los pasos (a) y (b) según el noveno método de la invención, y además comprende:

c1) clasificar al individuo del paso (a) si presenta el genotipo HLA-DQ*03, en el grupo de individuos con una probabilidad mayor, al menos 18 veces mayor, y preferiblemente 20 veces mayor de aclarar el virus de la hepatitis C, comparación con un individuo que no lo presente.

En otra realización preferida, el décimo método de la invención comprende:

c2) clasificar al individuo del paso (a), si presenta el genotipo *KIR2DS3*, en el grupo de individuos con una probabilidad mayor, al menos 1,5 veces mayor, y preferiblemente 2 veces mayor de aclarar el virus de la hepatitis C, comparación con un individuo que no lo presente.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la muestra biológica aislada de la madre gestante del paso (a) es una muestra de sangre.

Los pasos (b) y/o del método descrito anteriormente pueden ser total o parcialmente automatizados, por ejemplo, por medio de un equipo robótico sensor para la detección de la presencia en el paso (b) o la clasificación computarizada en el paso (c).

Un **vigésimo aspecto** de la invención se refiere a un kit o dispositivo, de ahora en adelante quinto kit o dispositivo de la invención, que comprende los elementos necesarios para detectar los genotipos *HLA-DQ* y/o *KIR2DS3*.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, el quinto kit o dispositivo de la invención es adecuado para amplificar secuencias nucleotídicas, que comprenden sondas y/o cebadores diseñados a partir de las secuencias SEQ ID NO: 27 o SEQ ID NO: 15, así como opcionalmente todos aquellos elementos necesarios para llevar a cabo un procedimiento PCR.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, el quinto kit o dispositivo de la invención puede contener oligonucleótidos diseñados a partir de una secuencia conocida o un ARNm del gen, y/o capaces de hibridar con la secuencia de los genes *HLA-DQ y KIR (KIR2DS3)*, para posterior amplificación por PCR. Más preferiblemente las secuencias de los genes *HLA-DQ y KIR (KIR2DS3)*, son las secuencias nucleotídicas indicadas para cada gen en la tabla 1. Preferiblemente, los oligonucleótidos presentan modificaciones en alguno de sus nucleótidos, como por ejemplo, pero sin limitarnos a, nucleótidos que tengan alguno de sus átomos con un isótopo radiactivo, normalmente ^{32}P o tritio, nucleótidos marcados inmunológicamente, como por ejemplo con una molécula de digoxigenina, y/o inmovilizadas en una membrana. Varias posibilidades son conocidas en el estado de la técnica.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el quinto kit o dispositivo de la invención comprende anticuerpos o fragmentos de los mismos específicos frente a cualquiera de las secuencias SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 16 o frente a secuencias aminoacídicas que presenten un grado de identidad con dichas secuencias aminoacídicas de, al menos del 85%, típicamente de, al menos del 90%, preferiblemente de, al menos del 95%, más preferiblemente de, al menos del 98%, aún más preferiblemente de, al menos del 99%. En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el anticuerpo es humano, humanizado o sintético. En otra realización preferida, el anticuerpo es monoclonal y/o se encuentra marcado con un fluorocromo. Preferiblemente, el flurocromo se selecciona de la lista que comprende Fluoresceína (FITC), Tetrametilrodamina y derivados, Ficoeritrina (PE), PerCP, Cy5, Texas, aloficocianina, o cualquiera de sus combinaciones.

En una realización preferida, el quinto kit o dispositivo de la invención comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-DQ* y/o *KIR2DS3*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 27 (HLA-DQ) y/o SEQ ID NO: 15 (KIR2DS3).

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 27 (HLA-DQ) y/o SEQ ID NO: 15 (KIR2DS3).

- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 28 (HLA-DQ) y/o SEQ ID NO: 16 (KIR2DS3).

El quinto kit de la invención puede incluir controles positivos y/o negativos. El kit además puede contener, sin ningún tipo de limitación, tampones, soluciones de extracción de proteínas, agentes para prevenir la contaminación, inhibidores de la degradación de las proteínas, etc.

Por otro lado el kit puede incluir todos los soportes y recipientes necesarios para su puesta en marcha y optimización. Preferiblemente, el kit comprende además las instrucciones para llevar a cabo los métodos de la invención.

Es también posible que el(los) oligonucleótido(s) estén inmovilizados en manchas sobre una superficie (preferiblemente sólida). Por tanto, otro aspecto de la invención se refiere a una micromatriz que comprende oligonucleótidos diseñados a partir de una secuencia conocida o un ARNm de los genes, y/o capaces de hibridar con la secuencias de los genes *HLA-DQ* y *KIR (KIR2DS3)*. Más preferiblemente las secuencias de los genes *HLA-DQ* y *KIR (KIR2DS3)* son las secuencias nucleotídicas indicadas para cada gen en la tabla 1.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, los cebadores, sondas o anticuerpos están modificados o marcados, por ejemplo, pero sin limitarnos, mediante un marcaje radiactivo o inmunológico.

Un **vigesimoprimer aspecto** de la invención se refiere al uso del quinto kit o dispositivo de la invención para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la probabilidad de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) aclare el VHC en el caso que sea contagiado por transmisión vertical.

Un **vigesimosegundo aspecto** de la invención se refiere a un método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) cronifique la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, de ahora en adelante undécimo método de la invención, que comprende:

a) obtener una muestra biológica aislada de un individuo y otra muestra biológica aislada de su madre gestante, y

b) determinar el genotipo de los genes *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y *HLA-DPB1* en las muestras aisladas del paso (a).

Un **vigesimotercer aspecto** de la invención se refiere a un método para predecir o pronosticar la cronificación de la hepatitis C en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, de ahora en adelante duodécimo método de la invención, que comprende los pasos (a) y (b) según el undécimo método de la invención, y además comprende:

c1) clasificar al individuo del paso (a), si presenta concordancia alélica en los genes *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y *HLA-DPB1*, al menos un 60% de corcondancia alélica, y preferiblemente al menos un 65,60% de concordancia alélica en dichos genes, con la madre gestante del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad mayor, al menos 2 veces mayor, y preferiblemente 3 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo que no presente concordancia alélica con su madre.

En otra realización preferida, el duodécimo método de la invención comprende:

c2) clasificar al individuo del paso (a), si presenta concordancia alélica en los genes en los genes *HLA-A*, *HLA-B* y *HLA-C,* al menos un 50% de corcondancia alélica, y preferiblemente al menos un 58,40% de concordancia alélica en dichos genes, con la madre gestante del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad mayor, al menos 1,1 veces mayor, y preferiblemente 1,9 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo no que presente concordancia alélica con su madre.

En otra realización preferida, el duodécimo método de la invención comprende:

c3) clasificar al individuo del paso (a), si presenta concordancia alélica en los genes *HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y *HLA-DPB1*, al menos un 70% de corcondancia alélica, y preferiblemente al menos un 75% de concordancia alélica en dichos genes, con la madre gestante del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad mayor, al menos 1,1 veces mayor, y preferiblemente 1,6 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo que no presente concordancia alélica con su madre.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la muestra biológica aislada del individuo del paso (a) es una muestra de sangre y la muestra biológica aislada de la madre gestante del paso (a) es una muestra de sangre.

Los pasos (b) y/o del método descrito anteriormente pueden ser total o parcialmente automatizados, por ejemplo, por medio de un equipo robótico sensor para la detección de la presencia en el paso (b) o la clasificación computarizada en el paso (c).

Un **vigesimocuarto aspecto** de la invención se refiere a un kit o dispositivo, de ahora en adelante sexto kit o dispositivo de la invención, que comprende los elementos necesarios para detectar los genotipos *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y/o *HLA-DPB1*.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, el sexto kit o dispositivo de la invención es adecuado para amplificar secuencias nucleotídicas, que comprenden sondas y/o cebadores diseñados a partir de las secuencias SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45 o SEQ ID NO: 47, así como opcionalmente todos aquellos elementos necesarios para llevar a cabo un procedimiento PCR.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, el quinto kit o dispositivo de la invención puede contener oligonucleótidos diseñados a partir de una secuencia conocida o un ARNm del gen, y/o capaces de hibridar con la secuencia de los genes *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y *HLA-DPB1*, para posterior amplificación por PCR. Más preferiblemente las secuencias de los genes *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y *HLA-DPB1*, son las secuencias nucleotídicas indicadas para cada gen en la tabla 1. Preferiblemente, los oligonucleótidos presentan modificaciones en alguno de sus nucleótidos, como por ejemplo, pero sin limitarnos a, nucleótidos que tengan alguno de sus átomos con un isótopo radiactivo, normalmente ^{32}P o tritio, nucleótidos marcados inmunológicamente, como por ejemplo con una molécula de digoxigenina, y/o inmovilizadas en una membrana. Varias posibilidades son conocidas en el estado de la técnica.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el sexto kit o dispositivo de la invención comprende anticuerpos o fragmentos de los mismos específicos frente a cualquiera de las secuencias SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 48 o frente a secuencias aminoacídicas que presenten un grado de identidad con dichas secuencias aminoacídicas de, al menos del 85%, típicamente de, al menos del 90%, preferiblemente de, al menos del 95%, más preferiblemente de, al menos del 98%, aún más preferiblemente de, al menos del 99%. En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el anticuerpo es humano, humanizado o sintético. En otra realización preferida, el anticuerpo es monoclonal y/o se encuentra marcado con un fluorocromo. Preferiblemente, el flurocromo se selecciona de la lista que comprende Fluoresceína (FITC), Tetrametilrodamina y

derivados, Ficoeritrina (PE), PerCP, Cy5, Texas, aloficocianina, o cualquiera de sus combinaciones.

En una realización preferida, el sexto kit o dispositivo de la invención comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y/o *HLA-DPB1*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 31 (HLA-A), SEQ ID NO: 25 (HLA-B), SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 35 (HLA-DRB1), SEQ ID NO: 17 (HLA-DQA1), SEQ ID NO: 37 (HLA-DQB1), SEQ ID NO: 39 (HLA-DQB1), SEQ ID NO: 41 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 43 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 45 (HLA-DPA1) y/o SEQ ID NO: 47 (HLA-DPB1).

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 31 (HLA-A), SEQ ID NO: 25 (HLA-B), SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 35 (HLA-DRB1), SEQ ID NO: 17 (HLA-DQA1), SEQ ID NO: 37 (HLA-DQB1), SEQ ID NO: 39 (HLA-DQB1), SEQ ID NO: 41 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 43 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 45 (HLA-DPA1) y/o SEQ ID NO: 47 (HLA-DPB1).

- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 32 (HLA-A), SEQ ID NO: 26 (HLA-B), SEQ ID NO: 2 (HLA-C), SEQ ID NO: 36 (HLA-DRB1), SEQ ID NO: 18 (HLA-DQA1), SEQ ID NO: 38 (HLA-DQB1), SEQ ID NO: 40 (HLA-DQB1), SEQ ID NO: 42 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 44 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 46 (HLA-DPA1) y/o SEQ ID NO: 48 (HLA-DPB1).

El sexto kit de la invención puede incluir controles positivos y/o negativos. El kit además puede contener, sin ningún tipo de limitación, tampones, soluciones de extracción de proteínas, agentes para prevenir la contaminación, inhibidores de la degradación de las proteínas, etc.

Por otro lado el kit puede incluir todos los soportes y recipientes necesarios para su puesta en marcha y optimización. Preferiblemente, el kit comprende además las instrucciones para llevar a cabo los métodos de la invención.

Es también posible que el(los) oligonucleótido(s) estén inmovilizados en manchas sobre una superficie (preferiblemente sólida). En una de sus realizaciones, el kit comprende una micromatriz, o micromatriz de la invención. Por tanto, otro aspecto de la invención se refiere a una micromatriz que comprende oligonucleótidos diseñados a partir de una secuencia conocida o un ARNm de los genes, y/o capaces de hibridar con la secuencias de los genes *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y *HLA-DPB1*. Más preferiblemente las secuencias de los genes *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y/o *HLA-DPB1* son las secuencias nucleotídicas indicadas para cada gen en la tabla 1.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, los cebadores, sondas o anticuerpos están modificados o marcados, por ejemplo, pero sin limitarnos, mediante un marcaje radiactivo o inmunológico.

Un **vigesimoquinto aspecto** de la invención se refiere al uso del sexto kit o dispositivo de la invención para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) cronifique la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical.

Los genes *HLA-A*, *HLA-B y HLA-C* pertenecen al complejo mayor de histocompatibilidad de clase I de cadena pesada. Estas moléculas son heterodímeros que consiste en una cadena pesada y una cadena ligera (beta-2-microglobulina). La cadena pesada está anclada en la membrana. Las moléculas de clase I juegan un papel central en el sistema inmunológico mediante la presentación de péptidos derivados de lumen del retículo endoplásmico. Se expresan en casi todas las células. La cadena pesada es de aproximadamente 45 kDa y su gen contiene 8 exones. El exon uno codifica el dominio del péptido líder, los exones 2 y 3 codifican los dominios alfa1 y alfa2, ambos se unen al péptido, el exón 4 codifica el dominio alfa 3, el exón 5 codifica la región transmembrana, y los exones 6 y 7 codifican la cola citoplásmica. Los polimorfismos en el exón 2 y el exón 3 son responsables de la especificidad de unión de péptidos de cada clase de una molécula. El estudio de los polimorfismos de estos genes se realiza de forma rutinaria para la médula ósea y el trasplante de riñón. Se han descrito más de un centenar de alelos *HLA-A*, *HLA-B y HLA-C*.

Los genes HLA-DQA1, HLA-DQB1, pertenecen a los HLA de clase II de cadena alfa y beta. La molécula de clase II es un heterodímero que consiste en un alfa (DQA) y una cadena beta (DQB), ambas ancladas en la membrana. Desempeña un papel central en el sistema inmunológico mediante la presentación de péptidos derivados de proteínas extracelulares. Las moléculas de clase II se expresan en células presentadoras de antígeno (APC: B linfocitos, células dendríticas, macrófagos). La cadena alfa es de aproximadamente 33-35 kDa. Está codificado por los exones 5; el exón 1 codifica el péptido líder, los exones 2 y 3 codifican los dos dominios extracelulares, y el exón 4 codifica el dominio transmembrana y la cola

citoplásmica. Dentro de la molécula de DQ, tanto la cadena alfa y la cadena beta contienen los polimorfismos que especifican las especificidades de unión de péptidos, lo que resulta en hasta cuatro moléculas diferentes. La determinación de estos polimorfismos se realiza de forma rutinaria para el trasplante de médula ósea.

HLA-DRB1 pertenece a los HLA de clase II de la cadena beta. La molécula de clase II es un heterodímero que consiste en un alfa (DRA) y una cadena beta (DRB), ambas anclada sen la membrana. Desempeña un papel central en el sistema inmunológico mediante la presentación de péptidos derivados de proteínas extracelulares. Las moléculas de clase II se expresan en células presentadoras de antígenos (APC: los linfocitos B, células dendríticas, macrófagos). La cadena beta es de aproximadamente 26-28 kDa. Se está codificada por 6 exones. Exon uno codifica el péptido líder; los exones 2 y 3 codifican los dos dominios extracelulares; exón 4 codifica el dominio transmembrana; y el exón 5 codifica la cola citoplásmica. Dentro de la molécula DR la cadena beta contiene todos los polimorfismos que especifican las especificidades de unión de péptidos. Cientos de alelos DRB1 se han descrito y tipificación de estos polimorfismos se realiza de forma rutinaria para la médula ósea y el trasplante de riñón. DRB1 se expresa a un nivel cinco veces más alto que sus paralogs DRB3, DRB4 y DRB5. DRB1 está presente en todos los individuos. Las variantes alélicas de DRB1 están vinculados ya sea con ninguno o uno de los genes DRB3, DRB4 y DRB5. Hay 4 pseudogenes relacionadas: DRB2, DRB6, DRB7, DRB8 y DRB9.

HLA-DPA1 y HLA-DPB1 pertenecen a los HLA de clase II cadena alfa y beta. Esta molécula de clase II es un heterodímero que consiste en un alfa (DPA) y una cadena beta (DPB), ambas ancladas en la membrana. Desempeña un papel central en el sistema inmunológico mediante la presentación de péptidos derivados de proteínas extracelulares. Las moléculas de clase II se expresan en células presentadoras de antígenos (APC: los linfocitos B, células dendríticas, macrófagos). La cadena alfa es de aproximadamente 33-35 kDa y su gen contiene 5 exones. Exon uno codifica el péptido líder, los exones 2 y 3 codifican los dos dominios extracelulares, el exón 4 codifica el dominio transmembrana y la cola citoplásmica. Dentro de la molécula DP tanto la cadena alfa y la cadena beta contienen los polimorfismos que especifican las especificidades de unión de péptidos, lo que resulta en un máximo de 4 moléculas diferentes

Los genes *KIR* pertenecen a los receptores de tipo inmunoglobulina de las células asesinas (KIR), son glicoproteínas transmembranales expresadas por células y subconjuntos de células T asesinas naturales. Los genes KIR son polimórficos y altamente homólogos y se encuentran en un grupo en el cromosoma 19q13.4 en el complejo receptor de leucocitos 1 Mb (LRC). El contenido de genes de la agrupación de genes KIR varía entre los haplotipos, aunque varios genes "marco" se encuentran en todos los haplotipos (KIR3DL3, KIR3DP1, KIR3DL4, KIR3DL2). Las proteínas KIR se clasifican por el número de dominios de inmunoglobulina

extracelulares (2D o 3D) y por si tienen un dominio citoplásmico largo (L) o corto (S). Las proteínas KIR con el dominio citoplásmico largo transducen señales inhibidoras tras la unión a través de un motivo inhibidor basado en un ligando tirosina inmune (ITIM), mientras que las proteínas KIR con el dominio citoplásmico corto carecen del motivo ITIM y en lugar de asociarse con la proteína tirosina quinasa TYRO proteína de unión para transducir señales de activación. Los ligandos para varias proteínas KIR son subconjuntos de moléculas HLA de clase I; por lo tanto, se cree que las proteínas KIR desempeñan un papel importante en la regulación de la respuesta inmune.

Tabla 1. Secuencias de la invención

Nombre del Gen	Descripción	Gen ID	Secuencias nucleotídicas	Secuencias aminoacídicas
HLA-C	Complejo mayor de histocompatibilidad, Clase I, C	3107	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 2
KIR2DL2	Receptor KIR de 2 dominios y de cola citoplasmática larga,2	3803	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 4
KIR2DL3	Receptor KIR de 2 dominios y de cola citoplasmática larga, 3	3804	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6
KIR2DL1	Receptor KIR de 2 dominios y de cola citoplasmática larga, 1	3802	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8
KIR2DS4	Receptor KIR de 2 dominios y de cola citoplasmática corta, 4	3809	SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14
KIR2DS3	Receptor KIR de 2 dominios y de cola citoplasmática corta, 3	3808	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 16
HLA-DQA1	Complejo mayor de histocompatibilidad, Clase II, DQ alpha 1	3117	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 18
KIR2DS1	Receptor KIR de 2 dominios y de cola citoplasmática corta, 1	3806	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 20
KIR3DS1	Receptor KIR de 3 dominios y de cola citoplasmática corta, 1	3813	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 22
KIR3DL1	Receptor KIR de 3	3811	SEQ ID NO: 23	SEQ ID NO: 24

	dominios y de cola citoplasmática larga, 1			
HLA-B	Complejo mayor de histocompatibilidad, Clase I, B	3106	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 26
HLA-DQB3	Complejo mayor de histocompatibilidad, Clase II, DQ beta 3	3121	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 28
HLA-A	Complejo mayor de histocompatibilidad, Clase I, A	3105	SEQ ID NO: 31	SEQ ID NO: 32
HLA-DRB1	Complejo mayor de histocompatibilidad, Clase II, DR beta 1	3123	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 36
HLA-DQB1	Complejo mayor de histocompatibilidad, Clase II, DQ beta 1	3119	SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40
HLA-DPA1	Complejo mayor de histocompatibilidad, Clase II, DP alfa 1	3113	SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45	SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46
HLA-DPB1	Complejo mayor de histocompatibilidad, Clase II, DP beta 1	3115	SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 48

SEQ ID NO: 1:

TCCGCAGTCCCGGTTCTAAAGTCCCCAGTCACCCACCCGGACTCACATTCTCCCCAGA
GGCCGAGATGCGGGTCATGGCGCCCCGAGCCCTCCTCCTGCTGCTCTCGGGAGGCCT
GGCCCTGACCGAGACCTGGGCCTGCTCCCACTCCATGAGGTATTTCGACACCGCCGTGTC
CCGGCCCGGCCGCGGAGAGCCCCGCTTCATCTCAGTGGGCTACGTGGACGACACG
CAGTTCGTGCGGTTCGACAGCGACGCCGCGAGTCCGAGAGGGGAGCCGCGGGCGCC
GTGGGTGGAGCAGGAGGGGCCGGAGTATTGGGACCGGGAGACACAGAAGTACAAGCG
CCAGGCACAGGCTGACCGAGTGAGCCTGCGGAACCTGCGCGGCTACTACAACCAGAG
CGAGGACGGGTCTCACACCCTCCAGAGGATGTCTGGCTGCGACCTGGGGCCCGACGGGC
GCCTCCTCCGCGGGTATGACCAGTCCGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTG
AACGAGGACCTGCGCTCCTGGACCGCCGCGGACACCGCGGCTCAGATCACCCAGCGC
AAGTTGGAGGCGGCCCGTGCGGCGGAGCAGCTGAGAGCCTACCTGGAGGGCACGTGC
GTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCGCAGAA
CCCCCAAAGACACACGTGACCCACCACCCCCTCTCTGACCATGAGGCCACCCTGAGGTGC
TGGGCCCTGGGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGG
AGGACCAGACCCAGGACACCGAGCTTGTGGAGACCAGGCCAGCAGGAGATGGAACCT
TCCAGAAGTGGGCAGCTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAAGAGCAGAGATACACGTGCCA
TATGCAGCACGAGGGGCTGCAAGAGCCCCTCACCCTGAGCTGGGAGCCATCTTCCCAG
CCCACCATCCCCATCATGGGCATCGTTGCTGGCCTGGCTGTCCTGGTTGTCCTAGCTGTC
CTTGGAGCTGTGGTCACCGCTATGATGTGTAGGAGGAAGAGCTCAGGTGGAAAAGGA
GGGAGCTGCTCTCAGGCTGCGTGCAGCAACAGTGCCCAGGGCTCTGATGAGTCTCTCA
TCACTTGTAAAGCCTGAGACAGCTGCCTGTGTGGGACTGAGATGCAGGATTTCTTCACA
CCTCTCCTTTGTGACTTCAAGAGCCTCTGGCATCTCTTTCTGCAAAGGCACCTGAATGT
GTCTGCGTTCCTGTTAGCATAATGTGAGGAGGTGGAGAGACAGCCCACCCCCGTGTCCAC
CGTGACCCCTGTCCCCACACTGACCTGTGTTCCCTCCCCGATCATCTTTCCTGTTCC
AGAGAGGTGGGGCTGGATGTCTCCATCTCTGTCTCAAATTCATGGTGCACTGAGCTGCA
ACTTCTTACTTCCCTAATGAAGTTAAGAACCTGAATATAAATTTGTGTTCTCAAATATTTG
CTATGAAGCGTTGATGGATTAATTAAATAAGTCAATTCCTAGAAGTTGAGAGAGCAAATA
AAGACCTGAGAACCTTCCAGAA

SEQ ID NO: 2:

MRVMAPRALLLLLSGGLALTETWACSHSMRYFDTAVSRPGRGEPRFISVGYVDDTQFVRF
DSDAASPRGEPRAPWVEQEGPEYWDRETQKYKRQAQADRVSLRNLRGYYNQSEDGSHT
LQRMSGCDLGPDGRLLRGYDQSAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAE
QLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITL
TWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHMQHEGLQEPLTLS
WEPSSQPTIPIMGIVAGLAVLVVLAVLGAVVTAMMCRRKSSGGKGGSCSQAACSNSAQGS
DESLITCKA

SEQ ID NO: 3:

CGCGGCCGCCTGTCTGCACAGACAGCACCATGTCGCTCATGGTCGTCAGCATGGCGTG
TGTTGGGTTCTTCTTGCTGCAGGGGGCCTGGCCACATGAGGGAGTCCACAGAAAACCT
TCCCTCCTGGCCCACCCAGGTCGCCTGGTGAAATCAGAAGAGACAGTCATCCTGCAAT
GTTGGTCAGATGTCAGGTTTGAGCACTTCCTTCTGCACAGAGAAGGGAAGTTTAAGGAC
ACTTTGCACCTCATTGGAGAGCACCATGATGGGGTCTCCAAAGCCAACTTCTCCATCGG
TCCCATGATGCAAGACCTTGCAGGGACCTACAGATGCTACGGTTCTGTTACTCACTCCC
CCTATCAGTTGTCAGCTCCCAGTGACCCTCTGGACATCGTCATCACAGGTCTATATGAG
AAACCTTCTCTCTCAGCCCAGCCGGGCCCCACGGTTCTGGCAGGAGAGAGCGTGACCT
TGTCCTGCAGCTCCCGGAGCTCCTATGACATGTACCATCTATCCAGGGAGGGGGAGGC
CCATGAATGTAGGTTCTCTGCAGGGCCCAAGGTCAACGGAACATTCCAGGCCGACTTTC
CTCTGGGCCCTGCCACCCACGGAGGAACCTACAGATGCTTCGGCTCTTTCCGTGACTC
TCCATACGAGTGGTCAAACTCGAGTGACCCACTGCTTGTTTCTGTCACAGGAAACCCTT

CAAATAGTTGGCCTTCACCCACTGAACCAAGCTCTAAAACCGGTAACCCCCGACACCTG
CACATTCTGATTGGGACCTCAGTGGTCATCATCCTCTTCATCCTCCTCTTCTTTCTCCTT
CATCGCTGGTGCTCCAACAAAAAAAATGCTGCGGTAATGGACCAAGAGTCTGCAGGGA
ACAGAACAGCGAATAGCGAGGACTCTGATGAACAAGACCCTCAGGAGGTGACATACAC
ACAGTTGAATCACTGCGTTTTCACACAGAGAAAAATCACTCGCCCTTCTCAGAGGCCCA
AGACACCCCCAACAGATATCATCGTGTACACGGAACTTCCAAATGCTGAGTCCAGATCC
AAAGTTGTCTCCTGCCCATGAGCACCACAGTCAGGCCTTGAGGGCGTCTTCTAGGGAG
ACAACAGCCCTGTCTCAAAACCGGGTTGCCAGCTCCCATGTACCAGCAGCTGGAATCT
GAAGGCATGAGTCTGCATCTTAGGGCATCGCTCTTCCTCACACCACAAATCTGAATGTG
CCTCTCACTTGCTTACAAATGTCTAAGGTCCCCACTGCCTGCTGGAGAAAAAACACACT
CCTTTGCTTAGCCCACAGTTCTCCATTTCACTTGACCCCTGCCCACCTCTCCAACCTAAC
TGGCTTACTTCCTAGTCTACTTGAGGCTGCAATCACACTGAGGAACTCACAATTCCAAAC
ATACAAGAGGCTCCCTCTTAACGCAGCACTTAGACACGTGTTGTTCCACCTTCCCTCAT
GCTGTTCCACCTCCCCTCAGACTAGCTTTCAGTCTTCTGTCAGCAGTAAAACTTATATAT
TTTTTAAAATAACTTCAATGTAGTTTTCCATCCTTCAAATAAACATGTCTGCCCCCATG

SEQ ID NO: 4:

MSLMVVSMACVGFFLLQGAWPHEGVHRKPSLLAHPGRLVKSEETVILQCWSDVRFEHFLL
HREGKFKDTLHLIGEHHDGVSKANFSIGPMMQDLAGTYRCYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIVI
GLYEKPSLSAQPGPTVLAGESVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHECRFSAGPKVNGTFQ
ADFPLGPATHGGTYRCFGSFRDSPYEWSNSSDPLLVSVTGNPSNSWPSPTEPSSKTGNPR
HLHILIGTSVVIILFILLFFLLHRWCSNKKNAAVMDQESAGNRTANSEDSDEQDPQEVTYTQL
NHCVFTQRKITRPSQRPKTPPTDIIVYTELPNAESRSKVVSCP

SEQ ID NO: 5:

AGCTGGGGCGCGGCCGCCTGTCTGCACAGACAGCACCATGTCGCTCATGGTCGTCAG
CATGGTGTGTGTTGGGTTCTTCTTGCTGCAGGGGGCCTGGCCACATGAGGGAGTCCAC
AGAAAACCTTCCCTCCTGGCCCACCCAGGTCCCCTGGTGAAATCAGAAGAGACAGTCAT
CCTGCAATGTTGGTCAGATGTCAGGTTTCAGCACTTCCTTCTGCACAGAGAAGGGAAGT
TTAAGGACACTTTGCACCTCATTGGAGAGCACCATGATGGGGTCTCCAAGGCCAACTTC
TCCATCGGTCCCATGATGCAAGACCTTGCAGGGACCTACAGATGCTACGGTTCTGTTAC
TCACTCCCCCTATCAGTTGTCAGCTCCCAGTGACCCTCTGGACATCGTCATCACAGGTC
TATATGAGAAACCTTCTCTCTCAGCCCAGCCGGGCCCCACGGTTCTGGCAGGAGAGAG
CGTGACCTTGTCCTGCAGCTCCCGGAGCTCCTATGACATGTACCATCTATCCAGGGAG
GGGGAGGCCCATGAACGTAGGTTCTCTGCAGGGCCCAAGGTCAACGGAACATTCCAGG
CCGACTTTCCTCTGGGCCCTGCCACCCACGGAGGAACCTACAGATGCTTCGGCTCTTT
CCGTGACTCTCCATACGAGTGGTCAAACTCGAGTGACCCACTGCTTGTTTCTGTCACAG
GAAACCCTTCAAATAGTTGGCCTTCACCCACTGAACCAAGCTCCGAAACCGGTAACCCC
AGACACCTGCATGTTCTGATTGGGACCTCAGTGGTCATCATCCTCTTCATCCTCCTCCTC
TTCTTTCTCCTTCATCGCTGGTGCTGCAACAAAAAAAATGCTGTTGTAATGGACCAAGAG
CCTGCAGGGAACAGAACAGTGAACAGGGAGGACTCTGATGAACAAGACCCTCAGGAGG
TGACATATGCACAGTTGAATCACTGCGTTTTCACACAGAGAAAAATCACTCGCCCTTCTC
AGAGGCCCAAGACACCCCCAACAGATATCATCGTGTACACGGAACTTCCAAATGCTGAG
CCCTGATCCAAAGTTGTCTCCTGCCCATGAGCACCACAGTCAGGCCTTGAGGGGATCTT
CTAGGGAGACAACAGCCCTGTCTCAAAACTGGGTTGCCAGCTCCAATGTACCAGCAGC
TGGAATCTGAAGGCGTGAGTCTGCATCTTAGGGCATCGCTCTTCCTCACACCACAAATC
TGAACGTGCCTCTCCCTTGCTTACAAATGTCTAAGGTCCCCACTGCCTGCTGGAGAGAA
AACACACTCCTTTGCTTAGCCCACAATTCTCCATTTCACTTGACCCCTGCCCACCTCTCC
AACCTAACTGGCTTACTTCCTAGTCTACTTGAGGCTGCAATCACACTGAGGAACTCACAA
TTCCAAACATACAAGAGGCTCCCTCTTAACACGGCACTTAGACACGTGCTGTTCCACCT
TCCCTCATGCTGTTCCACCTCCCCTCAGACTAGCTTTCAGCCTTCTGTCAGCAGTAAAAC
TTATATATTTTTTAAAATAATTTCAATGTAGTTTTCCCTCCTTCAAATAAACATGTCTGCCC
TCA

SEQ ID NO: 6:

MSLMVVSMVCVGFFLLQGAWPHEGVHRKPSLLAHPGPLVKSEETVILQCWSDVRFQHFLL
HREGKFKDTLHLIGEHHDGVSKANFSIGPMMQDLAGTYRCYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIVI
TGLYEKPSLSAQPGPTVLAGESVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHERRFSAGPKVNGTFQ
ADFPLGPATHGGTYRCFGSFRDSPYEWSNSSDPLLVSVTGNPSNSWPSPTEPSSETGNPR
HLHVLIGTSVVIILFILLLFFLLHRWCCNKKNAVVMDQEPAGNRTVNREDSDEQDPQEVTYA
QLNHCVFTQRKITRPSQRPKTPPTDIIVYTELPNAEP

SEQ ID NO: 7:

GAGCTCGGTCGCGGCTGCCTGTCTGCTCCGGCAGCACCATGTCGCTCTTGGTCGTCAG
CATGGCGTGTGTTGGGTTCTTCTTGCTGCAGGGGGCCTGGCCACATGAGGGAGTCCAC
AGAAAACCTTCCCTCCTGGCCCACCCAGGTCGCCTGGTGAAATCAGAAGAGACAGTCA
TCCTGCAGTGTTGGTCAGATGTCATGTTTGAACACTTCCTTCTGCACAGAGAGGGGATG
TTTAACGACACTTTGCGCCTCATTGGAGAACACCATGATGGGGTCTCCAAGGCCAACTT
CTCCATCAGTCGCATGACGCAAGACCTGGCAGGGACCTACAGATGCTACGGTTCTGTTA
CTCACTCCCCCTATCAGGTGTCAGCTCCCAGTGACCCTCTGGACATCGTGATCATAGGT
CTATATGAGAAACCTTCTCTCTCAGCCCAGCTGGGCCCCACGGTTCTGGCAGGAGAGA
ATGTGACCTTGTCCTGCAGCTCCCGGAGCTCCTATGACATGTACCATCTATCCAGGGAA
GGGGAGGCCCATGAACGTAGGCTCCCTGCAGGGCCCAAGGTCAACGGAACATTCCAG
GCTGACTTTCCTCTGGGCCCTGCCACCCACGGAGGGACCTACAGATGCTTCGGCTCTT
TCCATGACTCTCCATACGAGTGGTCAAAGTCAAGTGACCCACTGCTTGTTTCTGTCACA
GGAAACCCTTCAAATAGTTGGCCTTCACCCACTGAACCAAGCTCCAAAACCGGTAACCC
CCGACACCTGCACATTCTGATTGGGACCTCAGTGGTCATCATCCTCTTCATCCTCCTCTT
CTTTCTCCTTCATCGCTGGTGCTCCAACAAAAAAAATGCTGCGGTAATGGACCAAGAGT
CTGCAGGAAACAGAACAGCGAATAGCGAGGACTCTGATGAACAAGACCCTCAGGAGGT
GACATACACACAGTTGAATCACTGCGTTTTCACACAGAGAAAAATCACTCGCCCTTCTCA
GAGGCCCAAGACACCCCCAACAGATATCATCGTGTACACGGAACTTCCAAATGCTGAGT
CCAGATCCAAAGTTGTCTCCTGCCCATGAGCACCACAGTCAGGCCTTGAGGGCGTCTT
CTAGGGAGACAACAGCCCTGTCTCAAAACCGGGTTGCCAGCTCCCATGTACCAGCAGC
TGGAATCTGAAGGCGTGAGTCTGCATCTTAGGGCATCGATCTTCCTCACACCACAAATC
TGAATGTGCCTCTCTCTTGCTTACAAATGTCTAAGGTCCCCACTGCCTGCTGGAGAAAA
AACACACTCCTTTGCTTAACCCACAGTTCTCCATTTCACTTGACCCCTGCCCACCTCTCC
AACCTAACTGGCTTACTTCCTAGTCTACTTGAGGCTGCAATCACACTGAGGAACTCACAA
TTCCAAACATACAAGAGGCTCCCTCTTAACGCAGCACTTAGACACGTGTTGTTCCACCTT
CCCTCATGCTGTTCCACCTCCCCTCAGACTAGCTTTCAGTCTTCTGTCAGCAGTAAAACT
TATATATTTTTTAAAATAACTTCAATGTAGTTTTCCATCCTTCAAATAAACATGTCTGCCCC
CATGGT

SEQ ID NO: 8:

MSLLVVSMACVGFFLLQGAWPHEGVHRKPSLLAHPGRLVKSEETVILQCWSDVMFEHFLLH
REGMFNDTLRLIGEHHDGVSKANFSISRMTQDLAGTYRCYGSVTHSPYQVSAPSDPLDIVII
GLYEKPSLSAQLGPTVLAGENVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHERRLPAGPKVNGTFQA
DFPLGPATHGGTYRCFGSFHDSPYEWSKSSDPLLVSVTGNPSNSWPSPTEPSSKTGNPRH
LHILIGTSVVIILFILLFFLLHRWCSNKKNAAVMDQESAGNRTANSEDSDEQDPQEVTYTQLN
HCVFTQRKITRPSQRPKTPPTDIIVYTELPNAESRSKVVSCP

SEQ ID NO: 9:

TGTAAACTGCATGGGCAGGGCGCCAAATAACATCCTGTGCGCTGCTGAGCTGAGCTGG

GGCGCGGCCGCCTGTCTGCACCGGCAGCACCATGTCGCTCATGGTCATCATCATGGCG
TGTGTTGGGTTCTTCTTGCTGCAGGGGGCCTGGCCACAGGAGGGAGTCCACAGAAAAC
CTTCCTTCCTGGCCCTCCCAGGTCACCTGGTGAAATCAGAAGAGACAGTCATCCTGCAA
TGTTGGTCGGATGTCATGTTTGAGCACTTCCTTCTGCACAGAGAGGGGAAGTTTAACAA
CACTTTGCACCTCATTGGAGAGCACCATGATGGGGTTTCCAAGGCCAACTTCTCCATTG
GTCCCATGATGCCTGTCCTTGCAGGAACCTACAGATGCTACGGTTCTGTTCCTCACTCC
CCCTATCAGTTGTCAGCTCCCAGTGACCCTCTGGACATGGTGATCATAGGTCTATATGA
GAAACCTTCTCTCTCAGCCCAGCCGGGCCCCACGGTTCAGGCAGGAGAGAATGTGACC
TTGTCCTGCAGCTCCCGGAGCTCCTATGACATGTACCATCTATCCAGGGAAGGGGAGG
CCCATGAACGTAGGCTCCCTGCAGTGCGCAGCATCAACGGAACATTCCAGGCCGACTT
TCCTCTGGGCCCTGCCACCCACGGAGGGACCTACAGATGCTTCGGCTCTTTCCGTGAC
GCTCCCTACGAGTGGTCAAACTCGAGTGATCCACTGCTTGTTTCCGTCACAGGAAACCC
TTCAAATAGTTGGCCTTCACCCACTGAACCAAGCTCCAAAACCGGTAACCCCAGACACC
TACATGTTCTGATTGGGACCTCAGTGGTCAAAATCCCTTTCACCATCCTCCTCTTCTTTC
TCCTTCATCGCTGGTGCTCCGACAAAAAAAATGCTGCTGTAATGGACCAAGAGCCTGCA
GGGAACAGAACAGTGAACAGCGAGGATTCTGATGAACAAGACCATCAGGAGGTGTCAT
ACGCATAATTGGATCACTGTGTTTTCACACAGAGAAAAATCACTCGCCCTTCTGAGAGG
CCCAAGACACCCCCAACAGATACCAGCATGTACATAGAACTTCCAAATGCTGAGCCCAG
ATCCAAAGTTGTCTTCTGTCCACGAGCACCACAGTCAGGCCTTGAGGGGATCTTCTAGG
GAGACAACAGCCCTGTCTCAAAACCGGGTTGCCAGCTCCCATGTACCAGCAGCTGGAA
TCTGAAGGCATCAGTCTTCATCTTAGGGCATCGCTCTTCCTCACACCACGAATCTGAAC
ATGCCTCTCTCTTGCTTACAAATGTCTAAGGTCCCCACTGCCTGCTGGAGAGAAAACAC
ACTCCTTTGCTTAGCCCACAATTCTCCATTTCACTTGACCCCTGCCCACCTCTCCAACCT
AACTGGCTTACTTCCTAGTCTACCTGAGGCTGCAATCACACTGAGGAACTCACAATTCC
AAACATACAAGAGGCTGCCTCTTAACACAGCACTTAGACACGTGCTGTTCCACCTCCCT
TCAGACTATCTTTCAGCCTTCTGCCAGCAGTAAAACTTATAAATTTTTTAAATAATTTCAAT
GTAGTTTTCCCGCCTTCAAATAAACATGTCTGCCCTCATGG

SEQ ID NO: 10:

MSLMVIIMACVGFFLLQGAWPQEGVHRKPSFLALPGHLVKSEETVILQCWSDVMFEHFLLH
REGKFNNTLHLIGEHHDGVSKANFSIGPMMPVLAGTYRCYGSVPHSPYQLSAPSDPLDMVII
GLYEKPSLSAQPGPTVQAGENVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHERRLPAVRSINGTFQA
DFPLGPATHGGTYRCFGSFRDAPYEWSNSSDPLLVSVTGNPSNSWPSPTEPSSKTGNPRH
LHVLIGTSVVKIPFTILLFFLLHRWCSDKKNAAVMDQEPAGNRTVNSEDSDEQDHQEVSYA

SEQ ID NO: 11:

TGTAAACTGCATGGGCAGGGCGCCAAATAACATCCTGTGCGCTGCTGAGCTGAGCTGG
GGCGCGGCCGCCTGTCTGCACCGGCAGCACCATGTCGCTCATGGTCATCATCATGGCG
TGTGTTGGGTTCTTCTTGCTGCAGGGGGCCTGGCCACAGGAGGGAGTCCACAGAAAAC
CTTCCTTCCTGGCCCTCCCAGGTCACCTGGTGAAATCAGAAGAGACAGTCATCCTGCAA
TGTTGGTCGGATGTCATGTTTGAGCACTTCCTTCTGCACAGAGAGGGGAAGTTTAACAA
CACTTTGCACCTCATTGGAGAGCACCATGATGGGGTTTCCAAGGCCAACTTCTCCATTG
GTCCCATGATGCCTGTCCTTGCAGGAACCTACAGATGCTACGGTTCTGTTCCTCACTCC
CCCTATCAGTTGTCAGCTCCCAGTGACCCTCTGGACATGGTGATCATAGGTCTATATGA
GAAACCTTCTCTCTCAGCCCAGCCGGGCCCCACGGTTCAGGCAGGAGAGAATGTGACC
TTGTCCTGCAGCTCCATCTATCCAGGGAAGGGGAGGCCCATGAACGTAGGCTCCCTGC
AGTGCGCAGCATCAACGGAACATTCCAGGCCGACTTTCCTCTGGGCCCTGCCACCCAC
GGAGGGACCTACAGATGCTTCGGCTCTTTCCGTGACGCTCCCTACGAGTGGTCAAACT
CGAGTGATCCACTGCTTGTTTCCGTCACAGGAAACCCTTCAAATAGTTGGCCTTCACCC
ACTGAACCAAGCTCCAAAACCGGTAACCCCAGACACCTACATGTTCTGATTGGGACCTC
AGTGGTCAAAATCCCTTTCACCATCCTCCTCTTCTTTCTCCTTCATCGCTGGTGCTCCGA
CAAAAAAAATGCTGCTGTAATGGACCAAGAGCCTGCAGGGAACAGAACAGTGAACAGC
GAGGATTCTGATGAACAAGACCATCAGGAGGTGTCATACGCATAATTGGATCACTGTGT

TTTCACACAGAGAAAAATCACTCGCCCTTCTGAGAGGCCCAAGACACCCCCAACAGATA
CCAGCATGTACATAGAACTTCCAAATGCTGAGCCCAGATCCAAAGTTGTCTTCTGTCCA
CGAGCACCACAGTCAGGCCTTGAGGGGATCTTCTAGGGAGACAACAGCCCTGTCTCAA
AACCGGGTTGCCAGCTCCCATGTACCAGCAGCTGGAATCTGAAGGCATCAGTCTTCATC
TTAGGGCATCGCTCTTCCTCACACCACGAATCTGAACATGCCTCTCTCTTGCTTACAAAT
GTCTAAGGTCCCCACTGCCTGCTGGAGAGAAAACACACTCCTTTGCTTAGCCCACAATT
CTCCATTTCACTTGACCCCTGCCCACCTCTCCAACCTAACTGGCTTACTTCCTAGTCTAC
CTGAGGCTGCAATCACACTGAGGAACTCACAATTCCAAACATACAAGAGGCTGCCTCTT
AACACAGCACTTAGACACGTGCTGTTCCACCTCCCTTCAGACTATCTTTCAGCCTTCTGC
CAGCAGTAAAACTTATAAATTTTTTAAATAATTTCAATGTAGTTTTCCCGCCTTCAAATAAA
CATGTCTGCCCTCATGG

SEQ ID NO: 12:

MSLMVIIMACVGFFLLQGAWPQEGVHRKPSFLALPGHLVKSEETVILQCWSDVMFEHFLLH
REGKFNNTLHLIGEHHDGVSKANFSIGPMMPVLAGTYRCYGSVPHSPYQLSAPSDPLDMVII
GLYEKPSLSAQPGPTVQAGENVTLSCSSIYPGKGRPMNVGSLQCAASTEHSRPTFLWALPP
TEGPTDASALSVTLPTSGQTRVIHCLFPSQETLQIVGLHPLNQAPKPVTPDTYMF

SEQ ID NO: 13:

TGTAAACTGCATGGGCAGGGCGCCAAATAACATCCTGTGCGCTGCTGAGCTGAGCTGG
GGCGCGGCCGCCTGTCTGCACCGGCAGCACCATGTCGCTCATGGTCATCATCATGGCG
TGTGTTGGGTTCTTCTTGCTGCAGGGGGCCTGGCCACAGGAGGGAGTCCACAGAAAAC
CTTCCTTCCTGGCCCTCCCAGGTCACCTGGTGAAATCAGAAGAGACAGTCATCCTGCAA
TGTTGGTCGGATGTCATGTTTGAGCACTTCCTTCTGCACAGAGAGGGGAAGTTTAACAA
CACTTTGCACCTCATTGGAGAGCACCATGATGGGGTTTCCAAGGCCAACTTCTCCATTG
GTCCCATGATGCCTGTCCTTGCAGGAACCTACAGATGCTACGGTTCTGTTCCTCACTCC
CCCTATCAGTTGTCAGCTCCCAGTGACCCTCTGGACATGGTGATCATAGGTCTATATGA
GAAACCTTCTCTCTCAGCCCAGCCGGGCCCCACGGTTCAGGCAGGAGAGAATGTGACC
TTGTCCTGCAGCTCCATCTATCCAGGGAAGGGGAGGCCCATGAACGTAGGCTCCCTGC
AGTGCGCAGCATCAACGGAACATTCCAGGCCGACTTTCCTCTGGGCCCTGCCACCCAC
GGAGGGACCTACAGATGCTTCGGCTCTTTCCGTGACGCTCCCTACGAGTGGTCAAACT
CGAGTGATCCACTGCTTGTTTCCGTCACAGGTAACCCCAGACACCTACATGTTCTGATT
GGGACCTCAGTGGTCAAAATCCCTTTCACCATCCTCCTCTTCTTTCTCCTTCATCGCTGG
TGCTCCGACAAAAAAAATGCTGCTGTAATGGACCAAGAGCCTGCAGGGAACAGAACAGT
GAACAGCGAGGATTCTGATGAACAAGACCATCAGGAGGTGTCATACGCATAATTGGATC
ACTGTGTTTTCACACAGAGAAAAATCACTCGCCCTTCTGAGAGGCCCAAGACACCCCCA
ACAGATACCAGCATGTACATAGAACTTCCAAATGCTGAGCCCAGATCCAAAGTTGTCTTC
TGTCCACGAGCACCACAGTCAGGCCTTGAGGGGATCTTCTAGGGAGACAACAGCCCTG
TCTCAAAACCGGGTTGCCAGCTCCCATGTACCAGCAGCTGGAATCTGAAGGCATCAGTC
TTCATCTTAGGGCATCGCTCTTCCTCACACCACGAATCTGAACATGCCTCTCTCTTGCTT
ACAAATGTCTAAGGTCCCCACTGCCTGCTGGAGAGAAAACACACTCCTTTGCTTAGCCC
ACAATTCTCCATTTCACTTGACCCCTGCCCACCTCTCCAACCTAACTGGCTTACTTCCTA
GTCTACCTGAGGCTGCAATCACACTGAGGAACTCACAATTCCAAACATACAAGAGGCTG
CCTCTTAACACAGCACTTAGACACGTGCTGTTCCACCTCCCTTCAGACTATCTTTCAGCC
TTCTGCCAGCAGTAAAACTTATAAATTTTTTAAATAATTTCAATGTAGTTTTCCCGCCTTC
AAATAAACATGTCTGCCCTCATGG

SEQ ID NO: 14:

MSLMVIIMACVGFFLLQGAWPQEGVHRKPSFLALPGHLVKSEETVILQCWSDVMFEHFLLH
REGKFNNTLHLIGEHHDGVSKANFSIGPMMPVLAGTYRCYGSVPHSPYQLSAPSDPLDMVII
GLYEKPSLSAQPGPTVQAGENVTLSCSSIYPGKGRPMNVGSLQCAASTEHSRPTFLWALPP

TEGPTDASALSVTLPTSGQTRVIHCLFPSQVTPDTYMF

SEQ ID NO: 15:

CCGGCAGCACCATGTCGCTCATGGTCATCAGCATGGCATGTGTTGGGTTCTTCTGGCT
GCAGGGGGCCTGGCCACATGAGGGATTCCGCAGAAAACCTTCCCTCCTGGCCCACCCA
GGTCGCCTGGTGAAATCAGAAGAGACAGTCATCCTGCAATGTTGGTCAGATGTCATGTT
TGAGCACTTCCTTCTGCACAGAGAGGGGACGTTTAACGACACTTTGCGCCTCATTGGAG
AGCACATTGATGGGGTCTCCAAGGCCAACTTCTCCATCGGTCGCATGAGGCAAGACCT
GGCAGGGACCTACAGATGCTACGGTTCTGTTCCTCACTCCCCCTATCAGTTTTCAGCTC
CCAGTGACCCTCTGGACATCGTGATCACAGGTCTATATGAGAAACCTTCTCTCTCAGCC
CAGCCGGGCCCCACGGTTCTGGCAGGAGAGAGCGTGACCTTGTCCTGCAGCTCCTGG
AGCTCCTATGACATGTACCATCTATCCACGGAGGGGGAGGCCCATGAACGTAGGTTCT
CTGCAGGGCCCAAGGTCAACGGAACATTCCAGGCCGACTTTCCTCTGGGCCCTGCCAC
CCAAGGAGGAACCTACAGATGCTTCGGCTCTTTCCATGACTCTCCCTACGAGTGGTCAA
AGTCAAGTGACCCACTGCTTGTTTCTGTCACAGGAAACCCTTCAAATAGTTGGCCTTCAC
CCACTGAACCAAGCTCCAAAACCGGTAACCCCAGACACCTACACGTTCTGATTGGGACC
TCAGTGGTCAAACTCCCTTTCACCATCCTCCTCTTCTTTCTCCTTCATCGCTGGTGCTCC
GACAAAAAAAATGCATCTGTAATGGACCAAGGGCCTGCGGGGAACAGAACAGTGAACA
GGGAGGATTCTGACGAACAGGACCATCAGGAGGTGTCATACGCATAATTGGATCACTGT
GTTTTCACACAGAGAAAAATCACTCCCCCTTCTCAGAGGCCCAAGACACCCCCAACAGA
TAGCAGCATGTACATAGAACTTCCAAATGCTGAGTCCAGATCCAAAGCTGTCTTCTGTCC
ACGAGCACCACAGTCAGGCCTTGAGGGGATCTTCTAGGGAGACAACAGCCCTGTCT

SEQ ID NO: 16:

MSLMVISMACVGFFWLQGAWPHEGFRRKPSLLAHPGRLVKSEETVILQCWSDVMFEHFLL
HREGTFNDTLRLIGEHIDGVSKANFSIGRMRQDLAGTYRCYGSVPHSPYQFSAPSDPLDIVIT
GLYEKPSLSAQPGPTVLAGESVTLSCSSWSSYDMYHLSTEGEAHERRFSAGPKVNGTFQA
DFPLGPATQGGTYRCFGSFHDSPYEWSKSSDPLLVSVTGNPSNSWPSPTEPSSKTGNPRH
LHVLIGTSVVKLPFTILLFFLLHRWCSDKKNASVMDQGPAGNRTVNREDSDEQDHQEVSYA

SEQ ID NO: 17:

ACAATTACTCTACAGCTCAGAACACCAACTGCTGAGGCTGCCTTGGGAAGAGGATGATC
CTAAACAAAGCTCTGCTGCTGGGGGCCCTCGCTCTGACCACCGTGATGAGCCCCTGTG
GAGGTGAAGACATTGTGGCTGACCACGTTGCCTCTTGTGGTGTAAACTTGTACCAGTTT
TACGGTCCCTCTGGCCAGTACACCCATGAATTTGATGGAGATGAGCAGTTCTACGTGGA
CCTGGAGAGGAAGGAGACTGCCTGGCGGTGGCCTGAGTTCAGCAAATTTGGAGGTTTT
GACCCGCAGGGTGCACTGAGAAACATGGCTGTGGCAAAACACAACTTGAACATCATGAT
TAAACGCTACAACTCTACCGCTGCTACCAATGAGGTTCCTGAGGTCACAGTGTTTTCCA
AGTCTCCCGTGACACTGGGTCAGCCCAACACCCTCATTTGTCTTGTGGACAACATCTTT
CCTCCTGTGGTCAACATCACATGGCTGAGCAATGGGCAGTCAGTCACAGAAGGTGTTTC
TGAGACCAGCTTCCTCTCCAAGAGTGATCATTCCTTCTTCAAGATCAGTTACCTCACCTT
CCTCCCTTCTGCTGATGAGATTTATGACTGCAAGGTGGAGCACTGGGGCCTGGACCAG
CCTCTTCTGAAACACTGGGAGCCTGAGATTCCAGCCCCTATGTCAGAGCTCACAGAGAC
TGTGGTCTGTGCCCTGGGGTTGTCTGTGGGCCTCATGGGCATTGTGGTGGGCACTGTC
TTCATCATCCAAGGCCTGCGTTCAGTTGGTGCTTCCAGACACCAAGGGCCATTGTGAAT
CCCATCCTGGAAGGGAAGGTGCATCGCCATCTACAGGAGCAGAAGAATGGACTTGCTA
AATGACCTAGCACTATTCTCTGGCCCGATTTATCATATCCCTTTTCTCCTCCAAATATTTC
TCCTCTCACCTTTTCTCTGGGACTTAAGCTGCTATATCCCCTCAGAGCTCACAAATGCCT
TTACATTCTTTCCCTGACCTCCTGATTTTTTTTTTCTTTTCTCAAATGTTACCTACAAAGAC
ATGCCTGGGGTAAGCCACCCGGCTACCTAATTCCTCAGTAACCTCCATCTAAAATCTCC
AAGGAAGCAATAAATTCCTTTTATGAGATCTATGTCAAATTTTTCCATCTTTCATCCAGGG

CTGACTGAAACTATGGCTAATAATTGGGGTACTCTTATGTTTCAATCCAATTTAACCTCAT
TTCCCAGATCATTTTTCATGTCCAGTAACACAGAAGCCACCAAGTACAGTATAGCCTGAT
AATATGTTGATTTCTTAGCTGACATTAATATTTCTTGCTTCCTTGTGTTCCCACCCTTGGC
ACTGCCACCCACCCCTCAATTCAGGCAACAATGAAATTAATGGATACCGTCTGCCCTTG
GCCCAGAATTGTTATAGCAAAAATTTTAGAACCAAAAAATAAGTCTGTACTAATTTCAATG
TGGCTTTTAAAAGTATGACAGAGAAATAAGTTAGGATAAAGGAAATTTGAATCTCA

SEQ ID NO: 18:

MILNKALLLGALALTTVMSPCGGEDIVADHVASCGVNLYQFYGPSGQYTHEFDGDEQFYVD
LERKETAWRWPEFSKFGGFDPQGALRNMAVAKHNLNIMIKRYNSTAATNEVPEVTVFSKSP
VTLGQPNTLICLVDNIFPPVVNITWLSNGQSVTEGVSETSFLSKSDHSFFKISYLTFLPSADEI
YDCKVEHWGLDQPLLKHWEPEIPAPMSELTETVVCALGLSVGLMGIVVGTVFIIQGLRSVGA
SRHQGPL

SEQ ID NO: 19:

CACCGGCAGCACCATGTCGCTCACGGTCGTCAGCATGGCGTGTGTTGGGTTCTTCTTGCT
GCAGGGGGCCTGGCCACATGAGGGAGTCCACAGAAAACCTTCCCTCCTGGCCCACCCAG
GTCGCCTGGTGAAATCAGAAGAGACAGTCATCCTGCAATGTTGGTCAGATGTCATGTTTGA
ACACTTCCTTCTGCACAGAGAGGGGATGTTTAACGACACTTTGCGCCTCATTGGAGAACAC
CATGATGGGGTCTCCAAGGCCAACTTCTCCATCAGTCGCATGAAGCAAGACCTGGCAGGG
ACCTACAGATGCTACGGTTCTGTTACTCACTCCCCCTATCAGTTGTCAGCTCCCAGTGACC
CTCTGGACATCGTGATCATAGGTCTATATGAGAAACCTTCTCTCTCAGCCCAGCCGGGCCC
CACGGTTCTGGCAGGAGAGAATGTGACCTTGTCCTGCAGCTCCCGGAGCTCCTATGACAT
GTACCATCTATCCAGGGAAGGGGAGGCCCATGAACGTAGGCTCCCTGCAGGGACCAAGG
TCAACGGAACATTCCAGGCCAACTTTCCTCTGGGCCCTGCCACCCATGGAGGGACCTACA
GATGCTTCGGCTCTTTCCGTGACTCTCCATACGAGTGGTCAAAGTCAAGTGACCCACTGCT
TGTTTCTGTCACAGGAAACCCTTCAAATAGTTGGCCTTCACCCACTGAACCAAGCTCCGAA
ACCGGTAACCCCAGACACCTACATGTTCTGATTGGGACCTCAGTGGTCAAAATCCCTTTCA
CCATCCTCCTCTTCTTTCTCCTTCATCGCTGGTGCTCCGACAAAAAAAAATGCTGCTGTAATG
GACCAAGAGCCTGCAGGGAACAGAACAGTGAACAGCGAGGATTCTGATGAACAAGACCAT
CAGGAGGTGTCATACGCATAATTGGATCACTGTGTTTTCACACAGAGAAAAATCACTCGCC
CTTCTGAGAGGCCCAAGACACCCCCAACAGATACCAGCATGTACATAGAACTTCCAAATGC
TGAGCCCAGATCCAAAGTTGTCTTCTGTCCACGAGCACCACAGTCAGGCCTTGAGGGGAT
CTTCTAGGGAGA

SEQ ID NO: 20:

MSLTVVSMACVGFFLLQGAWPHEGVHRKPSLLAHPGRLVKSEETVILQCWSDVMFEHFLLHR
EGMFNDTLRLIGEHHDGVSKANFSISRMKQDLAGTYRCYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIVIIGLYE

KPSLSAQPGPTVLAGENVTLSCSSRSSYDMYHLSREGEAHERRLPAGTKVNGTFQANFPLGP
ATHGGTYRCFGSFRDSPYEWSKSSDPLLVSVTGNPSNSWPSPTEPSSETGNPRHLHVLIGTS
VVKIPFTILLFFLLHRWCSDKKNAAVMDQEPAGNRTVNSEDSDEQDHQEVSYA

SEQ ID NO: 21:

CCGGCAGCACCATGTTGCTCATGGTCGTCAGCATGGCGTGTGTTGGGTTGTTCTTGGTCC
AGAGGGCCGGTCCACACATGGGTGGTCAGGACAAGCCCTTCCTGTCTGCCTGGCCCAGC
GCTGTGGTGCCTCGCGGAGGACACGTGACTCTTCGGTGTCACTATCGTCATAGGTTTAAC
AATTTCATGCTATACAAAGAAGACAGAATCCACGTTCCCATCTTCCATGGCAGAATATTCCA
GGAGGGCTTCAACATGAGCCCTGTGACCACAGCACATGCAGGGAACTACACATGTCGGGG
TTCACACCCACACTCCCCCACTGGGTGGTCGGCACCCAGCAACCCCATGGTGATCATGGT
CACAGGAAACCACAGAAAACCTTCCCTCCTGGCCCACCCAGGTCCCCTGGTGAAATCAGG
AGAGAGAGTCATCCTGCAATGTTGGTCAGATATCATGTTTGAGCACTTCTTTCTGCACAAAG
AGTGGATCTCTAAGGACCCCTCACGCCTCGTTGGACAGATCCATGATGGGGTCTCCAAGG
CCAATTTCTCCATCGGTTCCATGATGCGTGCCCTTGCAGGGACCTACAGATGCTACGGTTC
TGTTACTCACACCCCCTATCAGTTGTCAGCTCCCAGTGATCCCCTGGACATCGTGGTCACA
GGTCTATATGAGAAACCTTCTCTCTCAGCCCAGCCGGGCCCCAAGGTTCAGGCAGGAGAG
AGCGTGACCTTGTCCTGTAGCTCCCGGAGCTCCTATGACATGTACCATCTATCCAGGGAG
GGGGGAGCCCATGAACGTAGGCTCCCTGCAGTGCGCAAGGTCAACAGAACATTCCAGGC
AGATTTCCCTCTGGGCCCTGCCACCCACGGAGGGACCTACAGATGCTTCGGCTCTTTCCG
TCACTCTCCCTACGAGTGGTCAGACCCGAGTGACCCACTGCTTGTTTCTGTCACAGGAAAC
CCTTCAAGTAGTTGGCCTTCACCCACAGAACCAAGCTCCAAATCTGGTAACCTCAGACACC
TGCACATTCTGATTGGGACCTCAGTGGTCAAAATCCCTTTCACCATCCTCCTCTTCTTTCTC
CTTCATCGCTGGTGCTCCAACAAAAAAAAATGCTGCTGTAATGGACCAAGAGCCTGCAGGG
AACAGAAGTGAACAGCGAGGATTCTGATGAACAAGACCATCAGGAGGTGTCATACGCATAA
TTGGAACACTGTGTTTTCACACAGAGAAAAATCACTCGCCCTTCTCAGAGGCCCAAGACAC
CCCCAACAGATACCAGCATGTACATAGAACTTCCAAATGCTGAGCCCAGATCCAAAGTTGT
CTTCTGTCCACGAGCACCACAGTCAGGCCTTGAGGGGATCTTCTAGGGAGACAACAGCCC
TGTCTCAAAACTGGGTTGCCAGCTCCCATGTACCAGCAGCTGGAATCTGAAGGCATCAGTC
TTCATCTTAGGGCATCGCTCTTCCTCACACCACAAATCTGAATGTGCCTCTCACTTGCTTAC
AAATGTCTAAGGTCCCCACTGCCTGCTGGAGAAAAAACACACTCCTTTGCTTAGCCCACAG
TTCTCCATTTCACTTGACCCCTGCCCACCTCTCCAACCTAACTGGCTTACTTCCTAGTCTAC
TTGAGGCTGCAATCACACTGAGGAACTCACAATTCCACACATACAAGAGGCTCCGTCTTAA
CGCAGCACTTAGACACGTGCTGTTCCACCTTCCCTCATGCTG

SEQ ID NO: 22:

MLLMVVSMACVGLFLVQRAGPHMGGQDKPFLSAWPSAVVPRGGHVTLRCHYRHRFNNFMLY
KEDRIHVPIFHGRIFQEGFNMSPVTTAHAGNYTCRGSHPHSPTGWSAPSNPMVIMVTGNHRKP

SLLAHPGPLVKSGERVILQCWSDIMFEHFFLHKEWISKDPSRLVGQIHDGVSKANFSIGSMMRA
LAGTYRCYGSVTHTPYQLSAPSDPLDIVVTGLYEKPSLSAQPGPKVQAGESVTLSCSSRSSYD
MYHLSREGGAHERRLPAVRKVNRTFQADFPLGPATHGGTYRCFGSFRHSPYEWSDPSDPLLV
SVTGNPSSSWPSPTEPSSKSGNLRHLHILIGTSVVKIPFTILLFFLLHRWCSNKKKCCCNGPRAC
REQK

SEQ ID NO: 23:

ATAACATCCTGTGCGCTGCTGAGCTGAGCTGGGGCGCAGCCGCCTGTCTGCACCGGCAG
CACCATGTCGCTCATGGTCGTCAGCATGGCGTGTGTTGGGTTGTTCTTGGTCCAGAGGGC
CGGTCCACACATGGGTGGTCAGGACAAACCCTTCCTGTCTGCCTGGCCCAGCGCTGTGGT
GCCTCGAGGAGGACACGTGACTCTTCGGTGTCACTATCGTCATAGGTTTAACAATTTCATG
CTATACAAAGAAGACAGAATCCACATTCCCATCTTCCATGGCAGAATATTCCAGGAGAGCT
TCAACATGAGCCCTGTGACCACAGCACATGCAGGGAACTACACATGTCGGGGTTCACACC
CACACTCCCCCACTGGGTGGTCGGCACCCAGCAACCCCGTGGTGATCATGGTCACAGGAA
ACCACAGAAAACCTTCCCTCCTGGCCCACCCAGGTCCCCTGGTGAAATCAGGAGAGAGAG
TCATCCTGCAATGTTGGTCAGATATCATGTTTGAGCACTTCTTTCTGCACAAAGAGGGGATC
TCTAAGGACCCCTCACGCCTCGTTGGACAGATCCATGATGGGGTCTCCAAGGCCAATTTCT
CCATCGGTCCCATGATGCTTGCCCTTGCAGGGACCTACAGATGCTACGGTTCTGTTACTCA
CACCCCCTATCAGTTGTCAGCTCCCAGTGATCCCCTGGACATCGTGGTCACAGGTCCATAT
GAGAAACCTTCTCTCTCAGCCCAGCCGGGCCCCAAGGTTCAGGCAGGAGAGAGCGTGAC
CTTGTCCTGTAGCTCCCGGAGCTCCTATGACATGTACCATCTATCCAGGGAGGGGGGAGC
CCATGAACGTAGGCTCCCTGCAGTGCGCAAGGTCAACAGAACATTCCAGGCAGATTTCCC
TCTGGGCCCTGCCACCCACGGAGGGACCTACAGATGCTTCGGCTCTTTCCGTCACTCTCC
CTACGAGTGGTCAGACCCGAGTGACCCACTGCTTGTTTCTGTCACAGGAAACCCTTCAAGT
AGTTGGCCTTCACCCACAGAACCAAGCTCCAAATCTGGTAACCCCAGACACCTGCACATTC
TGATTGGGACCTCAGTGGTCATCATCCTCTTCA

TCCTCCTCCTCTTCTTTCTCCTTCATCTCTGGTGCTCCAACAAAAAAAATGCTGCTGTAATG
GACCAAGAGCCTGCAGGGAACAGAACAGCCAACAGCGAGGACTCTGATGAACAAGACCCT
GAGGAGGTGACATACGCACAGTTGGATCACTGCGTTTTCACACAGAGAAAAATCACTCGCC
CTTCTCAGAGGCCCAAGACACCCCCTACAGATACCATCTTGTACACGGAACTTCCAAATGC
TAAGCCCAGATCCAAAGTTGTCTCCTGCCCATGAGCACCACAGTCAGGCCTTGAGGACGT
CTTCTAGGGAGACAACAGCCCTGTCTCAAAACCGAGTTGCCAGCTCCCATGTACCAGCAG
CTGGAATCTGAAGGCGTGAGTCTTCATCTTAGGGCATCGCTCCTCCTCACGCCACAAATCT
GGTGCCTCTCTCTTGCTTACAAATGTCTAGGTCCCCACTGCCTGCTGGAAAGAAAACACAC
TCCTTTGCTTAGCCCACAGTTCTCCATTTCACTTGACCCCTGCCCACCTCTCCAACCTAACT
GGCTTACTTCCTAGTCTACTTGAGGCTGCAATCACACTGAGGAACTCACAATTCCAAACATA
CAAGAGGCTCCCTCTTGACGTGGCACTTACCCACGTGCTGTTCCACCTTCCCTCATGCTGT

TTCACCTTTCTTCGGACTATTTTCCAGCCTTCTGTCAGCAGTGAAACTTATAAAATTTTTTGT
GATTTCAATGTAGCTGTCTCCTCTTCAAATAAACATGTCTGCCCTCAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAA

SEQ ID NO: 24:

MSLMVVSMACVGLFLVQRAGPHMGGQDKPFLSAWPSAVVPRGGHVTLRCHYRHRFNNFMLY
KEDRIHIPIFHGRIFQESFNMSPVTTAHAGNYTCRGSHPHSPTGWSAPSNPVVIMVTGNHRKPS
LLAHPGPLVKSGERVILQCWSDIMFEHFFLHKEGISKDPSRLVGQIHDGVSKANFSIGPMMLAL
AGTYRCYGSVTHTPYQLSAPSDPLDIVVTGPYEKPSLSAQPGPKVQAGESVTLSCSSRSSYDM
YHLSREGGAHERRLPAVRKVNRTFQADFPLGPATHGGTYRCFGSFRHSPYEWSDPSDPLLVS
VTGNPSSSWPSPTEPSSKSGNPRHLHILIGTSVVIILFILLLFFLLHLWCSNKKNAAVMDQEPAG
NRTANSEDSDEQDPEEVTYAQLDHCVFTQRKITRPSQRPKTPPTDTILYTELPNAKPRSKVVSC
P

SEQ ID NO: 25:

AGTTCTAAAGTCCCCACGCACCCACCCGGACTCAGAGTCTCCTCAGACGCCGAGATGCTG
GTCATGGCGCCCCGAACCGTCCTCCTGCTGCTCTCGGCGGCCCTGGCCCTGACCGAGAC
CTGGGCCGGCTCCCACTCCATGAGGTATTTCTACACCTCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCG
GGGAGCCCCGCTTCATCTCAGTGGGCTACGTGGACGACACCCAGTTCGTGAGGTTCGACA
GCGACGCCGCGAGTCCGAGAGAGGAGCCGCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGGCC
GGAGTATTGGGACCGGAACACACAGATCTACAAGGCCCAGGCACAGACTGACCGAGAGA
GCCTGCGGAACCTGCGCGGCTACTACAACCAGAGCGAGGCCGGGTCTCACACCCTCCAG
AGCATGTACGGCTGCGACGTGGGGCCGGACGGGCGCCTCCTCCGCGGGCATGACCAGTA
CGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGCGCTCCTGGACCGCCG
CGGACACGGCGGCTCAGATCACCCAGCGCAAGTGGGAGGCGGCCCGTGAGGCGGAGCA
GCGGAGAGCCTACCTGGAGGGCGAGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACG
GGAAGGACAAGCTGGAGCGCGCTGACCCCCCAAAGACACACGTGACCCACCACCCCATC
TCTGACCATGAGGCCACCCTGAGGTGCTGGGCCCTGGGTTTCTACCCTGCGGAGATCACA
CTGACCTGGCAGCGGGATGGCGAGGACCAAACTCAGGACACTGAGCTTGTGGAGACCAG
ACCAGCAGGAGATAGAACCTTCCAGAAGTGGGCAGCTGTGGTGGTGCCTTCTGGAGAAGA
GCAGAGATACACATGCCATGTACAGCATGAGGGGCTGCCGAAGCCCCTCACCCTGAGATG
GGAGCCGTCTTCCCAGTCCACCGTCCCCATCGTGGGCATTGTTGCTGGCCTGGCTGTCCT
AGCAGTTGTGGTCATCGGAGCTGTGGTCGCTGCTGTGATGTGTAGGAGGAAGAGTTCAGG
TGGAAAAGGAGGGAGCTACTCTCAGGCTGCGTGCAGCGACAGTGCCCAGGGCTCTGATG
TGTCTCTCACAGCTTGAAAAGCCTGAGACAGCTGTCTTGTGAGGGACTGAGATGCAGGATT
TCTTCACGCCTCCCCTTTGTGACTTCAAGAGCCTCTGGCATCTCTTTCTGCAAAGGCACCT
GAATGTGTCTGCGTCCCTGTTAGCATAATGTGAGGAGGTGGAGAGACAGCCCACCCTTGT
GTCCACTGTGACCCCTGTTCCCATGCTGACCTGTGTTTCCTCCCCAGTCATCTTTCTTGTTC
CAGAGAGGTGGGGCTGGATGTCTCCATCTCTGTCTCAACTTTACGTGCACTGAGCTGCAA
CTTCTTACTTCCCTACTGAAAATAAGAATCTGAATATAAATTTGTTTTCTCAAATATTTGCTAT
GAGAGGTTGATGGATTAATTAAATAAGTCAATTCCTGGAATTTGAGAGAGCAAATAAAGACC
TGAGAACCTTCCAGAAAAAAAA

SEQ ID NO: 26:

MLVMAPRTVLLLLSAALALTETWAGSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFISVGYVDDTQFVRFDSD
AASPREEPRAPWIEQEGPEYWDRNTQIYKAQAQTDRESLRNLRGYYNQSEAGSHTLQSMYG
CDVGPDGRLLRGHDQYAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEG
ECVEWLRRYLENGKDKLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQT
QDTELVETRPAGDRTFQKWAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEPSSQSTVPIVGIV
AGLAVLAVVVIGAVVAAVMCRRKSSGGKGGSYSQAACSDSAQGSDVSLTA

SEQ ID NO: 27:

GGGAACTTGTGGTCGCGCGGGCTGTTCCACAGCTCCGGGCCGGGTCAGGGTGGCGGCT
GCGGGGGCGGACGGGCTGGGCCGCACTGACTGGCCGGTGATTCCTCGCAGAGGATTTC
GTGTACCAGTTTAAGGGCATGTGCTACTTCACCAACGGGACAGAGCGCGTGCGTCTTGTG
AGCAGAAGCATCTATAACCGAGAAGAGATCGTGCGCTTCGACAGCGACGTGGGGGAGTTC
CGGCGCGGTGACGCTGCTGGGGCTGCCTGCCGCCGAGTACTGGAACAGCCAGAAGGACA
TCCTGGAGAGGAAACGGGCGGCGGTGGACAGGGTGTGCAGACACAACTACCAGTTGGAG
CTCCGCACGACCTTGCAGCGGCGAGGTGAGCGGCGTCGCCCTCTGCGAGGCCCACCCTT
GGCCCCAAGTCTCTGCGCCAGGAGGGGGCAAGGGTCGTGGCCTCTGAACCTGAGCCCCG
TTTGTTCCACCCC

SEQ ID NO: 28:

DFVYQFKGMCYFTNGTERVRLVSRSIYNREEIVRFDSDVGEFRRGDAAGAACRRVLEQPEGH
PGEETGGGGQGVQTQLPVGAPHDLAAA

SEQ ID NO: 29:

CCGGCAGCACCATGTCGCTCATGGTCATCAGCATGGCATGTGTTGGGTTCTTCTGGCTGC
AGGGGGCCTGGCCACATGAGGGATTCCGCAGAAAACCTTCCCTCCTGGCCCACCCAGGT
CGCCTGGTGAAATCAGAAGAGACAGTCATCCTGCAATGTTGGTCAGATGTCATGTTTGAGC
ACTTCCTTCTGCACAGAGAGGGGACGTTTAACGACACTTTGCGCCTCATTGGAGAGCACAT
TGATGGGGTCTCCAAGGCCAACTTCTCCATCGGTCGCATGAGGCAAGACCTGGCAGGGAC
CTACAGATGCTACGGTTCTGTTCCTCACTCCCCCTATCAGTTTTCAGCTCCCAGTGACCCT
CTGGACATCGTGATCACAGGTCTATATGAGAAACCTTCTCTCTCAGCCCAGCCGGGCCCC
ACGGTTCTGGCAGGAGAGAGCGTGACCTTGTCCTGCAGCTCCTGGAGCTCCTATGACATG
TACCATCTATCCACGGAGGGGGAGGCCCATGAACGTAGGTTCTCTGCAGGGCCCAAGGTC
AACGGAACATTCCAGGCCGACTTTCCTCTGGGCCCTGCCACCCAAGGAGGAACCTACAGA
TGCTTCGGCTCTTTCCATGACTCTCCCTACGAGTGGTCAAAGTCAAGTGACCCACTGCTTG
TTTCTGTCACAGGAAACCCTTCAAATAGTTGGCCTTCACCCACTGAACCAAGCTCCAAAAC
CGGTAACCCCAGACACCTACACGTTCTGATTGGGACCTCAGTGGTCAAACTCCCTTTCACC
ATCCTCCTCTTCTTTCTCCTTCATCGCTGGTGCTCCGACAAAAAAAATGCATCTGTAATGGA
CCAAGGGCCTGCGGGGAACAGAACAGTGAACAGGGAGGATTCTGACGAACAGGACCATC

AGGAGGTGTCATACGCATAATTGGATCACTGTGTTTTCACACAGAGAAAAATCACTCCCCC
TTCTCAGAGGCCCAAGACACCCCCAACAGATAGCAGCATGTACATAGAACTTCCAAATGCT
GAGTCCAGATCCAAAGCTGTCTTCTGTCCACGAGCACCACAGTCAGGCCTTGAGGGGATC
TTCTAGGGAGACAACAGCCCTGTCT

SEQ ID NO: 30:

MSLMVISMACVGFFWLQGAWPHEGFRRKPSLLAHPGRLVKSEETVILQCWSDVMFEHFLLHR
EGTFNDTLRLIGEHIDGVSKANFSIGRMRQDLAGTYRCYGSVPHSPYQFSAPSDPLDIVITGLYE
KPSLSAQPGPTVLAGESVTLSCSSWSSYDMYHLSTEGEAHERRFSAGPKVNGTFQADFPLGP
ATQGGTYRCFGSFHDSPYEWSKSSDPLLVSVTGNPSNSWPSPTEPSSKTGNPRHLHVLIGTS
VVKLPFTILLFFLLHRWCSDKKNASVMDQGPAGNRTVNREDSDEQDHQEVSYA

SEQ ID NO: 31:

GAGAAGCCAATCAGTGTCGTCGCGGTCGCTGTTCTAAAGCCCGCACGCACCCACCGGGA
CTCAGATTCTCCCCAGACGCCGAGGATGGCCGTCATGGCGCCCCGAACCCTCCTCCTGCT
ACTCTCGGGGGCCCTGGCCCTGACCCAGACCTGGGCGGGCTCCCACTCCATGAGGTATT
TCTTCACATCCGTGTCCCGGCCCGGCCGCGGGGAGCCCCGCTTCATCGCCGTGGGCTAC
GTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTTCGACAGCGACGCCGCGAGCCAGAGGATGGAGCC
GCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGGGCCGGAGTATTGGGACCAGGAGACACGGAAT
GTGAAGGCCCAGTCACAGACTGACCGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCTACTACAA
CCAGAGCGAGGCCGGTTCTCACACCATCCAGATAATGTATGGCTGCGACGTGGGGTCGGA
CGGGCGCTTCCTCCGCGGGTACCGGCAGGACGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCC
TGAACGAGGACCTGCGCTCTTGGACCGCGGCGGACATGGCGGCTCAGATCACCAAGCGC
AAGTGGGAGGCGGCCCATGAGGCGGAGCAGTTGAGAGCCTACCTGGATGGCACGTGCGT
GGAGTGGCTCCGCAGATACCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCACGGACCCCC
CCAAGACACATATGACCCACCACCCCATCTCTGACCATGAGGCCACCCTGAGGTGCTGGG
CCCTGGGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGACCAG
ACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTG
GGCGGCTGTGGTGGTGCCTTCTGGAGAGGAGCAGAGATACACCTGCCATGTGCAGCATG
AGGGTCTGCCCAAGCCCCTCACCCTGAGATGGGAGCTGTCTTCCCAGCCCACCATCCCCA
TCGTGGGCATCATTGCTGGCCTGGTTCTCCTTGGAGCTGTGATCACTGGAGCTGTGGTCG
CTGCCGTGATGTGGAGGAGGAAGAGCTCAGATAGAAAAGGAGGGAGTTACACTCAGGCTG
CAAGCAGTGACAGTGCCCAGGGCTCTGATGTGTCCCTCACAGCTTGTAAAGTGTGAGACA
GCTGCCTTGTGTGGGACTGAGAGGCAAGAGTTGTTCCTGCCCTTCCCTTTGTGACTTGAAG
AACCCTGACTTTGTTTCTGCAAAGGCACCTGCATGTGTCTGTGTTCGTGTAGGCATAATGT
GAGGAGGTGGGGAGACCACCCCACCCCCATGTCCACCATGACCCTCTTCCCACGCTGAC
CTGTGCTCCCTCCCCAATCATCTTTCCTGTTCCAGAGAGGTGGGGCTGAGGTGTCTCCATC
TCTGTCTCAACTTCATGGTGCACTGAGCTGTAACTTCTTCCTTCCCTATTAAAATTAGAACC
TTAGTATAAATTTACTTTCTCAAATTCTTGCCATGAGAGGTTGATGAGTTAATTAAAGGAGAA
GATTCCTAAAATTTGAGAGACAAAATAAATGGAAGACATGAGAACCTTCCAGAGTCCAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

SEQ ID NO: 32:

MAVMAPRTLLLLLSGALALTQTWAGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSD
AASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDQETRNVKAQSQTDRVDLGTLRGYYNQSEAGSHTIQIMYG
CDVGSDGRFLRGYRQDAYDGKDYIALNEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHEAEQLRAYLDG
TCVEWLRRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQ

TQDTELVETRPAGDGTFQKWAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWELSSQPTIPIVGII
AGLVLLGAVITGAVVAAVMWRRKSSDRKGGSYTQAASSDSAQGSDVSLTACKV

SEQ ID NO: 33:

TCCGCAGTCCCGGTTCTAAAGTCCCCAGTCACCCACCCGGACTCACATTCTCCCCAGAGG
CCGAGATGCGGGTCATGGCGCCCCGAGCCCTCCTCCTGCTGCTCTCGGGAGGCCTGGCC
CTGACCGAGACCTGGGCCTGCTCCCACTCCATGAGGTATTTCGACACCGCCGTGTCCCGG
CCCGGCCGCGGAGAGCCCCGCTTCATCTCAGTGGGCTACGTGGACGACACGCAGTTCGT
GCGGTTCGACAGCGACGCCGCGAGTCCGAGAGGGGAGCCGCGGGCGCCGTGGGTGGAG
CAGGAGGGGCCGGAGTATTGGGACCGGGAGACACAGAAGTACAAGCGCCAGGCACAGG
CTGACCGAGTGAGCCTGCGGAACCTGCGCGGCTACTACAACCAGAGCGAGGACGGGTCT
CACACCCTCCAGAGGATGTCTGGCTGCGACCTGGGGCCCGACGGGCGCCTCCTCCGCGG
GTATGACCAGTCCGCCTACGACGGCAAGGATTACATCGCCCTGAACGAGGACCTGCGCTC
CTGGACCGCCGCGGACACCGCGGCTCAGATCACCCAGCGCAAGTTGGAGGCGGCCCGT
GCGGCGGAGCAGCTGAGAGCCTACCTGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATA
CCTGGAGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCGCAGAACCCCCAAAGACACACGTGACCC
ACCACCCCCTCTCTGACCATGAGGCCACCCTGAGGTGCTGGGCCCTGGGCTTCTACCCTG
CGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGGAGGACCAGACCCAGGACACCGAGCTT
GTGGAGACCAGGCCAGCAGGAGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCAGCTGTGGTGGTGCC
TTCTGGACAAGAGCAGAGATACACGTGCCATATGCAGCACGAGGGGCTGCAAGAGCCCCT
CACCCTGAGCTGGGAGCCATCTTCCCAGCCCACCATCCCCATCATGGGCATCGTTGCTGG
CCTGGCTGTCCTGGTTGTCCTAGCTGTCCTTGGAGCTGTGGTCACCGCTATGATGTGTAG
GAGGAAGAGCTCAGGTGGAAAAGGAGGGAGCTGCTCTCAGGCTGCGTGCAGCAACAGTG
CCCAGGGCTCTGATGAGTCTCTCATCACTTGTAAAGCCTGAGACAGCTGCCTGTGTGGGA
CTGAGATGCAGGATTTCTTCACACCTCTCCTTTGTGACTTCAAGAGCCTCTGGCATCTCTTT
CTGCAAAGGCACCTGAATGTGTCTGCGTTCCTGTTAGCATAATGTGAGGAGGTGGAGAGA
CAGCCCACCCCCGTGTCCACCGTGACCCCTGTCCCCACACTGACCTGTGTTCCCTCCCCG
ATCATCTTTCCTGTTCCAGAGAGGTGGGGCTGGATGTCTCCATCTCTGTCTCAAATTCATG
GTGCACTGAGCTGCAACTTCTTACTTCCCTAATGAAGTTAAGAACCTGAATATAAATTTGTG
TTCTCAAATATTTGCTATGAAGCGTTGATGGATTAATTAAATAAGTCAATTCCTAGAAGTTGA
GAGAGCAAATAAAGACCTGAGAACCTTCCAGAA

SEQ ID NO: 34:

MRVMAPRALLLLLSGGLALTETWACSHSMRYFDTAVSRPGRGEPRFISVGYVDDTQFVRFDS
DAASPRGEPRAPWVEQEGPEYWDRETQKYKRQAQADRVSLRNLRGYYNQSEDGSHTLQRM
SGCDLGPDGRLLRGYDQSAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQLRAYLE
GTCVEWLRRYLENGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGED

QTQDTELVETRPAGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHMQHEGLQEPLTLSWEPSSQPTIPIM
GIVAGLAVLVVLAVLGAVVTAMMCRRKSSGGKGGSCSQAACSNSAQGSDESLITCKA

SEQ ID NO: 35:

CCTATAACTTGGAATGTGGGTGGAGGGGTTCATAGTTCTCCCTGAGTGAGACTTGCCTGCT
TCTCTGGCCCCTGGTCCTGTCCTGTTCTCCAGCATGGTGTGTCTGAAGCTCCCTGGAGGC
TCCTGCATGACAGCGCTGACAGTGACACTGATGGTGCTGAGCTCCCCACTGGCTTTGTCT
GGGGACACCCGACCACGTTTCCTGTGGCAGCCTAAGAGGGAGTGTCATTTCTTCAATGGG
ACGGAGCGGGTGCGGTTCCTGGACAGATACTTCTATAACCAGGAGGAGTCCGTGCGCTTC
GACAGCGACGTGGGGGAGTTCCGGGCGGTGACGGAGCTGGGGCGGCCTGACGCTGAGT
ACTGGAACAGCCAGAAGGACATCCTGGAGCAGGCGCGGGCCGCGGTGGACACCTACTGC
AGACACAACTACGGGGTTGTGGAGAGCTTCACAGTGCAGCGGCGAGTCCAACCTAAGGTG
ACTGTATATCCTTCAAAGACCCAGCCCCTGCAGCACCACAACCTCCTGGTCTGCTCTGTGA
GTGGTTTCTATCCAGGCAGCATTGAAGTCAGGTGGTTCCTGAACGGCCAGGAAGAGAAGG
CTGGGATGGTGTCCACAGGCCTGATCCAGAATGGAGACTGGACCTTCCAGACCCTGGTGA
TGCTGGAAACAGTTCCTCGAAGTGGAGAGGTTTACACCTGCCAAGTGGAGCACCCAAGCG
TGACAAGCCCTCTCACAGTGGAATGGAGAGCACGGTCTGAATCTGCACAGAGCAAGATGC
TGAGTGGAGTCGGGGGCTTTGTGCTGGGCCTGCTCTTCCTTGGGGCCGGGCTGTTCATCT
ACTTCAGGAATCAGAAAGGACACTCTGGACTTCAGCCAACAGGATTCCTGAGCTGAAATGC
AGATGACCACATTCAAGGAAGAACTTTCTGCCCCGGCTTTGCAGGATGAAAAGCTTTCCTG
CTTGGCAGTTATTCTTCCACAAGAGAGGGCTTTCTCAGGACCTGGTTGCTACTGGTTCGGC
AACTGCAGAAAATGTCCTCCCTTGTGGCTTCCTCAGCTCCTGCCCTTGGCCTGAAGTCCCA
GCATTGATGGCAGCGCCTCATCTTCAACTTTTGTGCTCCCCTTTGCCTAAACCGTATGGCC
TCCCGTGCATCTGTATTCACCCTGTATGACAAACACATTACATTATTAAATGTTTCTCAAAGA
TGGAGTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAA

SEQ ID NO: 36:

MVCLKLPGGSCMTALTVTLMVLSSPLALSGDTRPRFLWQPKRECHFFNGTERVRFLDRYFYN
QEESVRFDSDVGEFRAVTELGRPDAEYWNSQKDILEQARAAVDTYCRHNYGVVESFTVQRRV
QPKVTVYPSKTQPLQHHNLLVCSVSGFYPGSIEVRWFLNGQEEKAGMVSTGLIQNGDWTFQT
LVMLETVPRSGEVYTCQVEHPSVTSPLTVEWRARSESAQSKMLSGVGGFVLGLLFLGAGLFIY
FRNQKGHSGLQPTGFLS

SEQ ID NO: 37:

TTTTTATTCTTTCTGCCAGGTACATCAGATCCATCAGGTCCGAGCTGTGTTGACTACCACTG
CTTTTCCCTTCGTCTCAGTTATGTCTTGGAAGAAGGCTTTGCGGATCCCCGGAGACCTTCG
GGTAGCAACTGTCACCTTGATGCTGGCGATGCTGAGCTCCCTACTGGCTGAGGGCAGAGA

CTCTCCCGAGGATTTCGTGTTCCAGTTTAAGGGCATGTGCTACTTCACCAACGGGACGGA
GCGCGTGCGTCTTGTGACCAGATACATCTATAACCGAGAGGAGTACGCGCGCTTCGACAG
CGACGTGGGGGTGTACCGCGCGGTGACGCCGCAGGGGCGGCCTGATGCCGAGTACTGG
AACAGCCAGAAGGAAGTCCTGGAGGGGACCCGGGCGGAGTTGGACACGGTGTGCAGACA
CAACTACGAGGTGGCGTTCCGCGGGATCTTGCAGAGGAGAGTGGAGCCCACAGTGACCA
TCTCCCCATCCAGGACAGAGGCCCTCAACCACCACAACCTGCTGGTCTGCTCGGTGACAG
ATTTCTATCCAGGCCAGATCAAAGTCCGGTGGTTTCGGAATGATCAGGAGGAGACAGCCG
GCGTTGTGTCCACCCCCCTTATTAGGAATGGTGACTGGACTTTCCAGATCCTGGTGATGCT
GGAAATGACTCCCCAGCGTGGAGATGTCTACACCTGCCACGTGGAGCACCCCAGCCTCCA
GAGCCCCATCACCGTGGAGTGGCGGGCTCAGTCTGAATCTGCCCAGAGCAAGATGCTGA
GTGGCGTTGGAGGCTTCGTGCTGGGGCTGATCTTCCTTGGGCTGGGCCTTATCATCCGTC
AAAGGAGTCAGAAAGGGCTTCTGCACTGACTCCTGAGACTATTTTAACTAGGATTGGTTAT
CACTCTTCTGTGATGCCTGCTTATGCCTGCCCAGAATTCCCAGCTGCCTGTGTCAGCTTGT
CCCCCTGAGATCAAAGTCCTACAGTGGCTGTCACGCAGCCACCAGGTCATCTCCTTTCATC
CCCACCCCAAGGCGCTGGCTGTGACTCTGCTTCCTGCACTGACCCAGAGCCTCTGCCTGT
GCATGGCCAGCTGCGTCTACTCAGGTCCCAAGGGGTTTCTGTTTCTATTCTTTCCTCAGAC
TGCTCAAGAGAAGCACATGAAAAACATTACCTGACTTTAGAGCTTTTTTACATAATTAAACAT
GATCCTGAGTTATCTGTATTCTGAACTTTCTTAATTGAGAAGAGGCAGGAAATCACTGCAGA
ATGAAGGAACATCCCTTGAGGTGACCCAGCAAACCTGTGGCCAGAAGGAGGATTGTACCT
TGAAAAGACACTGAAAGCATTTTGGGGTGTGAAGTAAGGGTGGGCAGAGGAGGTAGAAAA
TAATTCAATTGTCGCATCATTCATGGTTCTTTAATACTGATGCTCAGTGCATTGGCCTTAGA
ATATCCCAGCCTCTCTTCTGGTTTGGTGAGTGCTGTGTAAATAAGCATGGTAGAATTGTTTG
GAGACATATATAGTGATCCTTGGTCACTGGTGTTTCAAACATTCTGGAAAGTCACATCGATC
AAGAATATTTTTTATTTTTAAGAAAGCATAACCAGCAATAAAAATACTATTTTTGAGTCTAAAT
GAAAAAAAAAAAAAAAAA

SEQ ID NO: 38:

MSWKKALRIPGDLRVATVTLMLAMLSSLLAEGRDSPEDFVFQFKGMCYFTNGTERVRLVTRYI
YNREEYARFDSDVGVYRAVTPQGRPDAEYWNSQKEVLEGTRAELDTVCRHNYEVAFRGILQR
RVEPTVTISPSRTEALNHHNLLVCSVTDFYPGQIKVRWFRNDQEETAGVVSTPLIRNGDWTFQI
LVMLEMTPQRGDVYTCHVEHPSLQSPITVEWRAQSESAQSKMLSGVGGFVLGLIFLGLGLIIRQ
RSQKGLLH

SEQ ID NO: 39:

TTTTTATTCTTTCTGCCAGGTACATCAGATCCATCAGGTCCGAGCTGTGTTGACTACCACTG
CTTTTCCCTTCGTCTCAGTTATGTCTTGGAAGAAGGCTTTGCGGATCCCCGGAGACCTTCG
GGTAGCAACTGTCACCTTGATGCTGGCGATGCTGAGCTCCCTACTGGCTGAGGGCAGAGA
CTCTCCCGAGGATTTCGTGTTCCAGTTTAAGGGCATGTGCTACTTCACCAACGGGACGGA

GCGCGTGCGTCTTGTGACCAGATACATCTATAACCGAGAGGAGTACGCGCGCTTCGACAG
CGACGTGGGGGTGTACCGCGCGGTGACGCCGCAGGGGCGGCCTGATGCCGAGTACTGG
AACAGCCAGAAGGAAGTCCTGGAGGGGACCCGGGCGGAGTTGGACACGGTGTGCAGACA
CAACTACGAGGTGGCGTTCCGCGGGATCTTGCAGAGGAGAGTGGAGCCCACAGTGACCA
TCTCCCCATCCAGGACAGAGGCCCTCAACCACCACAACCTGCTGGTCTGCTCGGTGACAG
ATTTCTATCCAGGCCAGATCAAAGTCCGGTGGTTTCGGAATGATCAGGAGGAGACAGCCG
GCGTTGTGTCCACCCCCCTTATTAGGAATGGTGACTGGACTTTCCAGATCCTGGTGATGCT
GGAAATGACTCCCCAGCGTGGAGATGTCTACACCTGCCACGTGGAGCACCCCAGCCTCCA
GAGCCCCATCACCGTGGAGTGGCGGGCTCAGTCTGAATCTGCCCAGAGCAAGATGCTGA
GTGGCGTTGGAGGCTTCGTGCTGGGGCTGATCTTCCTTGGGCTGGGCCTTATCATCCGTC
AAAGGAGTCAGAAAGGACCTCAAGGGCCTCCACCAGCAGGGCTTCTGCACTGACTCCTGA
GACTATTTTAACTAGGATTGGTTATCACTCTTCTGTGATGCCTGCTTATGCCTGCCCAGAAT
TCCCAGCTGCCTGTGTCAGCTTGTCCCCCTGAGATCAAAGTCCTACAGTGGCTGTCACGC
AGCCACCAGGTCATCTCCTTTCATCCCCACCCCAAGGCGCTGGCTGTGACTCTGCTTCCT
GCACTGACCCAGAGCCTCTGCCTGTGCATGGCCAGCTGCGTCTACTCAGGTCCCAAGGG
GTTTCTGTTTCTATTCTTTCCTCAGACTGCTCAAGAGAAGCACATGAAAAACATTACCTGAC
TTTAGAGCTTTTTTACATAATTAAACATGATCCTGAGTTATCTGTATTCTGAACTTTCTTAATT
GAGAAGAGGCAGGAAATCACTGCAGAATGAAGGAACATCCCTTGAGGTGACCCAGCAAAC
CTGTGGCCAGAAGGAGGATTGTACCTTGAAAAGACACTGAAAGCATTTTGGGGTGTGAAGT
AAGGGTGGGCAGAGGAGGTAGAAAATAATTCAATTGTCGCATCATTCATGGTTCTTTAATA
CTGATGCTCAGTGCATTGGCCTTAGAATATCCCAGCCTCTCTTCTGGTTTGGTGAGTGCTG
TGTAAATAAGCATGGTAGAATTGTTTGGAGACATATATAGTGATCCTTGGTCACTGGTGTTT
CAAACATTCTGGAAAGTCACATCGATCAAGAATATTTTTTATTTTTAAGAAAGCATAACCAGC
AATAAAAATACTATTTTTGAGTCTAAATGA

SEQ ID NO: 40:

MSWKKALRIPGDLRVATVTLMLAMLSSLLAEGRDSPEDFVFQFKGMCYFTNGTERVRLVTRYI
YNREEYARFDSDVGVYRAVTPQGRPDAEYWNSQKEVLEGTRAELDTVCRHNYEVAFRGILQR
RVEPTVTISPSRTEALNHHNLLVCSVTDFYPGQIKVRWFRNDQEETAGVVSTPLIRNGDWTFQI
LVMLEMTPQRGDVYTCHVEHPSLQSPITVEWRAQSESAQSKMLSGVGGFVLGLIFLGLGLIIRQ
RSQKGPQGPPPAGLLH

SEQ ID NO: 41:

GCTGTCGAAGCGCGCGAACTCCTCCCGGTTGTAGATGTATCTCTCCAGGAAGCGCTGTGT
CCCATTAAACGCGTAGCATTCCTGCCGTCCCTGGAAAAGTCATCAATTATAGACCCCACAA
CATGCGCCCTGAAGACAGAATGTTCCATATCAGAGCTGTGATCTTGAGAGCCCTCTCCTTG

GCTTTCCTGCTGAGTCTCCGAGGAGCTGGGGCCATCAAGGCGGACCATGTGTCAACTTAT
GCCGCGTTTGTACAGACGCATAGACCAACAGGGGAGTTTATGTTTGAATTTGATGAAGATG
AGATGTTCTATGTGGATCTGGACAAGAAGGAGACCGTCTGGCATCTGGAGGAGTTTGGCC
AAGCCTTTTCCTTTGAGGCTCAGGGCGGGCTGGCTAACATTGCTATATTGAACAACAACTT
GAATACCTTGATCCAGCGTTCCAACCACACTCAGGCCACCAACGATCCCCCTGAGGTGAC
CGTGTTTCCCAAGGAGCCTGTGGAGCTGGGCCAGCCCAACACCCTCATCTGCCACATTGA
CAAGTTCTTCCCACCAGTGCTCAACGTCACGTGGCTGTGCAACGGGGAGCTGGTCACTGA
GGGTGTCGCTGAGAGCCTCTTCCTGCCCAGAACAGATTACAGCTTCCACAAGTTCCATTAC
CTGACCTTTGTGCCCTCAGCAGAGGACTTCTATGACTGCAGGGTGGAGCACTGGGGCTTG
GACCAGCCGCTCCTCAAGCACTGGGAGGCCCAAGAGCCAATCCAGATGCCTGAGACAAC
GGAGACTGTGCTCTGTGCCCTGGGCCTGGTGCTGGGCCTAGTCGGCATCATCGTGGGCA
CCGTCCTCATCATAAAGTCTCTGCGTTCTGGCCATGACCCCCGGGCCCAGGGGACCCTGT
GAAATACTGTAAAGGTGACAAAATATCTGAACAGAAGAGGACTTAGGAGAGATCTGAACTC
CAGCTGCCCTACAAACTCCATCTCAGCTTTTCTTCTCACTTCATGTGAAAACTACTCCAGTG
GCTGACTGAATTGCTGACCCTTCAAGCTCTGTCCTTATCCATTACCTCAAAGCAGTCATTCC
TTAGTAAAGTTTCCAACAAATAGAAATTAATGACACTTTGGTAGCACTAATATGGAGATTATC
CTTTCATTGAGCCTTTTATCCTCTGTTCTCCTTTGAAGAACCCCTCACTGTCACCTTCCCGA
GAATACCCTAAGACCAATAAATACTTCAGTATTTCAGAGCGGGGAGACTCTGAGTCATTCTT
ACTGGAAGTCTAGGACCAGGTCACATGTGAATACTATTTCTTGAAGGTGTGGTTTCAACCT
CTGTTGCCGATGTGGTTACTAAAGGTTCTGATCCCACTTGAACGGAAAGGTCTGAGGATAT
TGATTCAGTCCTGGGTTTTTCCCTAACTACAGGATAGGGTGGGGTAGAGAAAGGATATTTG
GGGGAAATTTTACTTGGATGAAGATTTTCTTGGATGTAGTTTGAAGACTGCAGTGTTTGAAG
TCTCTGAGGGAAGAGATTTGGTCTGTCTGGATCAAGATTTCAGGCAGATTAGGATTCCATT
CACAGCCCCTGAGCTTCCTTCCCAAGGCTGTATTGTAATTATAGCAATATTTCATGGAGGAT
TTTTCTACATGATAAACTAAGAGCCAAGAAATAAAATTTTTAAAATGCCCTAAAAAAAAAAAA
AAAAAA

SEQ ID NO: 42:

MRPEDRMFHIRAVILRALSLAFLLSLRGAGAIKADHVSTYAAFVQTHRPTGEFMFEFDEDEMFY
VDLDKKETVWHLEEFGQAFSFEAQGGLANIAILNNNLNTLIQRSNHTQATNDPPEVTVFPKEPV
ELGQPNTLICHIDKFFPPVLNVTWLCNGELVTEGVAESLFLPRTDYSFHKFHYLTFVPSAEDFYD
CRVEHWGLDQPLLKHWEAQEPIQMPETTETVLCALGLVLGLVGIIVGTVLIIKSLRSGHDPRAQ
GTL

SEQ ID NO: 43:

GCTGTCGAAGCGCGCGAACTCCTCCCGGTTGTAGATGTATCTCTCCAGGAAGCGCTGTGT
CCCATTAAACGCGTAGCATTCCTGCCGTCCCTGGAAAAGTGCTAGAGGCCCACAGTTTCA
GTCTCATCTGCCTCCACTCGGCCTCAGTTCCTCATCACTGTTCCTGTGCTCACAGTCATCA

ATTATAGACCCCACAACATGCGCCCTGAAGACAGAATGTTCCATATCAGAGCTGTGATCTT
GAGAGCCCTCTCCTTGGCTTTCCTGCTGAGTCTCCGAGGAGCTGGGGCCATCAAGGCGGA
CCATGTGTCAACTTATGCCGCGTTTGTACAGACGCATAGACCAACAGGGGAGTTTATGTTT
GAATTTGATGAAGATGAGATGTTCTATGTGGATCTGGACAAGAAGGAGACCGTCTGGCATC
TGGAGGAGTTTGGCCAAGCCTTTTCCTTTGAGGCTCAGGGCGGGCTGGCTAACATTGCTA
TATTGAACAACAACTTGAATACCTTGATCCAGCGTTCCAACCACACTCAGGCCACCAACGA
TCCCCCTGAGGTGACCGTGTTTCCCAAGGAGCCTGTGGAGCTGGGCCAGCCCAACACCCT
CATCTGCCACATTGACAAGTTCTTCCCACCAGTGCTCAACGTCACGTGGCTGTGCAACGG
GGAGCTGGTCACTGAGGGTGTCGCTGAGAGCCTCTTCCTGCCCAGAACAGATTACAGCTT
CCACAAGTTCCATTACCTGACCTTTGTGCCCTCAGCAGAGGACTTCTATGACTGCAGGGTG
GAGCACTGGGGCTTGGACCAGCCGCTCCTCAAGCACTGGGAGGCCCAAGAGCCAATCCA
GATGCCTGAGACAACGGAGACTGTGCTCTGTGCCCTGGGCCTGGTGCTGGGCCTAGTCG
GCATCATCGTGGGCACCGTCCTCATCATAAAGTCTCTGCGTTCTGGCCATGACCCCCGGG
CCCAGGGGACCCTGTGAAATACTGTAAAGGTGACAAAATATCTGAACAGAAGAGGACTTAG
GAGAGATCTGAACTCCAGCTGCCCTACAAACTCCATCTCAGCTTTTCTTCTCACTTCATGTG
AAAACTACTCCAGTGGCTGACTGAATTGCTGACCCTTCAAGCTCTGTCCTTATCCATTACCT
CAAAGCAGTCATTCCTTAGTAAAGTTTCCAACAAATAGAAATTAATGACACTTTGGTAGCAC
TAATATGGAGATTATCCTTTCATTGAGCCTTTTATCCTCTGTTCTCCTTTGAAGAACCCCTCA
CTGTCACCTTCCCGAGAATACCCTAAGACCAATAAATACTTCAGTATTTCAGAGCGGGGAG
ACTCTGAGTCATTCTTACTGGAAGTCTAGGACCAGGTCACATGTGAATACTATTTCTTGAAG
GTGTGGTTTCAACCTCTGTTGCCGATGTGGTTACTAAAGGTTCTGATCCCACTTGAACGGA
AAGGTCTGAGGATATTGATTCAGTCCTGGGTTTTTCCCTAACTACAGGATAGGGTGGGGTA
GAGAAAGGATATTTGGGGGAAATTTTACTTGGATGAAGATTTTCTTGGATGTAGTTTGAAGA
CTGCAGTGTTTGAAGTCTCTGAGGGAAGAGATTTGGTCTGTCTGGATCAAGATTTCAGGCA
GATTAGGATTCCATTCACAGCCCCTGAGCTTCCTTCCCAAGGCTGTATTGTAATTATAGCAA
TATTTCATGGAGGATTTTTCTACATGATAAACTAAGAGCCAAGAAATAAAATTTTTAAAATGC
CCTAAAAAAAAAAAAAAAAAA

SEQ ID NO: 44:

MRPEDRMFHIRAVILRALSLAFLLSLRGAGAIKADHVSTYAAFVQTHRPTGEFMFEFDEDEMFY
VDLDKKETVWHLEEFGQAFSFEAQGGLANIAILNNNLNTLIQRSNHTQATNDPPEVTVFPKEPV
ELGQPNTLICHIDKFFPPVLNVTWLCNGELVTEGVAESLFLPRTDYSFHKFHYLTFVPSAEDFYD
CRVEHWGLDQPLLKHWEAQEPIQMPETTETVLCALGLVLGLVGIIVGTVLIIKSLRSGHDPRAQ
GTL

SEQ ID NO: 45

ATTTCCAGTGCTAGAGGCCCACAGTTTCAGTCTCATCTGCCTCCACTCGGCCTCAGTTCCT
CATCACTGTTCCTGTGCTCACAGTCATCAATTATAGACCCCACAACATGCGCCCTGAAGAC

AGAATGTTCCATATCAGAGCTGTGATCTTGAGAGCCCTCTCCTTGGCTTTCCTGCTGAGTC
TCCGAGGAGCTGGGGCCATCAAGGCGGACCATGTGTCAACTTATGCCGCGTTTGTACAGA
CGCATAGACCAACAGGGGAGTTTATGTTTGAATTTGATGAAGATGAGATGTTCTATGTGGA
TCTGGACAAGAAGGAGACCGTCTGGCATCTGGAGGAGTTTGGCCAAGCCTTTTCCTTTGA
GGCTCAGGGCGGGCTGGCTAACATTGCTATATTGAACAACAACTTGAATACCTTGATCCAG
CGTTCCAACCACACTCAGGCCACCAACGATCCCCCTGAGGTGACCGTGTTTCCCAAGGAG
CCTGTGGAGCTGGGCCAGCCCAACACCCTCATCTGCCACATTGACAAGTTCTTCCCACCA
GTGCTCAACGTCACGTGGCTGTGCAACGGGGAGCTGGTCACTGAGGGTGTCGCTGAGAG
CCTCTTCCTGCCCAGAACAGATTACAGCTTCCACAAGTTCCATTACCTGACCTTTGTGCCCT
CAGCAGAGGACTTCTATGACTGCAGGGTGGAGCACTGGGGCTTGGACCAGCCGCTCCTC
AAGCACTGGGAGGCCCAAGAGCCAATCCAGATGCCTGAGACAACGGAGACTGTGCTCTGT
GCCCTGGGCCTGGTGCTGGGCCTAGTCGGCATCATCGTGGGCACCGTCCTCATCATAAAG
TCTCTGCGTTCTGGCCATGACCCCCGGGCCCAGGGGACCCTGTGAAATACTGTAAAGGTG
ACAAAATATCTGAACAGAAGAGGACTTAGGAGAGATCTGAACTCCAGCTGCCCTACAAACT
CCATCTCAGCTTTTCTTCTCACTTCATGTGAAAACTACTCCAGTGGCTGACTGAATTGCTGA
CCCTTCAAGCTCTGTCCTTATCCATTACCTCAAAGCAGTCATTCCTTAGTAAAGTTTCCAAC
AAATAGAAATTAATGACACTTTGGTAGCAC

TAATATGGAGATTATCCTTTCATTGAGCCTTTTATCCTCTGTTCTCCTTTGAAGAACCCCTCA
CTGTCACCTTCCCGAGAATACCCTAAGACCAATAAATACTTCAGTATTTCAGAGCGGGGAG
ACTCTGAGTCATTCTTACTGGAAGTCTAGGACCAGGTCACATGTGAATACTATTTCTTGAAG
GTGTGGTTTCAACCTCTGTTGCCGATGTGGTTACTAAAGGTTCTGATCCCACTTGAACGGA
AAGGTCTGAGGATATTGATTCAGTCCTGGGTTTTTCCCTAACTACAGGATAGGGTGGGGTA
GAGAAAGGATATTTGGGGGAAATTTTACTTGGATGAAGATTTTCTTGGATGTAGTTTGAAGA
CTGCAGTGTTTGAAGTCTCTGAGGGAAGAGATTTGGTCTGTCTGGATCAAGATTTCAGGCA
GATTAGGATTCCATTCACAGCCCCTGAGCTTCCTTCCCAAGGCTGTATTGTAATTATAGCAA
TATTTCATGGAGGATTTTTCTACATGATAAACTAAGAGCCAAGAAATAAAATTTTTAAAATGC
CCTAAAAAAAAAAAAAAAAAA

SEQ ID NO: 46:

MRPEDRMFHIRAVILRALSLAFLLSLRGAGAIKADHVSTYAAFVQTHRPTGEFMFEFDEDEMFY
VDLDKKETVWHLEEFGQAFSFEAQGGLANIAILNNNLNTLIQRSNHTQATNDPPEVTVFPKEPV
ELGQPNTLICHIDKFFPPVLNVTWLCNGELVTEGVAESLFLPRTDYSFHKFHYLTFVPSAEDFYD
CRVEHWGLDQPLLKHWEAQEPIQMPETTETVLCALGLVLGLVGIIVGTVLIIKSLRSGHDPRAQ
GTL

SEQ ID NO: 47

GTCACAGAAGACTACTTGGGTTCATGGTCTCTAATATTTCAAACAGGAGCTCCCTTTAGCG
AGTCCTTCTTTTCCTGACTGCAGCTCTTTTCATTTTGCCATCCTTTTCCAGCTCCATGATGG
TTCTGCAGGTTTCTGCGGCCCCCCGGACAGTGGCTCTGACGGCGTTACTGATGGTGCTGC
TCACATCTGTGGTCCAGGGCAGGGCCACTCCAGAGAATTACCTTTTCCAGGGACGGCAGG
AATGCTACGCGTTTAATGGGACACAGCGCTTCCTGGAGAGATACATCTACAACCGGGAGG
AGTTCGCGCGCTTCGACAGCGACGTGGGGGAGTTCCGGGCGGTGACGGAGCTGGGGCG
GCCTGCTGCGGAGTACTGGAACAGCCAGAAGGACATCCTGGAGGAGAAGCGGGCAGTGC
CGGACAGGATGTGCAGACACAACTACGAGCTGGGCGGGCCCATGACCCTGCAGCGCCGA
GTCCAGCCTAGGGTGAATGTTTCCCCCTCCAAGAAGGGGCCCTTGCAGCACCACAACCTG
CTTGTCTGCCACGTGACGGATTTCTACCCAGGCAGCATTCAAGTCCGATGGTTCCTGAATG
GACAGGAGGAAACAGCTGGGGTCGTGTCCACCAACCTGATCCGTAATGGAGACTGGACCT
TCCAGATCCTGGTGATGCTGGAAATGACCCCCCAGCAGGGAGATGTCTACACCTGCCAAG
TGGAGCACACCAGCCTGGATAGTCCTGTCACCGTGGAGTGGAAGGCACAGTCTGATTCTG
CCCGGAGTAAGACATTGACGGGAGCTGGGGGCTTCGTGCTGGGGCTCATCATCTGTGGA
GTGGGCATCTTCATGCACAGGAGGAGCAAGAAAGTTCAACGAGGATCTGCATAAACAGGG
TTCCTGAGCTCACTGAAAAGACTATTGTGCCTTAGGAAAAGCATTTGCTGTGTTTCGTTAGC
ATCTGGCTCCAGGACAGACCTTCAACTTCCAAATTGGATACTGCTGCCAAGAAGTTGCTCT
GAAGTCAGTTTCTATCATTCTGCTCTTTGATTCAAAGCACTGTTTCTCTCACTGGGCCTCCA
ACCATGTTCCCTTCTTCTTAGCACCACAAATAATCAAAACCCAACATGACTGTTTGTTTTCCT
TTAAAAATATGCACCAAATCATCTCTCATCACTTTTCTCTGAGGGTTTTAGTAGACAGTAGG
AGTTAATAAAGAAGTTCATTTTGGTTTAAACATAGGAAAGAAGAGAACCATGAAAATGGGGA
TATGTTAACTATTGTATAATGGGGCCTGTTACACATGACACTCTTCTGAATTGACTGTATTTC
AGTGAGCTGCCCCCAAATCAAGTTTAGTGCCCTCATCCATTTATGTCTCAGACCACTATTCT
TAACTATTCAATGGTGAGCAGACTGCAAATCTGCCTGATAGGACCCATATTCCCACAGCAC
TAATTCAACATATACCTTACTGAGAGCATGTTTTATCATTACCATTAAGAAGTTAAATGAACA
TCAGAATTTAAAATCATAAATATAATCTAATACACTTTAACCATTTTCTTTGTGTGCCATCACA
AATACTCCTTAACCAAATACGGCTTGGACTTTTGAATGCATCCAATAGACGTCATTTGTCGT
CTAAGTCTGCATTCATCCACCAGCCTAGGCCTCCTGTCTTAATTTTCATACAGACAGAAATG
ACTCCCCACTGGGGAAAGAGCAAAGCAATACATGTAGCACTCTTTTTCAAACACTGGTCTT
TTTTTTTTTCTTAACAATCCAACATTGTTATGTGTTTTGCGTCTCATATTGACACCTTTTGGTC
AAGGTAGAGGACATGTTTGTTGTAAGCTTTCTTTTTCGTGTAGAGGATGGATTCTTCACTCC
TGATACACACAATCAGTGCACAGCAGCTCTCTTATACATCCAGTTGATGCCTTCAGTCTCCC
TGGCTTCTTACAAGCATCTTCTGGGCCTTGTGTGTCCCTGGGCACCTGTCCCTGGTCAATT
CCCGAAAGCTACTGTGCTCCTCTTGCCCATCTCCCCTTGCAAATAATATCTTCCATCGGGG
GACCGGCTTCCTCCAATTTCAGGAGAGGTGGGGCTGAAGGCACAGACTTGGGCGTCACTG
GCACAGATATAAGTAAATACAGCTGGAGTCTGCAGAGAGGCTGGACTGAGTCAGGGAGTC
AGGAAAGAGAAGCCACACACAAGGACAACCAATCATGTTTCTCATAATCTTCTTAACCTAG
GGAATAGGACACAATCATTTTTTCTTTTTAAAACATCTTTATCCCTGATCAGCCTCATTTCCT

CAAAAACTATAAAGGAAAATGCTGCTGACTTGTTTTTGCGTAGTAATTTCAGCTGTCACATA
ATAAGCTAAGGAAGACAGTATATAGTAAATAAGGACCCTTTATCTGTCTTATTTTCCCTTTTG
GCTTCACAGGAAACTTGTGAGAAACCTATGCAGCATAAAATTAATATGATTTCAATCCAGGG
ATTCAACGATGGAAGGAGGTCATGAGAATAGCAGAAAGTCTTCAAATCGAGATCATTATGA
AATCCTCAGACCCAGAGCACATAAATCCTACCCTCAGAGTCACTGAGCAGTTAACATTACA
AATTACAAACCATATCCAGTCAGAGTCATTCTCTTTCCTGCTTGTCTCCTGTACTCATGTTAC
AGGTTAGGGCAGTACCCCGAGTGGAGTGAACAATCTCTGGACTAACACTTGTCAGGATCA
GAAGCTGAGGTATCTGCACCCACATTACAGGAACAGGATATGTGCTCCTAGGGAACTGAG
GGTGTCAGGAGATGAGGAATGTCCCTGGAGTCACAGAAAGAAGGTATCAGATGTGTCTCA
CTCTGACATATGCAGGTGTTTATGAAACTCTGGGATTTCTAAGGAAGGATGCAGTGCAGAG
ACAGGTCCCAGAGGAGACAAGAGCTGAGAGACCATCCAAACTGGGACCACCTTGTCACTA
GACTTCAAATTTTCAATATTGATAGAGTGTTTTCTAAGAGTCAGGCCCTTTGCTGAGTGCTA
TGTGCAGCAGGATCAAAGGCAG

CCAGGAGGTAGAGGAGTCTTGAGGTACATCAGTCATTGGAGTTGAAGAGCAGAGATTCAA
AGGAAAGTTGGAACTGGAGCTTTAAAGGAGATGTGAAGTGGGTGACTCAACCTCTGACTCA
GAAAAATTGATACCTGCAGAAGAAAAAACCCGGCGGGCTTAGGACTCCCAGCTGAGTGTT
GTATCCTCCATCCCTTTCCACCTGGTCCCTTCATTTTCTACCCCTCACAGTTCCCTAACGAG
AAGGTGGTCCACCCAACAGACAACACTGCCTCAGATGGTTATCAAGGGGTACCCTAAGAA
GAAATCATCTCACCCTCTCTTTGTCCCCATTTGTCAAGTAGCAGTGAGGCCGAGCCAGGGG
ATGGTGAAAGTGGAAGGAGGTGGGAGTTGGGCATCGGGTGTGAAGATGCTCTTGAAAGG
GGTTTTAATAACCACTTGCTACCAGGCCAGTGAACACTTACCATAGTTGATGCCTTTTGAGC
ATGTTGCATTGTAAACTGTCCCTGAAATTACTGTGCACTTGGCTTATGGGATGAAACATCCT
CCTAGTTCTTTTGTCTCTCAGCTTCTCTGAAGTCTCATTGAGCACCTTCTCTTCAATTTCTTT
TACACAGTAAGAATAGGATCAGCTGTGCTAAACTAACAAATACCCAGATATCCAGGTTTGG
CTCATGTTACACGTCCAAAGTAAGTCATGCAGGAAGCTCTGCTCATCATCGTACTCAGGAA
GTCAGGCTGACAGTCTTTCTCCTGCACATCTGCTCCCAGAACCTCCCCAGCAGAATGAAG
GGAACCTAAGAATTTATTCACTGGCTTTTAATGATCCCTCCTAGAAAGAACACACTTCTCGC
ATTTCATTTTCCAATGTAAATCATATGGCTGCAACTAACTTCAAATAAGTGGGAATACTTGAA
GGTGGAAAACATTTAAGAAGTACACACTAAATAAATAATAAAATACTTCTACAAGAGA

SEQ ID NO: 48:

MMVLQVSAAPRTVALTALLMVLLTSVVQGRATPENYLFQGRQECYAFNGTQRFLERYIYNREE
FARFDSDVGEFRAVTELGRPAAEYWNSQKDILEEKRAVPDRMCRHNYELGGPMTLQRRVQP
RVNVSPSKKGPLQHHNLLVCHVTDFYPGSIQVRWFLNGQEETAGVVSTNLIRNGDWTFQILVM
LEMTPQQGDVYTCQVEHTSLDSPVTVEWKAQSDSARSKTLTGAGGFVLGLIICGVGIFMHRRS
KKVQRGSA

En el contexto de la presente invención, los genes *HLA-C*, *KIR2DL2*, *KIR2DL3*, *KIR2DL1*, *KIR2DS4* y *KIR2DS3* se definen también por una secuencia de nucleótidos o polinucleótido, que constituye la secuencia codificante de las proteínas recogidas respectivamente en la Tabla 1, siendo dichas proteínas el producto de expresión de cada uno de los genes identificados en la tabla. Adicionalmente la presente invención comprende diversas variantes procedentes de cada una de las secuencias identificadas en la tabla 1:

En este sentido, variantes de las secuencias asociadas al gen *HLA-C* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de la SEQ ID NO: 2 recogida en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a)

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con la SEQ ID NO: 2 recogida en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína *HLA-C*. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en la SEQ ID NO: 1 indicada en la Tabla 1.

Variantes de las secuencias asociadas al gen *KIR2DL2* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de la SEQ ID NO: 4 recogida en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a),

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con la SEQ ID NO: 4 recogida en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las

características estructurales de la proteína *KIR2DL2*. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en la SEQ ID NO: 3 indicada en la Tabla 1.

Variantes de las secuencias asociadas al gen *KIR2DL3* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de la SEQ ID NO: 6 recogida en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a),

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con la SEQ ID NO: 6 recogida en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína *KIR2DL3*. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en la SEQ ID NO: 5 indicada en la Tabla 1.

Variantes de las secuencias asociadas al gen *KIR2DL1* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de la SEQ ID NO: 8 recogida en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a),

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con la SEQ ID NO: 8 recogida en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína *KIR2DL1*. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en la SEQ ID NO: 7 indicada en la Tabla 1.

Variantes de las secuencias asociadas al gen *KIR2DS4* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de la SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12 o SEQ ID NO: 14 recogida en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a),

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con la SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12 o SEQ ID NO: 14 recogida en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína *KIR2DS4*. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en la SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 13 indicadas en la Tabla 1.

Variantes de las secuencias asociadas al gen *KIR2DS3* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de la SEQ ID NO: 16 recogida en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a),

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con la SEQ ID NO: 16 recogida en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína *KIR2DS3*. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en la SEQ ID NO: 15 indicada en la Tabla 1.

En el contexto de la presente invención, los genes *HLA-DQA1, KIR (KIR2DS1, KIR3DS1 y KIR3DL1, KIR2DS3), HLA-B y HLA-DQB3* se definen también por una secuencia de nucleótidos o polinucleótido, que constituye la secuencia codificante de las proteínas recogidas respectivamente en la Tabla 1, siendo dichas proteínas el producto de expresión de cada uno de los genes identificados en la tabla. Adicionalmente la presente invención comprende diversas variantes procedentes de cada una de las secuencias identificadas en la tabla 1. :

En este sentido, variantes de las secuencias asociadas al gen *HLA-DQA1* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de la SEQ ID NO: 18 recogida en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a)

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con la SEQ ID NO: 18 recogida en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína HLA-DQA1. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en la SEQ ID NO: 17 indicada en la Tabla 1.

Variantes de las secuencias asociadas al gen *KIR2DS1* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de la SEQ ID NO: 20 recogida en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a)

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con la SEQ ID NO: 20 recogida en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína KIR2DS1. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en la SEQ ID NO: 19 indicada en la Tabla 1.

Variantes de las secuencias asociadas al gen *KIR3DS1* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de la SEQ ID NO: 22 recogida en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a)

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un

98% o un 99% con la SEQ ID NO: 22 recogida en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína KIR3DS1. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en la SEQ ID NO: 21 indicada en la Tabla 1.

Variantes de las secuencias asociadas al gen *KIR3DL1* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de la SEQ ID NO: 24 recogida en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a)

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con la SEQ ID NO: 24 recogida en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína KIR3DL1. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en la SEQ ID NO: 23 indicada en la Tabla 1.

Variantes de las secuencias asociadas al gen *HLA-B* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de la SEQ ID NO: 26 recogida en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a)

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con la SEQ ID NO: 26 recogida en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína HLA-B. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en la SEQ ID NO: 25 indicada en la Tabla 1.

Variantes de las secuencias asociadas al gen *HLA-DQB3* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de la SEQ ID NO: 28 recogida en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a)

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con la SEQ ID NO: 28 recogida en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína HLA-DQB3. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en la SEQ ID NO: 27 indicada en la Tabla 1.

Variantes de las secuencias asociadas al gen *KIR2DS3* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de la SEQ ID NO: 16 recogida en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a)

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con la SEQ ID NO: 16 recogida en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína *KIR2DS3*. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en la SEQ ID NO: 15 indicada en la Tabla 1.

Variantes de las secuencias asociadas al gen *HLA-A* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de la SEQ ID NO: 32 recogida en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a)

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con la SEQ ID NO: 32 recogida en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína *HLA-A*. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en la SEQ ID NO: 33 indicada en la Tabla 1.

Variantes de las secuencias asociadas al gen *HLA-C* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de la SEQ ID NO: 2 recogida en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a)

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con la SEQ ID NO: 2 recogida en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína *HLA-C*. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en la SEQ ID NO: 1 indicada en la Tabla 1.

Variantes de las secuencias asociadas al gen *HLA-DRB1* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de la SEQ ID NO: 36 recogida en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a)

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con la SEQ ID NO: 36 recogida en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína *HLA-DRB1*. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en la SEQ ID NO: 35 indicada en la Tabla 1.

Variantes de las secuencias asociadas al gen *HLA-DQB1* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de las SEQ ID NO: 38 o SEQ ID NO: 40 recogidas en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a)

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con las SEQ ID NO: 38 o SEQ ID NO: 40 recogidas en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína *HLA-DQB1*. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en las SEQ ID NO: 37 o SEQ ID NO: 39 indicadas en la Tabla 1.

Variantes de las secuencias asociadas al gen *HLA-DPA1* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de las SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44 o SEQ ID NO: 46 recogidas en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a)

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con las SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44 o SEQ ID NO: 46 recogidas en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína *HLA-DPA1*. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en las SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43 o SEQ ID NO: 45 indicadas en la Tabla 1.

Variantes de las secuencias asociadas al gen *HLA-DPB1* comprenden:

a) molécula de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoácidica de la SEQ ID NO: 48 recogida en la Tabla 1.

b) moléculas de ácido nucleico cuya cadena complementaria hibrida con la secuencia polinucleotídica de a)

c) moléculas de ácido nucleico cuya secuencia difiere de a) y/o b) debido a la degeneración del código genético,

d) moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica con una identidad de al menos un 80%, un 90%, un 95%, un 98% o un 99% con la SEQ ID NO: 48 recogidas en la Tabla 1, respectivamente, y en las que el polipéptido codificado por dichos ácidos nucleicos posee la actividad y las características estructurales de la proteína *HLA-DRB1*. Entre dichas moléculas de ácido nucleico se encuentra la recogida en la SEQ ID NO: 47 indicada en la Tabla 1.

USO MÉDICO EN UN GRUPO DE PACIENTES

Los autores de la presente invención han identificado nuevos subgrupos de pacientes que se beneficiarán de determinados tratamientos:

Transmisión Vertical del VHC

Así pues, otro aspecto de la invención se refiere a un método para asignar a una madre ARN-VHC (+) a uno de dos grupos, en el que el primer grupo comprende madres identificables por el primer o segundo método de la invención (tienen una probabilidad aproximada 6,2, 3,9, 10,7 ó 6 veces mayor de transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia); y en el que el segundo grupo representa el resto de las madres.

Nos referimos a antivirales directos frente al VHC con capacidad de negativizar la viremia del VHC de forma aislada o en asociación de otros antivirales de acción directa que no precisan del interferón o ribavirina, previa autorización tras ensayos clínicos en gestantes en el último trimestre de gestación y/o administración a los recién nacidos en las mismas condiciones previas.

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un fármaco antiviral, preferiblemente de acción directa, para su uso en el tratamiento de una madre ARN-VHC (+) con probabilidad mayor de transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia identificable por el primer o segundo método de la invención, o alternativamente, al uso de una composición farmacéutica que comprende un fármaco antiviral, preferiblemente de acción directa, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una madre ARN-VHC (+) con probabilidad mayor de transmitir verticalmente el virus de la

hepatitis C a su descendencia identificable por el método de acuerdo con el primer o segundo método de la invención.

Fármacos antivirales que pueden emplearse para el tratamiento de una madre ARN-VHC (+) con una probabilidad mayor de transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C son, entre otros, pero sin limitarnos a, interferón pegilado, ribavirina, telaprevir, boceprevir, simeprevir, sofusbuvir, declatasvir, o cualquiera de sus combinaciones.

Otro aspecto de la invención se refiere a un método para asignar a un individuo con una madre ARN-VHC (+) a uno de dos grupos, en el que el primer grupo comprende individuos con una madre ARN-VHC (+) identificables por el tercer o cuarto método de la invención (tienen una probabilidad 3,3, 4,2 ó 14 veces mayor de ser contagiados mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C); y en el que el segundo grupo representa el resto de los individuos con una madre ARN-VHC (+).

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un fármaco antiviral, preferiblemente de acción directa, para su uso en el tratamiento de un individuo con una madre ARN-VHC (+) con una probabilidad mayor de ser contagiados mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C identificable por el tercer o cuarto método de la invención, o alternativamente, al uso de una composición farmacéutica que comprende fármaco antiviral, preferiblemente de acción directa, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de un individuo con una madre ARN-VHC (+) con el XXXX probabilidad de ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C identificable por el método de acuerdo con el tercer o cuarto método de la invención.

Fármacos antivirales que pueden emplearse para el tratamiento de un individuo con una madre ARN-VHC (+) con una probabilidad 3 mayor de ser contagiados mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C son, entre otros, pero sin limitarnos a, interferón pegilado, ribavirina, telaprevir, boceprevir, simeprevir, sofusbuvir, declatasvir, o cualquiera de sus combinaciones.

Otro **aspecto** de la invención se refiere a un microarray, de ahora en adelante primer microarray de la invención, que comprende oligonucleótidos o microarreglos de canal único diseñados a partir de una secuencia conocida o ARNm de los genes *HLA-C y KIR (KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1, KIR2DS4, KIR2DS3).* Más preferiblemente las secuencias de los genes *HLA-C y KIR (KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1, KIR2DS4, KIR2DS3)* son las secuencias nucleotídicas correspondientes indicadas en la tabla 1.

Otro **aspecto** de la invención se refiere a un microarray de proteínas, de ahora en adelante primer microarray de proteínas de la invención, que comprende anticuerpos o fragmentos de los mismos específicos frente a cualquiera de las secuencias SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4,

SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 16 o frente a secuencias aminoacídicas que presenten un grado de identidad con dichas secuencias aminoacídicas de, al menos del 85%, típicamente de, al menos del 90%, preferiblemente de, al menos del 95%, más preferiblemente de, al menos del 98%, aún más preferiblemente de, al menos del 99%. Las sondas son anticuerpos fijados a portaobjetos de vidrio y los blancos son muestras de suero o tejido.

Otro **aspecto** de la invención se refiere al uso del primer microarray de la invención, para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que una madre ARN-VHC (+) transmita verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia.

Otro **aspecto** de la invención se refiere al uso del primer microarray de la invención, para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de infección mediante transmisión vertical del virus de la hepatitis C de un individuo con una madre ARN-VHC (+).

Cronificación y/o aclaramiento

También se han determinado nuevos subgrupos de pacientes que se beneficiarán de tratamientos asociados a antivirales directos frente al VHC con capacidad de negativizar la viremia del VHC de forma aislada o en asociación de otros antivirales de acción directa que no precisan del interferon o ribavirina, previa autorización tras ensayos clínicos en gestantes en el último trimestre de gestación y/o administración a los recién nacidos en las mismas condiciones previas.

Así pues, otro aspecto de la invención se refiere a un método para asignar a un individuo con una madre ARN-VHC (+) a uno de dos grupos, en el que el grupo 1 comprende individuos identificables por el primer o sexto método de la invención (tienen una probabilidad aproximada 2, 7, 13 ó 15,6 veces mayor de cronificar la hepatitis C en el caso que sean contagiados por transmisión vertical); y en el que el grupo 2 representa el resto de individuos.

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un fármaco antiviral, preferiblemente de acción directa, para su uso en el tratamiento de un individuo con probabilidad mayor de cronificar la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, identificable por el quinto o décimo método de la invención, o alternativamente, al uso de una composición farmacéutica que comprende un fármaco antiviral, preferiblemente de acción directa, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de un individuo con probabilidad mayor de cronificar la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, identificable por el método de acuerdo con el quinto o décimo método de la invención.

Fármacos antivirales que pueden emplearse para el tratamiento de un individuo con una probabilidad mayor de cronificar la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical son, entre otros, pero sin limitarnos a, interferón pegilado, ribavirina, telaprevir, boceprevir, simeprevir, sofusbuvir, declatasvir, o cualquiera de sus combinaciones.

Así pues, otro aspecto de la invención se refiere a un método para asignar a un individuo con una madre ARN-VHC (+) a uno de dos grupos, en el que el grupo 3 comprende individuos identificables por el séptimo o duodécimo método de la invención (tienen una probabilidad aproximada 12,5 ó 16,7 veces mayor de aclarar el virus de la hepatitis C en el caso que sean contagiados por transmisión vertical); y en el que el grupo 4 representa el resto de individuos.

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un fármaco antiviral, preferiblemente de acción directa, para su uso en el tratamiento de un individuo con probabilidad mayor de no aclarar el virus de la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, identificable por el séptimo o duodécimo método de la invención, o alternativamente, al uso de una composición farmacéutica que comprende un fármaco antiviral, preferiblemente de acción directa, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de un individuo con probabilidad mayor no aclarar el virus de la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, identificable por el método de acuerdo con el séptimo o duodécimo método de la invención.

Fármacos antivirales que pueden emplearse para el tratamiento de un individuo con una probabilidad mayor de no aclarar el virus de la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical son, entre otros, pero sin limitarnos a, interferón pegilado, ribavirina, telaprevir, boceprevir, simeprevir, sofusbuvir, declatasvir, o cualquiera de sus combinaciones.

Así pues, otro aspecto de la invención se refiere a un método para asignar a un individuo con una madre ARN-VHC (+) a uno de dos grupos, en el que el primer grupo comprende individuos identificables por el noveno o decimocuarto método de la invención (tienen una probabilidad aproximada 2 ó 20 veces mayor de aclarar el virus de la hepatitis C en el caso que sean contagiados por transmisión vertical); y en el que el segundo grupo representa el resto de individuos.

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un fármaco antiviral, preferiblemente de acción directa, para su uso en el tratamiento de un individuo con probabilidad mayor de no aclarar el virus de la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, identificable por el séptimo o duodécimo método de la invención, o alternativamente, al uso de una composición farmacéutica que comprende un fármaco antiviral, preferiblemente de acción directa, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de un individuo con probabilidad mayor no aclarar el virus de la hepatitis C

en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, identificable por el noveno o decimocuarto método de la invención.

Fármacos antivirales que pueden emplearse para el tratamiento de un individuo con una probabilidad mayor de no aclarar el virus de la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical son, entre otros, pero sin limitarnos a, interferón pegilado, ribavirina, telaprevir, boceprevir, simeprevir, sofusbuvir, declatasvir, o cualquiera de sus combinaciones.

Así pues, otro aspecto de la invención se refiere a un método para asignar a un individuo con una madre ARN-VHC (+) a uno de dos grupos, en el que el primer grupo comprende individuos identificables por el undécimo u decimosexto método de la invención (tienen una probabilidad aproximada 3, 1,9, ó 1,6 veces mayor de cronificar la hepatitis C en el caso que sean contagiados por transmisión vertical); y en el que el segundo grupo representa el resto de individuos.

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un fármaco antiviral, preferiblemente de acción directa, para su uso en el tratamiento de un individuo con probabilidad mayor de cronificar la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical identificable por el undécimo u decimosexto método de la invención, o alternativamente, al uso de una composición farmacéutica que comprende un fármaco antiviral, preferiblemente de acción directa, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de un individuo con probabilidad mayor de cronificar la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical identificable por undécimo u decimosexto método de la invención.

Fármacos antivirales que pueden emplearse para el tratamiento de un individuo con una probabilidad mayor de cronificar la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical son, entre otros, pero sin limitarnos a, interferón pegilado, ribavirina, telaprevir, boceprevir, simeprevir, sofusbuvir, declatasvir, o cualquiera de sus combinaciones.

Otro **aspecto** de la invención se refiere a un microarray, de ahora en adelante segundo microarray de la invención, que comprende oligonucleótidos o microarreglos de canal único diseñados a partir de una secuencia conocida o ARNm de los genes *HLA-DQA01*, *KIR2DS1*, *KIR3DS1*, *KIR3DL1*, *HLA-B, HLA-DQB3, KIR2DS3, HLA-A, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y *HLA-DPB1.* Más preferiblemente las secuencias de los genes *HLA-DQA01*, *KIR2DS1*, *KIR3DS1*, *KIR3DL1*, *HLA-B, HLA-DQB3, KIR2DS3, HLA-A, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y *HLA-DPB1* son las secuencias nucleotídicas correspondientes indicadas en la tabla 1.

Otro **aspecto** de la invención se refiere a un microarray de proteínas, de ahora en adelante segundo microarray de proteínas de la invención, que comprende anticuerpos o fragmentos de

los mismos específicos frente a cualquiera de las secuencias SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 48 o frente a secuencias aminoacídicas que presenten un grado de identidad con dichas secuencias aminoacídicas de, al menos del 85%, típicamente de, al menos del 90%, preferiblemente de, al menos del 95%, más preferiblemente de, al menos del 98%, aún más preferiblemente de, al menos del 99%. Las sondas son anticuerpos fijados a portaobjetos de vidrio y los blancos son muestras de suero o tejido.

Otro **aspecto** de la invención se refiere al uso del segundo microarray de la invención, para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) cronifique la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical.

Otro **aspecto** de la invención se refiere al uso del segundo microarray de la invención, para predecir o pronosticar la probabilidad de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) aclare el VHC en el caso que sea contagiado por transmisión vertical.

Implementación de los métodos de la invención

Una vez obtenida la muestra y determinados los genotipos correspondientes, los métodos o procedimientos para la obtención de datos útiles previamente descritos pueden ejecutarse mediante medios informáticos, por lo que la invención también comprende los siguientes aspectos:

El **vigesimosexto aspecto** de la invención se refiere a un programa de ordenador que comprende instrucciones de programa para hacer que, una vez tomada la muestra y determinados los correspondientes genotipos, un ordenador lleve a la práctica el procedimiento de acuerdo con cualquiera de los métodos de la invención.

La invención abarca programas de ordenador que pueden estar en forma de código fuente, de código objeto o en un código intermedio entre código fuente y código objeto, tal como en forma parcialmente compilada, o en cualquier otra forma adecuada para usar en la implementación de los procesos de acuerdo con la invención. En particular, los programas de ordenador también abarcan aplicaciones en la nube que implementen el procedimiento de la invención.

Estos programas pueden estar dispuestos sobre o dentro de un soporte apto para su lectura, en adelante, “medio portador” o “portador”. El medio portador puede ser cualquier entidad o dispositivo capaz de portar el programa. Cuando el programa va incorporado en una señal que puede ser transportada directamente por un cable u otro dispositivo o medio, el medio portador

puede estar constituido por dicho cable u otro dispositivo o medio. Como variante, el medio portador podría ser un circuito integrado en el que va incluido el programa, estando el circuito integrado adaptado para ejecutar, o para ser utilizado en la ejecución de, los procesos correspondientes.

A modo de ejemplo, los programas podrían estar incorporados en un medio de almacenamiento, como una memoria ROM, una memoria CD ROM o una memoria ROM de semiconductor, una memoria USB, o un soporte de grabación magnética, por ejemplo, un disco flexible o un disco duro. Alternativamente, los programas podrían estar soportados en una señal portadora transmisible. Por ejemplo, podría tratarse de una señal eléctrica u óptica que podría transportarse a través de cable eléctrico u óptico, por radio o por cualesquiera otros medios.

En este sentido, el **vigesimoséptimo aspecto** de la invención se refiere a un medio de almacenamiento legible por un ordenador que comprende instrucciones de programa capaces de hacer que un ordenador lleve a cabo los pasos de cualquiera de los métodos de la invención.

Finalmente, el **vigesimoctavo aspecto** de la invención se refiere a una señal transmisible que comprende instrucciones de programa capaces de hacer que un ordenador lleve a cabo los pasos de cualquiera de los métodos de la invención

EJEMPLOS DE LA INVENCIÓN

Transmisión vertical del VHC

PACIENTES Y METODOS

El estudio se realizó en 98 madres ARN-VHC (+) y sus 120 hijos. De los 24 niños infectados: 16 aclararon el virus y 8 presentaron cronificación. Se determinaron los HLA clasel (A, B, Cw), y clasell (DRB1, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1). El valor de p fue corregido por Bonferroni (Pc). También se determinaron 16 los receptores KIRs de las células NK, 14 genes (KIR2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL4, 2DL5, 3DL1, 3DL2, 3DL3, 2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4, 2DS5 y 3DS1), y 2 psudogenes (KIR2DP1, 3DP1). Métodos LABType SSO Typing Test y Genotyping PCR kit (One Lambda Inc., Canoga Park, USA), para la tecnología xMAP de Luminex.

RESULTADOS

Estudio de la TV: Los niños con KIR2DL3 tienen menor riesgo de infección (OR: 0,07, P=0,019). La presencia en la madre de Cw*06 (OR: 5,8, P=0,007, Pc=0,07), Cw*0602 (OR: 5,7, P=0,007, Pc=0,08) aumenta el riesgo de infección de su hijo (este caso es únicamente una

"tendencia" ya que la Pc no llega a ser menor o igual a 0.05). Por tanto este dato se podría quitar para evitar confusión). Respecto a los ligandos C1 y C2, la presencia de HLA-C1 en las madres y/o en los niños muestran menor riesgo de infección (madres: OR: 0,2, P=0,009, niños: OR: 0,3, P=0,042), mientras que los que tienen el ligando HLA-C2, tienen mayor riesgo de infección (madres: OR: 6,2, P=0,019, niños: OR:3,3, P=0,042). En el estudio de los fenotipos KIR así como la unión con su ligando, de todas las combinaciones encontradas estadísticamente significativas, hay que resaltar que cuando el KIR está unido al ligando C1, es protector frente a la TV y si la unión se produce al ligando C2 favorece la TV. En las madres: KIR2DL2/2DL3-C2C2 (OR: 10,7, P=0,045), KIR2DL1-C2 (OR: 6,1, P=0,020), KIR2DS4-C2 (OR: 6,2, P=0,019), KIR2DL3-C1 (OR: 0,4, P=0,05). En los niños: KIR2DL2/2DL2 (OR: 14,6, P=0,019), KIR2DL2/2DL3 (OR: 0,4, P=0,049), KIR2DL3/2DL3-C2C2 (OR: 0,2, P=0,009).

TRANSMISIÓN VERTICAL							
HLA/KIR	**Total (n=98)**	**Infectados (n=24)**	**No infectados (n=74)**	**cOR**	**CI**	***p-valor***	**Pc**
HLA Genomics high resolution typing							
Madre, n(%)							
- A*6801	2 (2)	2 (8)	0 (0)	4,4	n/a	**0,050**	ns
- B*1503	2 (2)	2 (8)	0 (0)	4,4	n/a	**0,050**	ns
- B*3501	11 (11)	6 (25)	5 (7)	4,6	1,3-16,8	**0,021**	ns
- B*3701	2 (2)	2 (8)	0 (0)	4,4	n/a	**0,050**	ns
- B*5001	3 (3)	3 (13)	0 (0)	4,5	n/a	**0,013**	ns
- Cw*0602	12 (12)	7 (29)	5 (7)	5,7	1,6-20,1	**0,007**	**0,08**
- DRB1*1302	10 (10)	5 (21)	5 (7)	3,6	1,01-14,0	**0,050**	ns
- DQA1*0301	17 (17)	0 (0)	17 (23)	0,7	n/a	**0,010***	ns
- DPB1*0201	36 (37)	13 (54)	23 (31)	2,6	1,0-6,7	**0,045**	ns
Niño, n(%)							
- DPB1*0201	26 (26)	11 (46)	15 (20)	3,3	1,2-8,9	**0,016**	ns
HLA Genomics low resolution typing							
Madre, n(%)							
- A*68	2 (2)	2 (8)	0 (0)	4,4	n/a	**0,050**	ns
- B*37	2 (2)	2 (8)	0 (0)	4,4	n/a	**0,050**	ns
- B*50	3 (3)	3 (13)	0 (0)	4,5	n/a	**0,013**	ns
- Cw*06	12 (12)	7 (29)	5 (7)	5,8	1,6-20,1	**0,007**	**0,07**

- DRB1*04	25 (25)	2 (8)	23 (31)	0,2	0,04-0,9	**0,040**	ns
- DRB1*13	35 (35)	13 (54)	22 (29)	2,8	1,1-7,2	**0,033**	ns
- DQA1*03	24 (24)	2 (8)	22 (29)	0,2	0,05-1,0	**0,049**	ns
Niño (n=99)							
- DPB1*02	32 (32)	12 (50)	20 (27)	2,7	1,0-7,0	**0,041**	ns
KIR Genotyping children, n(%)							
KIR2DL3	93 (95)	20 (83)	73 (99)	0,07	0,01-0,6	**0,019**	---

Tabla 2: Resultados significativos de Alelos HLA y KIR para la TV. Corrección por Bonferroni de los HLA. Valores absolutos con porcentajes entre paréntesis. cOR: Relación de probabilidad bruta (Odds crude ratio), CI: intervalo de confianza, Pc, Corrección de P por Bonferroni, p-valor< 0,05

5

TRANSMISIÓN VERTICAL (solo madres RNA-VHC(+)						
KIR/LIGANDS MADRES	**Total (n=98)**	**Infectados (n=24)**	**No infectados (n=74)**	**cOR**	**CI**	***p-valor***
- HLA-C1	75 (78)	14 (58)	61 (85)	0,2	0,09-0,7	**0,009**
- HLA-C2	68 (71)	22 (92)	46 (64)	6,2	1,4-28,6	**0,019**
- HLA-Cw						
- HLA-C1C1	28 (29)	2 (8)	26 (36)	0,2	0,04-0,7	**0,019**
- HLA-C1C2	47 (49)	12 (50)	35 (49)	---	---	ns
- HLA-C2C2	21 (22)	10 (42)	11 (15)	3,9	1,4-11,1	**0,009**
-2DL2/2DL2-C1C1	2 (2)	0 (0)	2 (3)	---	---	ns
-2DL2/2DL2-C1C2	6 (6)	1 (14)	5 (7)	---	---	ns
-2DL2/2DL2-C2C2	1 (1)	1 (4)	0 (0)	---	---	ns
-2DL2/2DL3-C1C1	11 (12)	1 (4)	10 (14)	---	---	ns
-2DL2/2DL3-C1C2	29 (31)	9 (39)	20 (28)	---	---	ns
-2DL2/2DL3-C2C2	4 (4)	3 (13)	1 (1)	10,7	1,1-108	**0,045**
-2DL3/2DL3-C1C1	15 (16)	1 (4)	14 (19)	---	---	ns
-2DL3/2DL3-C1C2	11 (12)	1 (4)	10 (14)	---	---	ns
-2DL3/2DL3-C2C2	16 (17)	6 (26)	10 (14)	---	---	ns
-2DL1-C2	67 (71)	22 (92)	45 (64)	6,1	1,3-28,1	**0,020**
-2DL2-C1	48 (51)	11 (48)	37 (51)	---	---	ns
-2DL3-C1	67 (70)	13 (54)	54 (75)	0,4	0,1-1,0	**0,050**

-2DS1_C2	21 (22)	8 (33)	13 (18)	---	---	ns
-2DS2_C1	44 (46)	11 (46)	33 (46)	---	---	ns
-2DS3_C1	22 (23)	6 (25)	16 (22)	---	---	ns
-2DS4-C1	74 (77)	14 (58)	60 (83)	0,3	0,1-0,7	**0,015**
-2DS4-C2	68 (71)	22 (92)	46 (64)	6,2	1,4-28,6	**0,019**
KIR/LIGANDS NIÑOS	**Total (n=98)**	**Infectados (n=24)**	**No infactados (n=74)**	**COr**	**CI**	***p-value***
- HLA-C1	81 (84)	17 (71)	64 (89)	0,3	0,09-0,9	**0,042**
- HLA-C2	73 (76)	19 (79)	54 (75)	---	---	ns
- HLA-Cw						
- C1C1	23 (24)	5 (21)	18 (25)	---	---	ns
- C1C2	58 (60)	12 (50)	46 (64)	---	---	ns
- C2C2	15 (16)	7 (29)	8 (11)	3,3	1,0-10,4	**0,042**
-2DL2/2DL2-C1C1	1 (1)	1 (4)	0 (0)	---	---	ns
-2DL2/2DL2-C1C2	2 (2)	1 (4)	1 (1)	---	---	ns
-2DL2/2DL2-C2C2	2 (2)	2 (8)	0 (0)	4,2	---	**0,06**
-2DL2/2DL3-C1C1	11 (12)	3 (13)	8 (11)	---	---	ns
-2DL2/2DL3-C1C2	26 (27)	3 (13)	23 (32)	0,3	0,08-1,1	**0,07**
-2DL2/2DL3-C2C2	8 (7)	1 (4)	7 (10)	---	---	ns
-2DL3/2DL3-C1C1	11 (12)	1 (4)	10 (14)	---	---	ns
-2DL3/2DL3-C1C2	30 (31)	8 (33)	22 (31)	---	---	ns
-2DL3/2DL3-C2C2	5 (5)	4 (17)	1 (1)	14,2	1,5-134	**0,021**
-2DL1-C2	70 (74)	17 (74)	53 (74)			ns
-2DL2-C1	40 (41)	8 (33)	32 (43)			ns
-2DL3-C1	78 (81)	15 (63)	63 (88)	0,2	0,08-0,7	**0,009**
-2DS1_C2	23 (24)	7 (29)	16 (22)			ns
-2DS2_C1	38 (39)	8 (33)	30 (41)			ns
-2DS3_C1	23 (24)	6 (25)	17 (23)			ns
-2DS4_C1	75 (78)	16 (67)	59 (82)			ns
-2DS4_C2	70 (73)	18 (75)	52 (72)			ns

Tabla 3: Resultados significativos de genes KIR y la unión a sus ligandos, Valores absolutos con porcentajes entre paréntesis, cOR: Relación de probabilidad bruta (Odds crude ratio), CI: intervalo de confianza, Pc, Corrección de P por Bonferroni, p-valor< 0,05

MULTIVARIANTE FINAL TV:

	aOR	CI	*P-valor*
Madre (n=98)			
CV (>600,000 IU/mL)	3,90	1,01-15,6	**0,049**
Genotype 1	0,17	0,04-0,7	**0,017**
HLA-C1L	0,15	0,04-0,6	**0,008**
HLA-C2L	2,73	0,5-16,3	0,270

Tabla 4. Modelo final de multivariante: Las variables introducidas en el estudio han sido: CV madre en el parto, Genotipo viral, tipo de parto, lactancia y ligando HLA-C1 y C2 de la madre. aOR: Relación de probabilidad ajustada (Adjusted Odds Ratio). CI: Intervalo de confianza. Grupo de referencia: ligandos HLA, no presencia; CV<600.000 IU/mL, genotipo no-1. La aOR es la probabilidad de que exista TV en presencia del alelo con respecto a la no presencia. P-valor ≤0.05.

Se puede concluir que los estudios de factores genéticos de madres y recién nacidos son necesarios para entender los procesos mediante los cuales se producen la TV y las posibilidades de infección crónica en el RN. Es posible afirmar que los ligandos HLA tipo C1 están relacionados con la protección frente a la infección por el virus y los de tipo C2 estarían a favor de la transmisión vertical. Observamos el mismo efecto cuando estos ligandos se unen a los receptores KIR.

<u>Cronificación y aclaramiento del VHC</u>

PACIENTES Y METODOS

El estudio se realizó en 98 madres ARN-VHC (+) y sus 120 hijos. De los 24 niños infectados: 16 aclararon el virus y 8 presentaron cronificación. Se determinaron los HLA clasel (A, B, Cw), clasell (DRB1, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1). El valor de p corregido por Bonferroni (Pc) y 16 receptores KIRs de las células NK (KIR2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL4, 2DL5, 3DL1, 3DL2, 3DL3, 2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4, 2DS5 y 3DS1). Métodos LABType SSO Typing Test y Genotyping PCR kit (One Lambda Inc., Canoga Park, USA), para la tecnología xMAP de Luminex.

RESULTADOS

Cronificación: La presencia en la madre de DQA1*01 (RR: 2,1, P=0,009, Pc=0,036), KIR2DS1 (OR: 7,2, P=0,042), KIR3DS1 (OR:13, P=0,013) favorece la cronificación de la infección en el niño. La presencia en el niño del alelo DQB1*03 (OR:0,05, P=0,012, Pc=0,048) y del KIR2DS3 (RR:0,5, P=0,013) se relaciona con el aclaramiento viral, así como la homocigosis del KIR3DL1/3DL1 (OR:0,08, P=0,0013) y del ligando HLA-Bw4/Bw4 (OR:0,06, P=0,022), mientras que la unión del KIR3DS1-Bw4 (OR=7,2, P=0,042), KIR2DS1-C2 (OR=7,2, P=0,042) así como la heterocigosis del KIR3DL1/3DS1 (OR:13, P=0.013), favorecen la cronificación del virus. Concordancia alélica madre/hijo: Al realizar el análisis conjunto de todos los HLA, fue mayor entre los niños con infección crónica que en aquellos que habían aclarado el virus (74% ± 3.8 vs 60% ± 1,4, P=0,008). También existe relación con la cronificación cuando agrupamos los alelos en clase I (63% ± 2.7 vs 53% ± 1,7, P=0,009) y en clase II (81% ± 5.8 vs 65% ± 2.6, P=0,024), Cuando analizamos por alelos de forma individual existen diferencias significativas en el HLA-DRB1 (81% ± 9.1 vs. 56% ± 4.2, P=0,013), y en el HLA-DQA1 (81% ± 9.1 vs. 59% ± 5.0, P=0,036).

CRONIFICACIÓN							
HLA/KIR	**Todos (n=24)**	**Crónico (n=8)**	**Aclaramiento (n=16)**	**cOR**	**CI**	***p-valor***	**Pc**
Tipaje genómico de alta resolución de HLA							
Madre, n(%)							
DQA1*0101	3 (13)	3 (38)	0 (0)	4,2	n/a	**0,028**	ns
DQB1*0604	3 (13)	3 (38)	0 (0)	4,2	n/a	**0,028**	ns
Hijo, n(%)							
B*0801	3 (13)	3 (38)	0 (0)	4,2	n/a	**0,028**	ns
DRB1*0301	3 (13)	3 (38)	0 (0)	4,2	n/a	**0,028**	ns
DQA1*0501	3 (13)	3 (38)	0 (0)	4,2	n/a	**0,028**	ns
DQB1*0201	3 (13)	3 (38)	0 (0)	4,2	n/a	**0,028**	ns
Tipaje genómico de baja resolución de HLA							
Madre, n(%)							
DRB1*13	13 (54)	7 (88)	6 (38)	11,7	1,1-119,5	**0,039**	ns
DQA1*01	15 (63)	8 (100)	7 (44)	2,1	n/a	**0,009**	**0,036**
DQB1*06	13 (54)	7 (88)	6 (38)	11,7	1,1-119,5	**0,039**	ns
Hijo, n(%)							
B*08	3 (13)	3 (38)	0 (0)	4,2	n/a	**0,028**	ns
DRB1*03	3 (13)	3 (38)	0 (0)	4,2	n/a	**0,028**	ns
DRB1*04	6 (25)	0 (0)	6 (38)	0,6	n/a	0,06	ns
DQA1*03	6 (25)	0 (0)	6 (38)	0,6	n/a	0,06	ns
DQB1*03	13 (54)	1 (13)	12 (75)	0,05	0,004-0,5	**0,012**	**0,048**
Genotipado KIR							
Madre, n(%)							
KIR2DS1	8 (33)	5 (63)	3 (18)	7.2	1.1-48.5	**0,042**	---

KIR3DS1	9 (38)	6 (75)	3 (19)	13.0	1.7-99.4	**0,013**	---
Hijo, n(%)							
KIR2DS3	7 (29)	0 (0)	7 (44)	0.5**	n/a	**0,054**	---

Tabla 5. Alelos HLA y KIR "solos" relacionados con la cronificación de la enfermedad. Valores absolutos con porcentajes entre paréntesis. cOR: Relación de probabilidad bruta (Odds crude ratio), CI: intervalo de confianza, Pc, Corrección de P por Bonferroni, p-valor< 0,05

5

CRONIFICACIÓN						
MADRES	**Todos (n=24)**	**Crónico (n=8)**	**Aclaramiento (n=16)**	**cOR**	**CI**	***p-valor***
HLA Ligandos						
- Bw4	21 (88)	6 (75)	15 (94)	---	---	ns
- Bw6	12 (50)	7 (88)	5 (31)	15,4	1,5-160	**0,022**
- Bw4_Bw4	12 (50)	1 (13)	11 (69)	0,06	0,006-0,7	**0,022**
- Bw4_Bw6	9 (38)	5 (63)	4 (25)	---	---	ns
- Bw6_Bw6	3 (13)	2 (25)	1 (6)	---	---	ns
KIR+HLA						
- 3DL1_Bw4	21 (88)	6 (75)	15 (94)	---	---	ns
- 3DS1_Bw4	8 (33)	5 (63)	3 (19)	7,2	1,1-48,5	**0,042**
HAPLOTIPOS NIÑOS	**Todos (n=24)**	**Crónico (n=8)**	**Aclaramiento(n=16)**	**cOR**	**CI**	***p-value***
HLA ligandos						
- Bw4	20 (83)	6 (75)	14 (88)	---	---	ns
- Bw6	15 (63)	6 (75)	9 (56)	---	---	ns
- Bw4_Bw4	9 (38)	2 (25)	7 (44)	---	---	ns
- Bw4_Bw6	11 (46)	4 (50)	7 (44)	---	---	ns
- Bw6_Bw6	4 (17)	2 (25)	2 (13)	---	---	ns
KIR+HLA						
- 3DL1_Bw4	19 (79)	5 (63)	14 (88)	---	---	ns
- 3DS1_Bw4	9 (38)	3 (38)	6 (38)	---	---	ns

Tabla 6. Ligandos HLA-Bw y su unión a los receptores KIR "relacionados con la cronificación de la enfermedad. Valores absolutos con porcentajes entre paréntesis. cOR: Relación de probabilidad bruta (Odds crude ratio), CI: intervalo de confianza, Pc, Corrección de P por Bonferroni, p-valor< 0,05

10

CRONIFICACIÓN			
% Concordancia alélica madre/hijo	Crónico (n=8)	Aclaramiento(n=16)	*p-valor*
Tipaje genómico de baja			

resolución de HLA			
TODOS LOS HLA	74 ± 3,8	60 ± 1,4	0,008
HLA CLASE I	63 ± 2,7	53 ± 1,7	0,009
HLA CLASE II	81 ± 5,8	65 ± 2,6	0,024
HLA-A	56 ± 6,3	50 ± 0,0	ns
HLA-B	63 ± 8,2	56 ± 4,2	ns
HLA-Cw	69 ± 9,1	53 ± 3,1	0,058
HLA-DRB1	81 ± 9,1	56 ± 4,2	0,013
HLA-DQA1	81 ± 9,1	59 ± 5,0	0,036
HLA-DQB1	69 ± 9,1	59 ± 5,0	ns
HLA-DPA1	100 ± 0,0	84 ± 5,9	0,082
HLA-DPB1	75 ± 9,4	67 ± 6,3	ns
KIR	84 ± 4,0	85 ± 3,5	ns

Tabla 7. Porcentajes de las concordancias alélicas madre/hijo para la cronificación

Se ha realizado el análisis mediante curvas de rendimiento diagnóstico (ROC) para estas concordancias alélicas obteniendo los siguientes resultados (ver figura 1).

En la figura 1 se observan las siguientes áreas bajo la curva:

1.- Porcentaje HLA-Todos: 0,828

2.- Porcentaje HLA-clase I: 0,781

3.- Porcentaje HLA-clase II: 0,781

Si se considera la concordancia alélica como un test diagnóstico para la cronificación del VHC en el niño, se puede decir que la determinación de la misma teniendo en cuenta Todos los HLA es una buena prueba diagnóstica, según los datos, ya que realizando la curva ROC, se obtiene un área bajo la curva de 0,828. El mejor punto de corte es 65,6% que corresponde a la concordancia alélica. La sensibilidad obtenida es del 75% y la especificidad del 87%. VPP=74% y VPN=87%.

Por tanto para el total de Todos los HLA, podemos decir que para el 100% de niños infectados, cuya concordancia alélica con su madre sea mayor al 65,6%, el 74% de ellos va a cronificar la enfermedad.

Para los HLA clase I, del 100% de niños infectados cuya concordancia alélica con su madre sea mayor al 58.4%, el 65% de ellos va a cronificar la enfermedad.

En el caso de los HLA clase II, del 100% de niños infectados cuya concordancia alélica con su madre sea mayor al 75%, el 62% de ellos va a cronificar la enfermedad.

El mejor test en este caso sería por tanto el que engloba al total de alelos HLA.

% Concordancia alélica madre/hijo para la cronificación						
Test diagnostico	Area bajo la curva	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Todos los HLA	0,828	65,60%	75%	87%	74%	87%
HLA clase I	0,78	58,40%	75%	81%	65%	87%
HLA clase II	0,78	75%	62,50%	81%	62%	82%

Tabla 8. Tabla de datos procedentes de las curvas ROC

Para el estudio de test diagnóstico de alelos individuales, debido a que el hijo puede tener únicamente un 50% de concordancia con la madre o un 100%, se considera un test positivo cuando la concordancia es del 100% y un test negativo cuando es del 50%. En este caso no podemos realizar curvas ROC porque tenemos dos variables cualitativas debido a que solo podemos tener dos situaciones: 100% o 50% de concordancia (puesto que cada individuo solo tenemos dos alelos de cada tipo). Hemos considerado una condordancia del 100% para un test positivo y una concordancia del 50% para un test negativo. La sensibilidad y la especificidad se calcularán a partir de las tablas de contingencia.

Test diagnóstico para alelos individuales significativos				
Alelo	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
HLA-DRB1	71%	87%	71%	82%
HLA-DQA1	62%	81%	62%	81%

Tabla 9. Test diagnóstico para alelos individuales significativos

Por tanto (tabla 9) para el HLA-DRB1, del 100% de niños infectados, cuya concordancia alélica con su madre sea del 100%, el 71% va a cronificar la enfermedad

Para el HLA-DQA1, del 100% de niños infectados, cuya concordancia alélica con su madre sea del 100%, el 62% va a cronificar la enfermedad

Por tanto, los estudios de factores genéticos de madres y recién nacidos son necesarios para entender los procesos mediante los cuales se producen la TV y las posibilidades de infección crónica en el RN. Los ligandos HLA-Bw estarán relacionados con la cronificación del virus de la hepatitis C en niños. Además se puede afirmar que el porcentaje de concordancia alélica entre madre/hijo es vital para conocer la evolución de la enfermedad en el niño, mientras que este factor no tiene ninguna relación con la transmisión vertical del virus.

REIVINDICACIONES

1.- Método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que una madre portadora del virus de la hepatitis C (ARN-VHC (+)) transmita verticalmente el virus a su descendencia, o de que un individuo cuya madre es portadora del virus de la hepatitis C sea infectado, o, herede y/o cronifique y/o aclare, en caso de que sea contagiado, el virus de la hepatitis C, que comprende

a) obtener una muestra biológica aislada de la madre, y

b) determinar el genotipo de los genes HLA y KIR en la muestra aislada del paso (a)

2.- El método según la reivindicación 1 para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que una madre gestante ARN-VHC (+) transmita verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia, caracterizado porque en el paso b) se determina el genotipo de los genes *HLA-C y KIR* en la muestra aislada en el paso (a).

3.- El método según la reivindicación anterior, donde en el paso (b) se determina el genotipo de los genes *KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1,* y *KIR2DS4.*

4.- Un método para predecir o pronosticar la transmisión vertical del virus de la hepatitis C a la descendencia, que comprende los pasos (a) y (b) según cualquiera de las reivindicaciones 2 o 3, y además comprende:

c1) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad al menos 5 veces mayor, y preferiblemente 6 veces mayor, de transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C2, en comparación con una madre que no lo presente.

5.- Un método para predecir o pronosticar la transmisión vertical del virus de la hepatitis C a la descendencia, que comprende los pasos según reivindicaciones 2 a 4 y además comprende:

c2) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad al menos 3 veces mayor, y preferiblemente 3,9 veces mayor, de transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C2 en homocigosis (HLA-C2C2), en comparación con una madre que no lo presente.

6.- Un método para predecir o pronosticar la transmisión vertical del virus de la hepatitis C a la descendencia, que comprende los pasos según reivindicaciones 2 a 5 y además comprende:

c3) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad de al menos 9 veces mayor, y preferiblemente 10,7 veces mayor, de transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C2 en homocigosis (HLA-

C2C2) en combinación con el genotipo KIR2DL2 y KIR2DL3, en comparación con una madre que no presente dichos genotipos.

7.- Un método para predecir o pronosticar la transmisión vertical del virus de la hepatitis C a la descendencia, que comprende los pasos según reivindicaciones 2 a 5 y además comprende:

c4) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad al menos 5 veces mayor, y preferiblemente 6 veces mayor, de transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C2 en combinación con KIR2DL1, o el genotipo HLA-C2 en combinación con KIR2DS4, en comparación con una madre que no lo presente;

8.- Un método para predecir o pronosticar la transmisión vertical del virus de la hepatitis C a la descendencia, que comprende los pasos según reivindicaciones 2 a 7 y además comprende:

c5) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad al menos 4 veces mayor, y preferiblemente 5 veces mayor, de no transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C1 o HLA-C1 en homocigosis (HLA-C1C1), en comparación con una madre que no lo presente.

9.- Un método para predecir o pronosticar la transmisión vertical del virus de la hepatitis C a la descendencia, que comprende los pasos según reivindicaciones 2 a 8 y además comprende:

c6) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad al menos 2 veces mayor, y preferiblemente 2,5 veces mayor, de no transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C1 en combinación con KIR2DL3, en comparación con una madre que no lo presente;

10.- Un método para predecir o pronosticar la transmisión vertical del virus de la hepatitis C a la descendencia, que comprende los pasos según reivindicaciones 2 a 9 y además comprende:

c7) clasificar a la madre del paso (a), en el grupo de madres con una probabilidad al menos 3 veces mayor, y preferiblemente 3,3 veces mayor, de no transmitir verticalmente el virus de la hepatitis C a su descendencia si presenta el genotipo HLA-C1 en combinación con *KIR2DS4*, en comparación con una madre que no lo presente.

11.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 10, donde la muestra biológica aislada de la madre gestante del paso (a) es una muestra de sangre.

12.- Un kit o dispositivo, que comprende los elementos necesarios para detectar los genotipos *HLA-C, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1* y/o *KIR2DS4*.

13.- Un kit o dispositivo según la reivindicación anterior, que comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-C, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1* y/o *KIR2DS4*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 3 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 5 (KIR2DL3), SEQ ID NO: 7 (KIR2DL1), SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 y/o SEQ ID NO: 13 (KIR2DS4);

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 3 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 5 (KIR2DL3), SEQ ID NO: 7 (KIR2DL1), SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 y/o SEQ ID NO: 13 (KIR2DS4).

- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 2 (HLA-C), SEQ ID NO: 4 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 6 (KIR2DL3), SEQ ID NO: 8 (KIR2DL1), SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12 y/o SEQ ID NO: 14 (KIR2DS4).

14.- El kit o dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 12 o 13, donde los cebadores, sondas o anticuerpos están modificados.

15.- El kit o dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, que además comprende todos aquellos elementos necesarios para llevar a cabo un procedimiento PCR.

16.- Uso del kit o dispositivo tal y como se define en las reivindicaciones 12 a 15, para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la transmisión vertical del virus de la hepatitis C.

17.- Un método según reivindicación 1 para predecir o pronosticar el riesgo de infección mediante transmisión vertical del virus de la hepatitis C de un individuo con una madre ARN-VHC (+), que comprende:

a) obtener una muestra biológica aislada del individuo, y

b) detectar el genotipo de los genes *HLA-C y KIR* en la muestra aislada del paso (a).

18.- El método según la reivindicación anterior, donde en el paso (b) se determina el genotipo de los genes *KIR2DL2, KIR2DL3,* y *KIR2DS3*

19.- Un método para predecir o pronosticar el riesgo de infección mediante transmisión vertical del virus de la hepatitis C de un individuo con una madre ARN-VHC (+), que comprende los pasos (a) y (b) según cualquiera de las reivindicaciones 17 o 18, y además comprende:

c1) clasificar al individuo del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 3 veces mayor, y preferiblemente 3,3 veces mayor, de ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C si presenta el genotipo HLA-C2 en homocigosis (HLA-C2C2) en comparación con un individuo que no lo presente;

20.- El método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de infección mediante transmisión vertical del virus de la hepatitis C de un individuo con una madre ARN-VHC (+), que comprende los pasos según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 19 y además comprende:

c2) clasificar al individuo del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 4 veces mayor, preferiblemente 4,2 veces mayor de ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C si presenta el genotipo HLA-C2 en homocigosis (HLA-C2C2) en combinación con la homocigosis de KIR2DL2 (KIR2DL2/2DL2), en comparación con un individuo que no lo presente.

21.- El método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de infección mediante transmisión vertical del virus de la hepatitis C de un individuo con una madre ARN-VHC (+), que comprende los pasos según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 20 y además comprende:

c3) clasificar al individuo del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 13 veces mayor, y preferiblemente 14 veces mayor, de ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C si presenta el genotipo HLA-C2 en homocigosis (HLA-C2C2) en combinación con la homocigosis de KIR2DL3 (KIR2DL3/2DL3), en comparación con un individuo que no lo presente.

22.- El método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de infección mediante transmisión vertical del virus de la hepatitis C de un individuo con una madre ARN-VHC (+), que comprende los pasos según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 21 y además comprende:

c4) clasificar al individuo del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 13 veces mayor, y preferiblemente 14,3 veces mayor, de no ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C si presenta el genotipo KIR2DS3, en comparación con un individuo que no lo presente.

23.- El método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de infección mediante transmisión vertical del virus de la hepatitis C de un individuo con una madre ARN-VHC (+), que comprende los pasos según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 22 y además comprende:

c5) clasificar al individuo del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 3 veces mayor, y preferiblemente 3,3 veces mayor, de no ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C si presenta el genotipo HLA-C1, en comparación con un individuo que no lo presente.

24.- El método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de infección mediante transmisión vertical del virus de la hepatitis C de un individuo con una madre ARN-VHC (+), que comprende los pasos según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 23 y además comprende:

c6) clasificar al individuo del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 4 veces mayor, y preferiblemente 5 veces mayor de no ser contagiado mediante transmisión vertical por el virus de la hepatitis C si presenta el genotipo HLA-C1 en combinación con KIR2DL3, en comparación con un individuo que no lo presente.

25.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 24, donde la muestra biológica aislada del individuo del paso (a) es una muestra de sangre.

26.- Un kit o dispositivo, que comprende los elementos necesarios para detectar el genotipo *HLA-C y, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DS3*.

27.- Un kit o dispositivo según la reivindicación anterior, que comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-C, KIR2DL2, KIR2DL3,* y/o *KIR2DS3*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la

SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 3 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 5 (KIR2DL3), y/o SEQ ID NO: 15 (KIR2DS3);

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 3 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 5 (KIR2DL3), SEQ ID NO: 7 (KIR2DL1), SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11 y/o SEQ ID NO: 13 (KIR2DS4).

- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 2 (HLA-C), SEQ ID NO: 4 (KIR2DL2), SEQ ID NO: 6 (KIR2DL3), y/o SEQ ID NO: 16 (KIR2DS3).

28.- El kit o dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 26 o 27, donde los cebadores, sondas o anticuerpos están modificados.

29.- El kit o dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 26 a 28, que además comprende todos aquellos elementos necesarios para llevar a cabo un procedimiento PCR.

30.- Uso del kit o dispositivo tal y como se define en las reivindicaciones 26 a 29, para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la transmisión vertical del virus de la hepatitis C.

31.- Método según reivindicación 1 para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) cronifique la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, caracterizado porque en el paso b) determina el genotipo de los genes *HLA-DQA1*, *HLA-B* y *KIR* en la muestra aislada del paso (a).

32.- El método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) cronifique la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, donde en el paso (b) se determina el genotipo de los genes *KIR2DS1*, *KIR3DS1* y *KIR3DL1*.

33.- Un método para predecir o pronosticar la cronificación de la hepatitis C en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, que comprende los pasos (a) y (b) según cualquiera de las reivindicaciones 31 a 32, y además comprende:

c1) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo HLADQA-01, en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 1,5 veces mayor, y preferiblemente 2 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

34.- Un método para predecir o pronosticar la cronificación de la hepatitis C en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, que comprende los pasos según cualquiera de las reivindicaciones 31 a 33, y además comprende:

c2) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo KIR2DS1, en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 6 veces mayor, y preferiblemente 7 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

35.- Un método para predecir o pronosticar la cronificación de la hepatitis C en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, que comprende los pasos según cualquiera de las reivindicaciones 31 a 34, y además comprende:

c3) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo KIR3DS1, en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 12 veces mayor, y preferiblemente 13 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

36.- Un método para predecir o pronosticar la cronificación de la hepatitis C en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, que comprende los pasos según cualquiera de las reivindicaciones 31 a 35, y además comprende:

c4) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo KIR3DL1 en combinación con KIR3DS1, en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 12 veces mayor, y preferiblemente 13 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

37.- Un método para predecir o pronosticar la cronificación de la hepatitis C en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, que comprende los pasos según cualquiera de las reivindicaciones 31 a 36, y además comprende:

c5) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo HLA-Bw6, en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 14 veces mayor, y preferiblemente 15,6 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

38.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 31 a 37, donde la muestra biológica aislada de la madre gestante del paso (a) es una muestra de sangre.

39.- Un kit o dispositivo, que comprende los elementos necesarios para detectar los genotipos *HLA-DQA1*, *HLA-B, KIR2DS1*, *KIR3DS1* y/o *KIR3DL1*.

40.- Un kit o dispositivo según la reivindicación anterior, que comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-DQA1*, *HLA-B, KIR2DS1*, *KIR3DS1* y/o *KIR3DL1*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 17 (HLA-DQA01), SEQ ID NO: 19 (KIR2DS1), SEQ ID NO: 21 (KIR3DS1), SEQ ID NO: 23 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 25 (HLA-B).

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 17 (HLA-DQA01), SEQ ID NO: 19 (KIR2DS1), SEQ ID NO: 21 (KIR3DS1), SEQ ID NO: 23 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 25 (HLA-B).

- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 18 (HLA-DQA01), SEQ ID NO: 20 (KIR2DS1), SEQ ID NO: 22 (KIR3DS1), SEQ ID NO: 24 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 26 (HLA-B).

41.- El kit o dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 39 o 40, donde los cebadores, sondas o anticuerpos están modificados.

42.- El kit o dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 39 a 41, que además comprende todos aquellos elementos necesarios para llevar a cabo un procedimiento PCR.

43.- Uso del kit o dispositivo tal y como se define en las reivindicaciones 39 a 42, para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) cronifique la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical.

44.- Método de obtención de datos útiles según la reivindicación 1, para predecir o pronosticar la probabilidad de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) aclare el VHC en el caso que sea contagiado por transmisión vertical caracterizado porque en el paso b) determina el genotipo de los genes *HLA-B y KIR* en la muestra aislada del paso (a).

45.- El método de obtención de datos útiles, según reivindicación 1, para predecir o pronosticar la probabilidad de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) aclare el VHC en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, donde en el paso (b) se determina el genotipo del gen *KIR3DL1*.

46.- Un método para predecir o pronosticar el aclaramiento del VHC en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, que comprende los pasos (a) y (b) según cualquiera de las reivindicaciones 44 o 45, y además comprende:

c1) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo KIR3DL1 en homocigosis, en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 12 veces mayor, y preferiblemente 12,5 veces mayor de aclarar el virus de la hepatitis C, comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

47.- El método para predecir o pronosticar el aclaramiento del VHC en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, que comprende los pasos según cualquiera de las reivindicaciones 44 a 46, y además comprende:

c2) clasificar al individuo con madre gestante del paso (a), si dicha madre presenta el genotipo HLA-Bw4 en homocigosis (HLA-Bw4-Bw4), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 16 veces mayor, y preferiblemente 16,7 veces mayor de aclarar el virus de la hepatitis C, comparación con un individuo con una madre que no lo presente.

48.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 15-18, donde la muestra biológica aislada de la madre gestante del paso (a) es una muestra de sangre.

49.- Un kit o dispositivo, que comprende los elementos necesarios para detectar los genotipos *HLA-B* y/o *KIR3DL1*.

50.- Un kit o dispositivo según la reivindicación anterior, que comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-B* y/o *KIR3DL1*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún

más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 23 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 25 (HLA-B).

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 23 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 25 (HLA-B).

- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 24 (KIR3DL1) y/o SEQ ID NO: 26 (HLA-B).

51.- El kit o dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 49 o 50, donde los cebadores, sondas o anticuerpos están modificados.

52.- El kit o dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 49 a 51, que además comprende todos aquellos elementos necesarios para llevar a cabo un procedimiento PCR.

53.- Uso del kit o dispositivo tal y como se define en las reivindicaciones 49 a 52, para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la probabilidad de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) aclare el VHC en el caso que sea contagiado por transmisión vertical.

54.- El método de obtención de datos útiles según la reivindicación 1, para predecir o pronosticar la probabilidad de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) aclare el VHC en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, que comprende:

a) obtener una muestra biológica aislada de un individuo, y

b) determinar el genotipo de los genes *HLA-DQ y KIR* en la muestra aislada del paso (a).

55.- El método de obtención de datos útiles según la reivindicación 1, para predecir o pronosticar la probabilidad de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) aclare el VHC en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, donde en el paso (b) se determina el genotipo del gen *KIR2DS3*.

56.- Un método para predecir o pronosticar el aclaramiento del VHC en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, que comprende los pasos (a) y (b) según cualquiera de las reivindicaciones 54 a 55, y además comprende:

c1) clasificar al individuo del paso (a) si presenta el genotipo HLA-DQ*03, en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 18 veces mayor, y preferiblemente 20 veces mayor de aclarar el virus de la hepatitis C, comparación con un individuo que no lo presente.

57.- El método para predecir o pronosticar el aclaramiento del VHC en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, que comprende los pasos según cualquiera de las reivindicaciones 54 a 56.

c2) clasificar al individuo del paso (a), si presenta el genotipo *KIR2DS3*, en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 1,5 veces mayor, y preferiblemente 2 veces mayor de aclarar el virus de la hepatitis C, comparación con un individuo que no lo presente.

58.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 54 a 57, donde la muestra biológica aislada del individuo del paso (a) es una muestra de sangre.

59.- Un kit o dispositivo, que comprende los elementos necesarios para detectar los genotipos *HLA-DQ* y/o *KIR2DS3*.

60.- Un kit o dispositivo según la reivindicación anterior, que comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-DQ* y/o *KIR2DS3*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 27 (HLA-DQ) y/o SEQ ID NO: 15 (KIR2DS3).

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 27 (HLA-DQ) y/o SEQ ID NO: 15 (KIR2DS3).

- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 28 (HLA-DQ) y/o SEQ ID NO: 16 (KIR2DS3).

61.- El kit o dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 59 o 60, donde los cebadores, sondas o anticuerpos están modificados.

62.- El kit o dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 59-61, que además comprende todos aquellos elementos necesarios para llevar a cabo un procedimiento PCR.

63.- Uso del kit o dispositivo tal y como se define en las reivindicaciones 59-62, para la obtención de datos útiles para predecir o pronosticar la probabilidad de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) aclare el VHC en el caso que sea contagiado por transmisión vertical.

64.- El método de obtención de datos útiles según la reivindicación 1, para predecir o pronosticar el riesgo de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) cronifique la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, que comprende:

a) obtener una muestra biológica aislada de un individuo y otra muestra biológica aislada de su madre gestante, y

b) determinar el genotipo de los genes *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y *HLA-DPB1* en las muestras aisladas del paso (a).

65.- Un método para predecir o pronosticar la cronificación de la hepatitis C en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, que comprende los pasos (a) y (b) según la reivindicación anterior, y además comprende:

c1) clasificar al individuo del paso (a), si presenta al menos un 60% de corcondancia alélica en los genes *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y *HLA-DPB1*, y preferiblemente al menos un 65,60% de concordancia alélica en dichos genes, con la madre gestante del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 2 veces mayor, y preferiblemente 3 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo que no presente concordancia alélica con su madre.

66.- El método para predecir o pronosticar la cronificación de la hepatitis C en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, que comprende los pasos según reivindicaciones64 o 65 y además comprende:

c2) clasificar al individuo del paso (a), si presenta al menos un 50% de corcondancia alélica en los genes *HLA-A*, *HLA-B* y *HLA-C,* y preferiblemente al menos un 58,40% de concordancia alélica en dichos genes, con la madre gestante del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 1,1 veces mayor, y preferiblemente 1,9 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo que no presente concordancia alélica con su madre.

67.- El método para predecir o pronosticar la cronificación de la hepatitis C en un individuo con una madre ARN-VHC (+) en el caso que sea contagiado por transmisión vertical, que comprende los pasos según reivindicaciones 64 o 65 y además comprende:

c3) clasificar al individuo del paso (a), si presenta al menos un 70% de corcondancia alélica en los genes *HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y *HLA-DPB1*, y preferiblemente al menos un 75% de concordancia alélica en dichos genes, con la madre gestante del paso (a), en el grupo de individuos con una probabilidad al menos 1,1 veces mayor, y preferiblemente 1,6 veces mayor de cronificar la hepatitis C, en comparación con un individuo que no presente concordancia alélica con su madre.

68.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 64 a 67, donde la muestra biológica aislada del individuo del paso (a) es una muestra de sangre y la muestra biológica aislada de la madre gestante del paso (a) es una muestra de sangre.

69.- Un kit o dispositivo, que comprende los elementos necesarios para detectar los genotipos *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y/o *HLA-DPB1*.

70.- Un kit o dispositivo según la reivindicación anterior, que comprende cebadores, sondas y/o anticuerpos capaces de detectar los genotipos *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1* y/o *HLA-DPB1*, y donde:

- los cebadores o primers son secuencias de polinucleótidos de entre 10 y 30 pares de bases, más preferiblemente de entre 15 y 25 pares de bases, aún más preferiblemente de entre 18 y 22 pares de bases, y aún mucho más preferiblemente de alrededor de 20 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 31 (HLA-A), SEQ ID NO: 25 (HLA-B), SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 35 (HLA-DRB1), SEQ ID NO: 17 (HLA-DQA1), SEQ ID NO: 37 (HLA-DQB1), SEQ ID NO: 39 (HLA-DQB1), SEQ ID NO: 41 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 43 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 45 (HLA-DPA1) y/o SEQ ID NO: 47 (HLA-DPB1).

- las sondas son secuencias de polinucleótidos de entre 80 y 1100 pares de bases, más preferiblemente de entre 100 y 1000 pares de bases, y aún más preferiblemente de entre 200 y 500 pares de bases, que presentan una identidad de al menos un 80%, más preferiblemente de al menos un 90%, aún más preferiblemente de al menos un 95%, aún mucho más preferiblemente de al menos un 98%, y particularmente de un 100%, con un fragmento de las secuencias complementarias a la SEQ ID NO: 31 (HLA-A), SEQ ID NO: 25 (HLA-B), SEQ ID NO: 1 (HLA-C), SEQ ID NO: 35 (HLA-DRB1), SEQ ID NO: 17 (HLA-DQA1), SEQ ID NO: 37

(HLA-DQB1), SEQ ID NO: 39 (HLA-DQB1), SEQ ID NO: 41 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 43 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 45 (HLA-DPA1) y/o SEQ ID NO: 47 (HLA-DPB1).

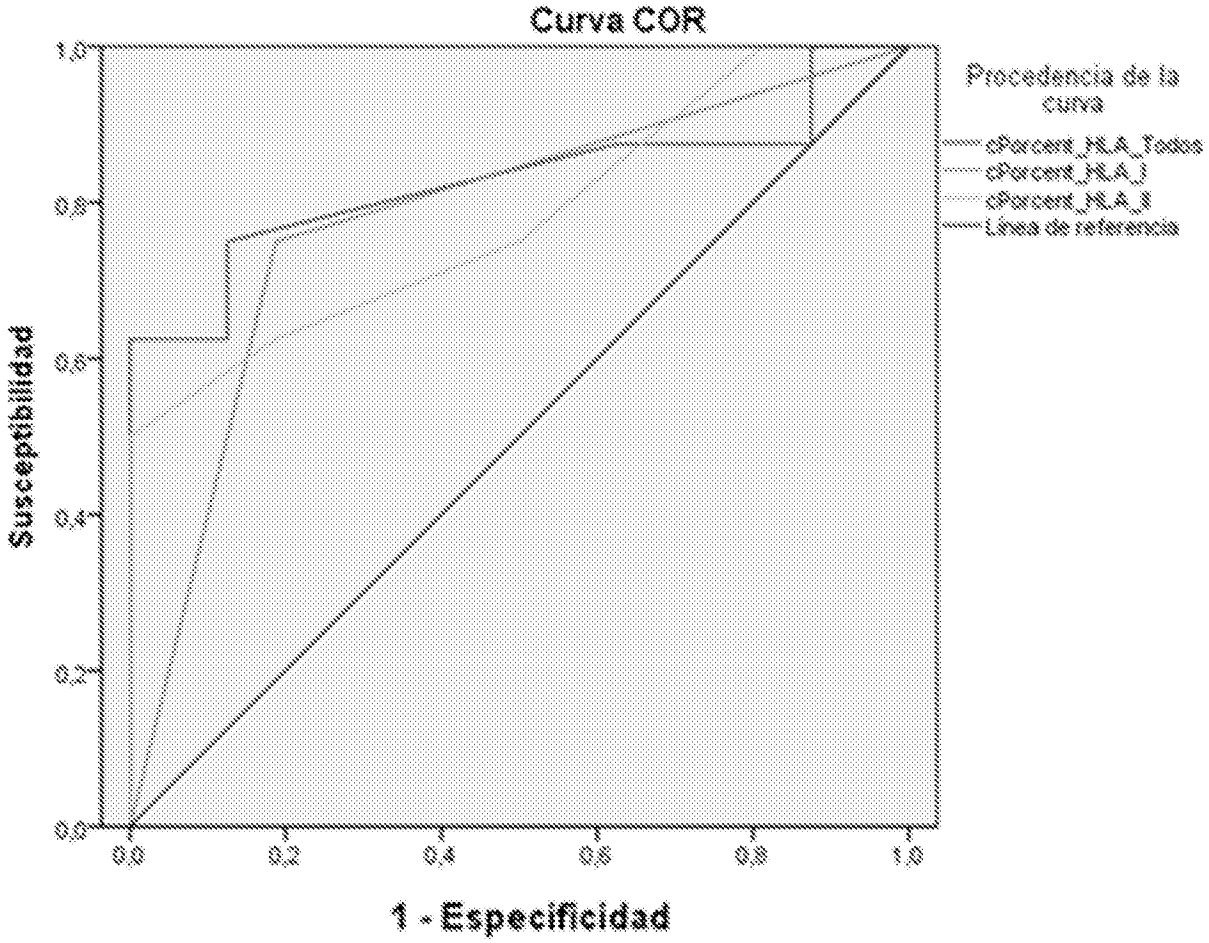
- los anticuerpos son capaces de unirse específicamente a una región formada por cualquiera de las secuencias aminoacídicas SEQ ID NO: 32 (HLA-A), SEQ ID NO: 26 (HLA-B), SEQ ID NO: 2 (HLA-C), SEQ ID NO: 36 (HLA-DRB1), SEQ ID NO: 18 (HLA-DQA1), SEQ ID NO: 38 (HLA-DQB1), SEQ ID NO: 40 (HLA-DQB1), SEQ ID NO: 42 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 44 (HLA-DPA1), SEQ ID NO: 46 (HLA-DPA1) y/o SEQ ID NO: 48 (HLA-DPB1).

71.- El kit o dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 69 o 70, donde los cebadores, sondas o anticuerpos están modificados.

72.- El kit o dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 69-71, que además comprende todos aquellos elementos necesarios para llevar a cabo un procedimiento PCR.

73.- Uso del kit o dispositivo tal y como se define en las reivindicaciones 69-72, para predecir o pronosticar el riesgo de que un individuo con una madre ARN-VHC (+) cronifique la hepatitis C en el caso que sea contagiado por transmisión vertical.

FIGURAS



Los segmentos diagonales son producidos por los empates.

Resumen del proceso de casos

Cronif_HLA_RS	N válido (según lista)
Positivo[a]	8
Negativo	16

Los valores mayores en la variable de resultado de contraste indican una mayor evidencia de un estado real positivo.

a. El estado real positivo es Cronifica.

Fig.1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ES2016/070115

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12Q1/68 (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, INVENES, WPI, BIOSIS, EMBASE, MEDINE, XPESP, INSPEC, COMPDX, NPL, XPOAC

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	PAVON-CASTILLERO E. J. et al. Influence of killer cell immunoglobulin-like receptors (KIRs) and their HLA ligands on vertical transmission and chronicity of hepatitis C virus in children. Journal of Hepatology. April 2015, Vol. 62, Suppl. 2, pages S486-S487. ISSN 0168-8278 <Doi:10.1016/S0168-8278(15)30671-1>	1-3, 5-9, 11, 17-21 23-25, 31-38, 44-48, 54-58, 64, 65, 67, 68
X	SINGH, R. et al. A comparative review of HLA associations with hepatitis B and C viral infections across global populations. World Journal of Gastroenterology. March 2007, Vol. 13, Nº 12, pages: 1770 - 1787. ISSN 1007-9327 (print)	1-3, 5-9, 11, 17-21, 23-25, 31-38, 44-48 54-58

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents , such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
28/04/2016	**(06/05/2016)**
Name and mailing address of the ISA/ OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España) Facsimile No.: 91 349 53 04	Authorized officer E. Relaño Reyes Telephone No. 91 3498504

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ES2016/070115

C (continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MARTINETTI, M. et al. Hierarchy of baby-linked immunogenetic risk factors in the vertical transmission of hepatitis C virus. International Journal of Immunopathology and Pharmacology. April 2006, Vol. 19, Nº 2, pages: 369-378. ISSN 0394-6320.	1-3, 5-9, 11, 17-21, 23-25
X	DRING, M. M. et al. Innate immune genes synergize to predict increased risk of chronic disease in hepatitis C virus infection. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. April 2011, Vol. 108, Nº 14, pages: 5736-5741. ISSN 0027-8424. <Doi:10.1073/pnas.1016358108>	1, 31-38, 44-48, 54-58
A		2, 3, 5-9, 11, 17-21, 23-25
X	JAMIL, K. M. et al. KIR/HLA interactions and pathogen immunity. Journal of Biomedicine & Biotechnology. 2011, Vol. 2011, Nº artículo: 298348. ISSN 1110-7243 (print) ISSN 1110-7251(electronic) <Doi:10.1155/2011/298348>	1, 44-48, 54-58
A		2, 3, 5-9, 11, 17-21, 23-25, 31-36
X	RUIZ-EXTREMERA, A. et al. Study of the influence of HLA genetic factors on the vertical transmission and chronification of hepatitis C virus. Hepatology. October 2013, Vol. 58, Suppl. 1, pages: 904A-905A. ISSN 0270-9139 (print) ISSN 1527-3350 (electronic)	64, 65, 67, 68
A		2, 5-9, 11, 17, 19, 20, 21, 23-25, 31, 33, 54, 56
A	NOZAWA, Y. et al. KIR, HLA, and IL28B variant predict response to antiviral therapy in genotype 1 chronic hepatitis C patients in Japan. PLoS One. December 2013, Vol. 8, Nº 12, article nº: e83381.	1, 2, 3, 7-9, 11, 17, 18, 20, 23, 25, 31, 32, 36, 44-48
A	ZÚÑIGA, J et al. Protective KIR-HLA interactions for HCV infection in intravenous drug users. Molecular Immunology. August 2009, Vol. 46, Nº 13, pages: 2723 - 2727. ISSN 0161-5890.	1-3, 5-9, 11, 17-21, 23-25
A	BOSI, I. et al. HLA DR13 and HCV vertical infection. Pediatric Research. June 2002, Vol. 51, Nº 6, pages 746-749. ISSN 0031-3998	1, 2, 5-9, 11, 17-21, 23-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ES2016/070115

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. [x] Claims Nos.: **1: 1-3, 5-9, 11, 17-21, 23-25, 31-38, 44-48, 54-58**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Step (a) of claim 1, and claims 2, 3, 5-9, 11, 17-21, 23-25, 31-38, 44-48 and 54-58, insofar as they are dependent thereon, relate to subject matter which, in the opinion of this Authority, falls under PCT Rule 67.1(iv) regarding methods for treatment of the human or animal body by surgery. A search has nevertheless been carried out in respect of this claim, disregarding said step, in other words, assuming that the initial biological sample has already been isolated.

2. [x] Claims Nos.:
Claims: 1-3 (in part), 4, 7-8 (in part), 10, 12-16, 17-18 (in part), 22, 26-30, 31-32 (in part), 39-43, 44-45 (in part), 49-53, 54-55 (in part), 59-63, 64 (in part), 66, 69-73
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
See extra sheet

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

See extra sheet

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. [x] As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. [ ] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. [ ] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

CONTINUATION OF BOX II

The following claims are not clear (PCT Article 6):

- Claims 1-3, 17, 18, 31, 32, 44, 45, 54, 55. These claims do not indicate which HLA and/or KIR genes and alleles are related to the vertical transmission, clearance or chronification of hepatitis C virus infection, or what the relationship between the presence or absence of these genes and alleles and the outcomes studied is.
- Claims 12-16, 26-30, 39-43, 49-53, 59-63, 69-73. The components of the kit are not clearly defined.
- Claim 64. This claim does not specify the relationship between allele concordance and chronification.

The following claims are not supported by the description (PCT Article 6):

- Claim 1. Not all of the genotyping is performed on the mother; some is performed on samples from the child.
- Claims 4 and 8 are contradictory. If the presence of heterozygous HLA-C2 is related to an increase in the probability of vertical transmission, and the presence of heterozygous HLA-C1 is related to a reduction in said probability, it is not clear what happens if the mother has the genotype HLA-C1C2.
- Claims 7 and 10 are contradictory. If the presence of heterozygous HLA-C2 together with KIR2DS4 is related to an increase in the probability of vertical transmission, and the presence of heterozygous HLA-C1 together with KIR2DS4 is related to a reduction in said probability, it is not clear what happens if the mother has the genotype HLA-C1C2.
- Claims 12-16, 26-30, 39-43, 50-53, 59-63, 69-73. It cannot be deduced from the application that determining only one of the genes or alleles indicated is sufficient to carry out the method of the invention.
- Claims 18, 22, 26-30. Table 3 of the description indicates that the relationship between the presence of KIR2DS3 and vertical transmission is not statistically significant.
- Claim 27. The claim includes the gene KIRDS4 when this gene is not used in the method for which the kit is used.
- Claim 66. The minimum allele concordance between a mother and child will always be at least 50%.

CONTINUATION OF BOX III

The subject matter of the present application is a method for obtaining data that can be used to predict or forecast the risk that a mother carrying the hepatitis C virus (HCV) transmits the virus vertically to her offspring, or in the case that the offspring is infected, the probability that the disease clears or chronifies, which consists in determining the genotype of the HLA and KIR genes. For the present application to satisfy the requirement of unity of invention, it must include a general inventive concept. This requirement is not met for several reasons.

Firstly, the subject matter of claims 64 to 73 is a method and a kit which does not require the detection of any gene from the KIR family. Consequently, these claims are not included in the general inventive concept.
Furthermore, D01 and D03 or D04 disclose various studies in which the HLA and KIR genotypes are determined, and the relationship thereof with in the study of HCV clearance and chronification is researched. Consequently, the application is not considered to include a general inventive concept or to meet the requirements of PCT Rule 13.1. Since no other features that could be regarded as special technical features within the meaning of PCT Rule 13.2 are found, the application lacks unity of invention. Thus, the following groups of inventions can be distinguished:

- Invention 1: a method for obtaining data that can be used to predict whether a pregnant mother carrying HCV will transmit the virus vertically to her offspring, which comprises determining HLA-C1, HLA-C2, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1 and KIR2DS4; the kit; and the use of same (part of claim 1, claims 2 to 16).
- Invention 2: a method for obtaining data that can be used to predict whether a pregnant mother carrying HCV will transmit the virus vertically to her offspring, which comprises determining HLA-C1, HLA-C2, KIR2DL2, KIR2DL3 and KIR2DS3; the kit; and the use of same (part of claim 1, claims 17 to 30).
- Invention 3: a method for obtaining data that can be used to forecast the risk that HCV chronifies in an individual infected with the disease by vertical transmission, which comprises determining HLA-DQA01, HLA-Bw6, KIR2DS1, KIR3DS1 and KIR3DL1; the kit; and the use of same (part of claim 1, claims 31 to 43).
- Invention 4: a method for obtaining data that can be used to forecast the probability that HCV clears in an individual infected with the disease by vertical transmission, which comprises determining HLA-Bw4 and KIR3DL1; the kit; and the use of same (part of claim 1, claims 44 to 53).
- Invention 5: a method for obtaining data that can be used to forecast the probability that HCV clears in an individual infected with the disease by vertical transmission, which comprises determining HLA-DQ*03 and KIR2DS3; the kit; and the use of same (part of claim 1, claims 54 to 63).
- Invention 6: a method for obtaining data that can be used to forecast the risk that HCV chronifies in an individual infected with the disease by vertical transmission, which comprises determining the concordance between mother and child of the genes HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1 and HLA-DPB1; the kit; and the use of same (claims 64 to 73).

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº
PCT/ES2016/070115

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD
C12Q1/68 (2006.01)

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)
C12Q

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)
EPODOC, INVENES, WPI, BIOSIS, EMBASE, MEDINE, XPESP, INSPEC, COMPDX, NPL, XPOAC

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
P,X	PAVON-CASTILLERO, E. J. et al. Influence of killer cell immunoglobulin-like receptors (KIRs) and their HLA ligands on vertical transmission and chronicity of hepatitis C virus in children. Journal of Hepatology. Abril 2015, Vol. 62, Supl. 2, páginas S486-S487. ISSN 0168-8278 <Doi:10.1016/S0168-8278(15)30671-1>	1-3, 5-9, 11, 17-21 23-25, 31-38, 44-48, 54-58, 64, 65, 67, 68
X	SINGH, R. et al. A comparative review of HLA associations with hepatitis B and C viral infections across global populations. World Journal of Gastroenterology. Marzo 2007, Vol. 13, Nº 12, páginas: 1770 - 1787. ISSN 1007-9327 (impreso)	1-3, 5-9, 11, 17-21, 23-25, 31-38, 44-48 54-58

☒ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos ☐ Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:

"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.

"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.

"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).

"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.

"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.

"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.

"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.

"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.

"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.	Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
28/04/2016	**06 de mayo de 2016 (06/05/2016)**
Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España) Nº de fax: 91 349 53 04	Funcionario autorizado E. Relaño Reyes Nº de teléfono 91 3498504

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº
PCT/ES2016/070115

C (Continuación). DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
X	MARTINETTI, M. et al. Hierarchy of baby-linked immunogenetic risk factors in the vertical transmission of hepatitis C virus. International Journal of Immunopathology and Pharmacology. Abril 2006, Vol. 19, Nº 2, páginas: 369-378. ISSN 0394-6320.	1-3, 5-9, 11, 17-21, 23-25
X	DRING, M. M. et al. Innate immune genes synergize to predict increased risk of chronic disease in hepatitis C virus infection. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Abril 2011, Vol. 108, Nº 14, páginas: 5736-5741. ISSN 0027-8424. <Doi:10.1073/pnas.1016358108>	1, 31-38, 44-48, 54-58
A		2, 3, 5-9, 11, 17-21, 23-25
X	JAMIL, K. M. et al. KIR/HLA interactions and pathogen immunity. Journal of Biomedicine & Biotechnology. 2011, Vol. 2011, Nº artículo: 298348. ISSN 1110-7243(impreso) ISSN 1110-7251(electrónico) <Doi:10.1155/2011/298348>	1, 44-48, 54-58
A		2, 3, 5-9, 11, 17-21, 23-25, 31-36
X	RUIZ-EXTREMERA, A. et al. Study of the influence of HLA genetic factors on the vertical transmission and chronification of hepatitis C virus. Hepatology. Octubre 2013, Vol. 58, Supl. 1, páginas: 904A-905A. ISSN 0270-9139 (impreso) ISSN 1527-3350 (electrónico)	64, 65, 67, 68
A		2, 5-9, 11, 17, 19, 20, 21, 23-25, 31, 33, 54, 56
A	NOZAWA, Y. et al. KIR, HLA, and IL28B variant predict response to antiviral therapy in genotype 1 chronic hepatitis C patients in Japan. PLoS One. Diciembre 2013, Vol. 8, Nº 12, nº artículo: e83381.	1, 2, 3, 7-9, 11, 17, 18, 20, 23, 25, 31, 32, 36, 44-48
A	ZÚÑIGA, J et al. Protective KIR-HLA interactions for HCV infection in intravenous drug users. Molecular immunology. Agosto 2009, Vol. 46, Nº 13, páginas: 2723 - 2727. ISSN 0161-5890.	1-3, 5-9, 11, 17-21, 23-25
A	BOSI, I. et al. HLA DR13 and HCV vertical infection. Pediatric Research. Junio 2002, Vol. 51, Nº 6, páginas 746-749. ISSN 0031-3998	1, 2, 5-9, 11, 17-21, 23-25

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES2016/070115

Recuadro II Observaciones cuando se estime que algunas reivindicaciones no pueden ser objeto de búsqueda (continuación del punto 2 de la primera hoja)

Este informe de búsqueda internacional no se ha realizado en relación a ciertas reivindicaciones según el artículo 17.2.a) por los siguientes motivos:

1. ☒ Las reivindicaciones **nºs: 1: 1-3, 5-9, 11, 17-21, 23-25, 31-38, 44-48, 54-58** se refieren a un objeto con respecto al cual esta Administración no está obligada a proceder a la búsqueda, a saber:

La etapa a) de la reivindicación 1, y las reivindicaciones 2, 3, 5-9, 11, 17-21, 23-25, 31-38, 44-48, 54-58, en la medida que dependen de ella, se refiere a una materia que esta Administración considera que está afectada por las disposiciones de la Regla 67.1 (iv) PCT, relativas a un método de tratamiento quirúrgico del cuerpo humano o animal. A pesar de ello, se ha efectuado una búsqueda para esta reivindicación sin tener en cuenta dicha etapa, es decir, considerando que la muestra biológica de partida ya está aislada.

2. ☒ Las reivindicaciones **nºs: 1-3 (parcialmente), 4, 7-8 (parcialmente), 10, 12-16, 17-18 (parcialmente), 22, 26-30, 31-32 (parcialmente), 39-43, 44-45 (parcialmente), 49-53, 54-55 (parcialmente), 59-63, 64 (parcialmente), 66, 69-73** se refieren a elementos de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos establecidos, de tal modo que no pueda efectuarse una búsqueda provechosa, concretamente:

Ver hoja adicional

3. ☐ Las reivindicaciones nºs:
son reivindicaciones dependientes y no están redactadas de conformidad con los párrafos segundo y tercero de la regla 6.4(a).

Recuadro III Observaciones cuando falta unidad de invención (continuación del punto 3 de la primera hoja)

La Administración encargada de la Búsqueda Internacional ha detectado varias invenciones en la presente solicitud internacional, a saber:

Ver hoja adicional

1. ☐ Dado que todas las tasas adicionales requeridas han sido satisfechas por el solicitante dentro del plazo, el presente informe de búsqueda de tipo internacional comprende todas las reivindicaciones que pueden ser objeto de búsqueda.

2. ☒ Dado que todas las reivindicaciones que pueden ser objeto de búsqueda podrían serlo sin realizar un esfuerzo que justifique tasas adicionales, esta Administración no requirió el pago de tasas adicionales.

3. ☐ Dado que tan sólo una parte de las tasas adicionales requeridas ha sido satisfecha dentro del plazo por el solicitante, el presente informe de búsqueda de tipo internacional comprende solamente aquellas reivindicaciones respecto de las cuales han sido satisfechas las tasas, concretamente las reivindicaciones nºs:

4. ☐ Ninguna de las tasas adicionales requeridas ha sido satisfecha por el solicitante dentro de plazo. En consecuencia, el presente informe de búsqueda de tipo internacional se limita a la invención mencionada en primer término en las reivindicaciones, cubierta por las reivindicaciones nºs:

Indicación en cuanto a la protesta

☐ Se acompañó a las tasas adicionales la protesta del solicitante y, en su caso, el pago de una tasa de protesta.

☐ Se acompañó a las tasas adicionales la protesta del solicitante, pero la tasa de protesta aplicable no se pagó en el plazo establecido para ello.

☐ El pago de las tasas adicionales no ha sido acompañado de ninguna protesta

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES2016/070115

CONTINUACIÓN DEL RECUADRO II

Las siguientes reivindicaciones no son claras (Art. 6 PCT):

- Reivindicaciones 1-3, 17, 18, 31, 32, 44, 45, 54, 55. No indican qué alelos y genes de HLA y/o KIR están relacionados con la transmisión vertical, aclaramiento o cronificación de la infección por el VHC, o cuál es la relación entre la presencia o ausencia de éstos y los sucesos estudiados.
- Reivindicaciones 12-16, 26-30, 39-43, 49-53, 59-63, 69-73. No están claramente definidos los componentes del kit.
- Reivindicación 64. No especifica la relación entre la concordancia alélica y la cronificación.

No están fundadas adecuadamente en la descripción (Art. 6 PCT) las reivindicaciones:

- Reivindicación 1. No todos los genotipados se realizan en la madre, sino que algunos se realizan en muestras del hijo.
- La reivindicaciones 4 y 8 son contradictorias. Si la presencia de HLA-C2 en heterocigosis está relacionado con un incremento en la probabilidad de la transmisión vertical, y la presencia de HLA-C1 en heterocigosis se relaciona con una disminución de dicha probabilidad, no queda claro qué sucede si la madre presenta el genotipo HLA-C1C2.
- La reivindicaciones 7 y 10 son contradictorias. Si la presencia de HLA-C2 en heterocigosis junto con KIR2DS4 está relacionado con un incremento en la probabilidad de la transmisión vertical, y la presencia de HLA-C1 en heterocigosis junto con KIR2DS4 se relaciona con una disminución de dicha probabilidad, no queda claro qué sucede si la madre presenta el genotipo HLA-C1C2.
- Reivindicaciones 12-16, 26-30, 39-43, 50-53, 59-63, 69-73. De la solicitud no se deduce que para llevar a cabo el método de la invención sea suficiente la determinación tan solo uno de los genes o alelos indicados.
- Reivindicaciones 18, 22, 26-30. En la tabla 3 de la descripción, se indica que la relación entre la presencia de KIR2DS3 y la transmisión vertical no es estadísticamente significativa.
- Reivindicación 27. Incluye el gen KIRDS4, cuando no se utiliza en el método para el que se utiliza el kit.
- Reivindicación 66. La concordancia alélica mínima entre madre e hijo siempre va a ser como mínimo del 50%.

CONTINUACIÓN DEL RECUADRO III

La presente solicitud tiene por objeto, un método de obtención de datos útiles para predecir o pronosticar el riesgo de que una madre portadora del virus de la hepatitis C (VHC), transmita verticalmente el virus a su descendencia, o en caso de que sea infectada, de que aclare o cronifique la enfermedad, que comprende determinar el genotipo de los genes HLA y KIR. Para que la presente solicitud cumpla el requisito de unidad de invención, ha de incluir un concepto inventivo común. Este requisito no se cumple por varios motivos.

En primer lugar, las reivindicaciones de la 64 a la 73 tienen por objeto un método y kit que no requiere la detección de ningún gen de la famila KIR. En consecuencia, estas reivindicaciones no están incluidas en el concepto general común.

Además, tanto D01 como D03 o D04, divulgan diversos trabajos en los que se determina el genotipo HLA y KIR, y se investiga su relación con en el estudio del aclaramiento y cronificación del VHC. En consecuencia, se considera que la solicitud no incluye un concepto inventivo común y que no se cumplen los requisitos de la Regla 13.1 PCT. Como tampoco se encuentran otras características que puedan considerarse como elementos técnicos particulares en el sentido de la Regla 13.2 PCT, existe falta de unidad de invención. Así, se distinguen los siguientes grupos de invenciones:

- Primera invención: Método para la obtención de datos útiles para predecir que una madre gestante portadora del VHC transmita verticalmente el virus a su descendencia, que comprende la determinación de HLA-C1, HLA-C2, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1 y KIR2DS4, el kit y el uso del mismo (parte de la reivindicación 1, reivindicaciones de la 2 a la 16).
- Segunda invención: Método para la obtención de datos útiles para predecir que una madre gestante portadora del VHC transmita verticalmente el virus a su descendencia, que comprende la determinación de HLA-C1, HLA-C2, KIR2DL2, KIR2DL3 y KIR2DS3, el kit y el uso del mismo (parte de la reivindicación 1, reivindicaciones de la 17 a la 30).
- Tercera invención: Método de obtención de datos útiles para pronosticar el riesgo de que un individuo infectado mediante transmisión vertical por el VHC, cronifique la enfermedad, que comprende la determinación de HLA-DQA01, HLA-Bw6, KIR2DS1, KIR3DS1 y KIR3DL1, el kit y el uso del mismo (parte de la reivindicación 1 y reivindicaciones de la 31 a la 43).
- Cuarta invención: Método de obtención de datos útiles para pronosticar el riesgo de que un individuo infectado mediante transmisión vertical por el VHC, aclare la enfermedad, que comprende la determinación de HLA-Bw4 y KIR3DL1, el kit y el uso del mismo (parte de la reivindicación 1 y reivindicaciones de la 44 a la 53).
- Quinta invención: Método de obtención de datos útiles para pronosticar el riesgo de que un individuo infectado mediante transmisión vertical por el VHC, aclare la enfermedad, que comprende la determinación de HLA-DQ*03 y KIR2DS3, el kit y el uso del mismo (parte de la reivindicación 1 y reivindicaciones de la 54 a la 63).
- Sexta invención: Método de obtención de datos útiles para pronosticar el riesgo de que un individuo infectado mediante transmisión vertical por el VHC, cronifique la enfermedad, que comprende determinar la concordancia entre madre e hijo de los genes HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1 y HLA-DPB1, el kit y el uso del mismo (reivindicaciones de la 64 a la 73).