



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 271 092**

51 Int. Cl.:

C12N 15/12 (2006.01)

C07K 14/705 (2006.01)

C12N 15/63 (2006.01)

A01K 67/027 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

C12Q 1/68 (2006.01)

G01N 33/50 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **01984902 .5**

86 Fecha de presentación : **04.12.2001**

87 Número de publicación de la solicitud: **1339840**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **03.09.2003**

54

Título: **Gen y proteína del canal iónico dependiente del voltaje asociado a la esquizofrenia.**

30

Prioridad: **05.12.2000 US 251317 P**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.04.2007

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.04.2007

73

Titular/es: **Serono Genetics Institute S.A.**
route Nationale 7
91030 Evry Cédex, FR

72

Inventor/es: **Cohen, Daniel;**
Chumakov, Ilya;
Simon, Anne-Marie y
Abderrahim, Hadi

74

Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 271 092 T3

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

DESCRIPCIÓN

Gen y proteína del canal iónico dependiente del voltaje asociado a la esquizofrenia.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un gen y proteína del canal iónico dependiente del voltaje y su papel en la enfermedad. La invención se refiere a los polinucleótidos que codifican un polipéptido de CanIon además de las regiones regulatorias localizadas en los extremos 5' y 3' de dicha región codificadora. La invención también trata de polipéptidos codificados por el gen de CanIon. La invención también proporciona métodos para la detección de moduladores, por ej., antagonistas, del canal de CanIon y métodos de uso de tales moduladores para el tratamiento o prevención de diversas enfermedades o afecciones. La invención también trata de anticuerpos dirigidos específicamente contra tales polipéptidos que son útiles como reactivos de diagnóstico. La invención además abarca marcadores bialélicos del gen de CanIon útiles para el análisis genético.

15 **Antecedentes de la invención**

Los avances en el arsenal tecnológico disponible para los investigadores básicos y clínicos han permitido estudios cada vez más sofisticadas de las funciones del cerebro y sistema nervioso en la salud y enfermedad. Numerosas hipótesis neurobiológicas y farmacológicas se han propuesto con respecto a los mecanismos neuroquímicos y genéticos involucrados en los trastornos del sistema nervioso central (SNC), que incluyen los trastornos psiquiátricos y enfermedades neurodegenerativas. Sin embargo, los trastornos del SNC presentan etiologías complejas y mal comprendidas, así como también síntomas que se superponen, mal caracterizadas y difíciles de evaluar. Como consecuencia, se requerirán futuros regímenes de tratamiento y esfuerzos para el desarrollo de fármacos que sean más sofisticados y centrados en causas multigénicas y necesitarán nuevos ensayos para las poblaciones de enfermedad del segmento y proporcionan información diagnóstica y pronóstica más precisa sobre los pacientes que sufren de trastornos de SNC.

Los trastornos del SNC pueden abarcar un amplio rango de trastornos y correspondientemente un amplio rango de factores genéticos. Los ejemplos de trastornos del SNC incluyen trastornos neurodegenerativos, trastornos psicóticos, trastornos del estado de ánimo, autismo, dependencia de sustancias y alcoholismo, trastornos del dolor, epilepsia, retardo mental u otras enfermedades psiquiátricas que incluyen trastornos cognitivos, ansiedad, de la alimentación, de control de impulsos y personalidad. Los trastornos se pueden definir mediante la clasificación del Manual de Diagnóstico y Estadística de los Trastornos Mentales cuarta edición (DSM-IV).

Aun cuando se considera solo un pequeño subconjunto de trastornos del SNC, es evidente por la falta de un tratamiento adecuado y de la comprensión de la base molecular de los trastornos de esquizofrenia y trastornos bipolares que se necesitan nuevos blancos para la invención terapéutica y métodos de tratamiento mejorados. Para la esquizofrenia y el trastorno bipolar, todos las moléculas conocidas actualmente que se usan para su tratamiento presentan efectos secundarios y actúan solo contra los síntomas de la enfermedad. En consecuencia, hay una gran necesidad de nuevas moléculas sin efectos secundarios asociados y dirigidas contra blancos que están involucrados en los mecanismos causales de la esquizofrenia y trastorno bipolar. En consecuencia, son necesarias y útiles las herramientas que facilitan el descubrimiento y caracterización de estos blancos.

45 *Canales de iones dependientes del voltaje*

Los canales de iones dependiente del voltaje son parte de una gran familia de macromoléculas cuyas funciones incluyen el control y mantenimiento del potencial eléctrico a través de las membranas celulares, secreción y transducción de señales. Estas proteínas del canal están comprometidas en el control de la liberación del neurotransmisor de las neuronas y cumplen un papel importante en la regulación de una variedad de funciones celulares, que incluyen la excitabilidad de membrana, contracción muscular y transmisión sináptica. Las principales subunidades alfa de los canales de Na⁺ y las subunidades alfa-1 de los canales de Ca⁺ consisten en aproximadamente 2000 aminoácidos y contienen la vía de conducción de iones. El análisis bioquímico ha revelado que el canal iónico fisiológicamente activo está compuesto de varias subunidades diferentes. Existen dos subunidades auxiliares que copurifican con la subunidad alfa de los canales de Na⁺, la subunidad beta-1 y beta-2. Para los canales de Ca⁺, se han identificado subunidades adicionales (alfa-2, beta, gamma y sigma) con acción moduladora. La subunidades alfa-2 y beta parecen aumentar la actividad funcional de la subunidad alfa-1 de los canales de Ca⁺. Las subunidades alfa de los canales de K⁺ están asociadas con las subunidades beta en un modo 1:1 fashion lo que produce un complejo del canal de K⁺ que presenta estequiometría (alfa)₄(beta)₄ (Terlau *et al.*, *Naturwissenschaften* 85:437-444 (1998)). La estructura básica y los ejemplos de los canales de iones de calcio y sodio se describen también, por ej., en Williams, *et al.* *Science* 257:389-395 (1992); Mori, *et al.*, *Nature* 350:398-402 (1991); y Koch, *et al.*, *J.Biol.Chem.* 265 (29):17786-17791 (1990). Una secuencia de ácido nucleico del canal iónico de Ca⁺ y Na⁺ de la rata que comparte un alto nivel de homología de secuencia con el canal de CanIon se describe también en Lee *et al.*, *FEBS Lett.* 445 231:236 (1999).

Las subunidades alfa comparten características de secuencia con todos los canales catiónicos dependientes del voltaje y aprovechan el mismo motivo estructural que comprende un haz de 6 hélices de dominios que abarcan el potencial de membrana. En ambos canales de sodio y calcio, este motivo se repite 4 veces en la secuencia para dar un haz de 24 hélices. Las secuencias de aminoácidos están altamente conservadas entre especies (por ej., humano y *Drosophila*), y entre diferentes canales de iones.

Existen varias isoformas de canales de calcio específicas de tejido, farmacológica y electrofisiológicamente distintas, codificadas por genes separados de una familia multigénica. En el músculo esquelético, cada ensamblaje estrechamente unido de las subunidades alfa, beta y gamma asociadas con otras 4 para formar una macromolécula pentamérica. Pro ejemplo, las subunidades alfa-1 del canal de calcio neuronal son el producto de por lo menos siete genes diferentes de nominados alfa-1 A a H. Los estudios inmunocitoquímicos han demostrado una distribución diferencial de las subunidades alfa-1 del canal de calcio. Las subunidades alfa-1A y alfa-1B se expresan principalmente en dendritas y terminales presinápticas y alfa-1A se concentró generalmente en un mayor número de terminales nerviosa que alfa-1B. En la unión neuromuscular de ratas y seres humanos, alfa 1A se localiza en forma presináptica, mientras que alfa-1B y alfa-1A están ambas presentes en las células de Schwann asociadas al axón. Alfa 1E se localiza principalmente en los cuerpos celulares, en algunos casos en las dendritas proximales además de las ramas distales de las células de Purkinje. Alfa 1C y alfa-1D se localizan en los cuerpos celulares y en las dendritas proximales de las neuronas centrales.

Los canales de calcio nativo han sido clasificados sobre la base de sus propiedades farmacológicas y/o electrofisiológicas. La clasificación de los canales de calcio dependientes del voltaje los divide en activados por voltaje alto (HVA), que incluyen los tipos L-, N-, P- y Q; intermedios (IVA, tipo R); y activados por voltaje bajo (LVA, tipo T). (Morena *et al.*, Annals NY Acad. Sol. 102-117 (1999).

La principales subunidades (alfa-1) pertenecen a una familia génica cuyos miembros pueden formar canales funcionales por ellos mismos cuando se expresan en sistemas de expresión heteróloga (Zhang *et al.*, Neuropharmacology 32(11):1075-1088 (1993). En las células nativas, las subunidades alfa-1 se expresan como complejos multisubunidades con subunidades secundarias que modifican las propiedades funcionales de la subunidad alfa-1. En muchos casos, la coexpresión de subunidades auxiliares afecta las propiedades biofísicas de los canales. Las subunidades beta en particular tienden a tener efectos importantes sobre las subunidades alfa-1; se ha demostrado que las subunidades beta alteran las propiedades de activación, inactivación del estado estacionario, cinética de la inactivación y corriente pico.

Gran parte de la diversidad molecular de los canales se produce por la existencia de múltiples formas de la subunidades alfa-1. Por ejemplo, se ha demostrado que las formas empalmadas en formas diferente de los canales de calcio se expresan en forma diferencial y tiene sensibilidades diferentes para la fosforilación por serina-treonina quinasas (Hell *et al.*, Annals N.Y. Acad. Sci. 747:282-293 (1994)). Se ha demostrado que las mutaciones de los genes del canal iónico están comprometidas en un amplio rango de enfermedades, que incluyen enfermedades del sistema nervioso central. Los ejemplos de mutaciones del canal iónico que causan varios trastornos eposódicos que incluyen parálisis periódica, ataxia episódica, migraña, síndrome de QT largo y disquinesia paroxística se revisan en Bulman *et al.*, Hum. Mol. Gen. 6(10) 1679-1685 (1997). Varios trastornos de la mutación de los canales de Ca²⁺, por ejemplo, se muestran en la Tabla A (de Moreno, *supra*).

TABLA A

Enfermedad	Subunidad del canal de calcio	Modelo
Migraña hemipléjica familiar	Alfa-1A	Humano
Ataxia Episódica tipo 2	Alfa-1A	Humano
Ataxia espinocerebelar tipo 6	Alfa-1A	Humano
Fenotipos tottering y Learner	Alfa-1A	Ratón
Síndrome de Lambert-Eaton	Alfa-1A, α -1B	Humano
Parálisis hipopotasémica periódica	Alfa-1S	Humano
Disgenesia muscular	Alfa-1S	Ratón
Fenotipos diabéticos grasos de Zucker	α -1C; α -1D	Rata
Fenotipo letárgico	Beta-4	Ratón
Hipotermia maligna	Alfa-2/ δ	Humano
Stargazer	Gamma	Ratón

Los moduladores de los canales de calcio y sodio también se usan comúnmente en el tratamiento de diversas enfermedades y afecciones. Por ejemplo, se ha demostrado que los bloqueadores de los canales de calcio y/o sodio son

útiles para el tratamiento o prevención de uno o más síntomas asociados con diversas enfermedades y afecciones tales como varias enfermedades y afecciones cardíacas (por ej., angina, arritmias), hipertensión, migrañas, efectos neurológicos de los accidentes cerebrovasculares, manía, disquinesia tardía inducida por neurolépticos, trastorno bipolar, dolor, epilepsia y otras.

Se ha demostrado que existen diferencias funcionales importantes en el sistema nervioso entre los diferentes canales iónicos. Además, existen diferencias funcionales entre las diferentes mutaciones del mismo gen del canal iónico como así también entre las variantes de empalme del mismo canal iónico. De esta manera, a pesar de la vinculación de los canales iónicos con las enfermedades del SNC, ha sido difícil predecir cuál canal iónico puede ser un blanco efectivo para la intervención terapéutica en una enfermedad particular. Uno de los problemas ha sido proporcionar un gen del canal iónico implicado en la esquizofrenia, trastorno bipolar o enfermedades relacionadas con las mismas.

La presente invención se refiere a estas y otras necesidades.

Síntesis de la invención

La presente invención se refiere a métodos para la identificación de sustancias o moléculas que modulan la expresión o actividad de una proteína canal iónico dependiente del voltaje, llamada CanIon, como así también a métodos para la detección de sustancias o moléculas que interactúan con el polipéptido canal iónico. También se proporcionan métodos de uso de estas sustancias identificadas en estos métodos. Por ejemplo, se proporcionan métodos de tratamiento o prevención de enfermedades o afecciones que incluyen esquizofrenia o trastorno bipolar mediante antagonistas de canales iónicos.

En un aspecto, la presente invención proporciona el uso de un anticuerpo o dominio de unión al antígeno que se une específicamente al polipéptido mostrado como SEC ID NO:5 en la preparación de un medicamento para el tratamiento de la esquizofrenia o trastorno bipolar.

En un aspecto adicional, la invención proporciona el uso *in vitro* de un anticuerpo o dominio de unión al antígeno que se une específicamente al polipéptido mostrado como SEC ID NO:5 en el diagnóstico de la esquizofrenia o trastorno bipolar.

En una realización, cualquiera de los anticuerpos o dominios de unión al antígeno descritos en la presente memoria es quimérico, humano o humanizado.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de una herramienta antisentido que inhibe la expresión del canal iónico codificado por un polinucleótido mostrado como SEC ID NO:1, 2, 3 o 4 que comprende un fragmento del polinucleótido mostrado como SEC ID NO:1, 2, 3 o 4 en la preparación de un medicamento para el tratamiento de la esquizofrenia o trastorno bipolar. En una realización, la herramienta antisentido es una ribozima.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende cualquiera de los anticuerpos, dominios de unión al antígeno o herramientas antisentido descritos en la presente, y un vehículo o excipiente adecuado.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para identificar un modulador candidato de un polipéptido de un canal iónico, dicho método que comprende: a) poner en contacto un polipéptido que comprende un polipéptido mostrado como SEC ID NO:5 con un compuesto de ensayo; y b) determinar si dicho compuesto se une específicamente a dicho polipéptido; donde una detección de que dicho compuesto se une específicamente a dicho polipéptido indica que dicho compuesto es un modulador candidato de dicho polipéptido canal iónico.

En una realización, el método también comprende ensayar la actividad biológica de dicho polipéptido canal iónico en presencia de dicho modulador candidato, donde una alteración en la actividad biológica de dicho polipéptido canal iónico en presencia de dicho modulador candidato en comparación con la actividad en ausencia de dicho modulador candidato indica que el modulador candidato es un modulador de dicho polipéptido canal iónico.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método de identificar un modulador de un polipéptido canal iónico, dicho método que comprende: a) poner en contacto un polipéptido que comprende un polipéptido mostrado como la SEC ID NO:5 con un compuesto de ensayo y b) detectar la actividad de dicho polipéptido en presencia o ausencia de dicho compuesto, donde una detección de una diferencia en dicha actividad en presencia o ausencia de dicho compuesto en comparación con la actividad en ausencia de dicho compuesto indica que dicho compuesto es un modulador de dicho polipéptido canal iónico.

En una realización de los presentes métodos, dicho polipéptido está presente en una célula o membrana celular, y dicha actividad biológica comprende la actividad de canal iónico dependiente del voltaje.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para la preparación de una composición farmacéutica que comprende a) identificar un modulador del polipéptido canal iónico utilizando cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria; y b) combinar dicho modulador con un vehículo fisiológicamente aceptable. También se proporcionan métodos de uso de las composiciones farmacéuticas.

También se proporcionan usos de los moduladores, polipéptidos, polinucleótidos o anticuerpos de canales iónicos descritos en la presente memoria para la preparación de un medicamento, por ej., para el tratamiento del cuerpo humano o para el tratamiento de cualquiera de las enfermedades o afecciones descritas en la presente memoria.

- 5 También se proporcionan kits para usar y detectar los presentes polinucleótidos y polipéptidos de canales iónicos *in vitro* o *in vivo*.

En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de marcadores bialélicos del gen del canal iónico para determinar si un individuo está en riesgo o sufre de esquizofrenia o trastorno bipolar.

10

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un diagrama que muestra un mapa BAC de la región 13q del cromosoma que contiene el gen CanIon.

- 15 *Breve descripción de las secuencias proporcionadas en el listado de secuencias*

La SEC ID No 1 contiene una secuencia genómica de CanIon que comprende la región regulatoria 5' (región no transcrita secuencia arriba) y exones 1 a 7.

- 20 La SEC ID No 2 contiene una secuencia genómica de CanIon que comprende los exones 8 27.

La SEC ID No 3 contiene una secuencia genómica de CanIon que comprende los exones 28 a 44, y la región regulatoria 3' (región no transcrita secuencia abajo).

- 25 La SEC ID No 4 contiene la secuencia de ADNc de CanIon.

La SEC ID No 5 contiene la secuencia de aminoácidos codificada por el ADNc de la SEC ID No 4.

La SEC ID No 6 contiene la secuencia de nucleótidos del amplicón que comprende el marcador bialélico A1 8.

30

La SEC ID No 7 contiene un cebador que contiene la secuencia adicional PU 5' descrita adicionalmente en el Ejemplo 2.

- 35 La SEC ID No 8 contiene un cebador que contiene la secuencia adicional RP 5' descrita adicionalmente en el Ejemplo 2.

De acuerdo con las regulaciones relacionadas con el listado de secuencias, se han usado los siguientes códigos en el listado de secuencia para indicar las localizaciones de los marcadores bialélicos dentro de la secuencias y para identificar cada uno de los alelos presentes en la base polimórfica. El código "r" de las secuencias indica que un alelo de la base polimórfica es una guanina, mientras que el otro alelo es una adenina. El código "y" de las secuencias indica que un alelo de la base polimórfica es una timina, mientras que el otro alelo es una citosina. El código "m" de las secuencias indica que un alelo de la base polimórfica es una adenina, mientras que el otro alelo es una citosina. El código "k" de las secuencias indica que un alelo de la base polimórfica es una guanina, mientras que el otro alelo es una timina. El código "s" de las secuencias indica que un alelo de la base polimórfica es una guanina, mientras que el otro alelo es una citosina. El código "w" de las secuencias indica que un alelo de la base polimórfica es una adenina, mientras que el otro alelo es una timina. El código del nucleótido del alelo original para cada marcador bialélico es el siguiente:

50	Marcador bialélico	Alelo original
	5-124-273	A (por ejemplo)

En algunos casos, las bases polimórficas de los marcadores bialélicos alteran la identidad de uno de los aminoácidos del polipéptido codificado. Esto se indica en el Listado de secuencias que acompaña por el uso de la VARIANTE característica, la colocación de un Xaa en la posición del aminoácido polimórfico y la definición de Xaa como los dos aminoácidos alternativos. Por ejemplo, si un alelo de un marcador bialélico es el codón CAC, que codifica histidina, mientras el otro alelo del marcador bialélico es CAA, que codifica glutamina, el listado de secuencias para el polipéptido codificado contendrá un Xaa en la localización del aminoácido polimórfico. En este caso, Xaa se definiría como histidina o glutamina.

60

En otros casos, Xaa puede indicar un aminoácido cuya identidad es desconocida debido a la ambigüedad de la secuencia nucleotídica. En este caso, se usa el rasgo UNSURE, la colocación de un Xaa en la posición del aminoácido desconocido y la definición de Xaa como cualquiera de los 20 aminoácidos o un número limitado de aminoácido sugeridos por el código genético.

65

Descripción detallada

La suma de esquizofrenia y trastorno bipolar en familias, la evidencia de los estudios de gemelos y adopción y la carencia de variación de la incidencia mundial, indica que la esquizofrenia y el trastorno bipolar son ante todo 5 afecciones genéticas, si bien los factores de riesgo ambientales también están implicados en cierto nivel como causas necesaria, suficiente o interactiva. Por ejemplo, la esquizofrenia se produce en el 1% de la población general. Pero, si hay un abuelo con esquizofrenia, el riesgo de contraer la enfermedad aumenta a aproximadamente el 3%; si existe un padre con esquizofrenia el riesgo aumenta a aproximadamente el 10%. Cuando ambos padres sufren esquizofrenia, el riesgo aumenta aproximadamente al 40%.

La identificación de los genes involucrados en un rasgo particular tal como un trastorno del sistema nervioso específico, como esquizofrenia, se puede llevara cabo mediante dos estrategias principales empleadas en la actualidad para le mapeo genético: análisis de unión y estudios de asociación. El análisis del ligación requiere el estudio de las familias con múltiples individuos afectados y es en la actualidad útil para la detección de rasgos heredados mono- u 15 oligogénicos. A la inversa, los estudios de asociación examina la frecuencia de marcadores alélicos en individuos con rasgos no relacionados (T+) en comparación con controles con rasgos negativos (T-) y generalmente se emplean en la detección de herencia poligénica.

El enlace o “ligación” genético se basa en un análisis de cuál de dos secuencias vecinas de un cromosoma contiene 20 las mínimas recombinaciones por cruza durante la meiosis. Para hacer esto, se han localizado con precisión marcadores cromosómicos, como los marcadores microsatélite, en el genoma. El análisis del ligación genético calcula las probabilidades de recombinaciones del gen blanco con los marcadores cromosómicos empleados, de acuerdo con el árbol genealógico, la transmisión de la enfermedad y la transmisión de los marcadores. De esta manera, si un alelo particular de un marcador dado se transmite con la enfermedad con más frecuencia que si fuera por azar (nivel de recombinación entre 0 y 0,5), es posible deducir que el gen blanco en cuestión se halla en la vecindad del marcador. 25 Mediante esta técnica, ha sido posible localizar varios genes que demuestran una predisposición genética de los cánceres familiares. Con el fin de poderse incluir en un estudio de ligación genético, las familias afectadas por una forma hereditaria de la enfermedad debe satisfacer el criterio de “contenido de la información”: varios sujetos afectados (y cuyo ADN constitucional está disponible) por generación, y en el mejor de los casos que tiene un gran número de 30 hermanos.

Los resultados de los estudios de ligación avalaron la hipótesis de que el cromosoma 13 probablemente albergaba un locus de sensibilidad a la esquizofrenia en 13q32 (Blouin *et al.*, 1998, *Nature Genetics*, 20:70-73; Lin MW *et al.*, *Hum. Genet.*, 99(3) (1997):417-420; Brzustowicz *et al.*, *Am. J. Hum. Genet.* 65:1096-1103 (1999)). Sin embargo, 35 mientras el análisis es un método poderoso para detectar genes involucrados en un rasgo, con frecuencia no es posible la resolución más allá del nivel de la megabase y con frecuencia se requieren estudios complementarios para refinar el análisis de las regiones inicialmente identificadas mediante este método.

Un cóntigo BAC que cubre una región genómica candidata del locus cromosómico 13q-31-q33 se construyó mediante los STS públicos localizados en la región q33 del cromosoma 13831 para seleccionar una genoteca BAC propia- 40 taria equivalente del genoma 7. A partir de estos materiales, se generaron nuevos STS que permiten la construcción de un mapa físico denso de la región de los Los BAC se evaluaron en tamaño y mapearon por hibridación cromosómica *in situ* para la verificación. Se identificó un conjunto mínimo de SACS y se secuenció completamente, lo cual produjo varios cóntigos que conducen a la construcción final de un cóntigo de más de 4 Mb. La construcción de este mapa 45 condujo a la identificación del gen de CanIon que se localiza dentro de una región genómica que muestra una ligación significativa a la esquizofrenia.

La secuencia de aminoácidos de CanIon es característica de CACHANNEL, una huella genética de 7 elementos que proporciona un distintivo pata la subunidad Alfa-1 de los canales de calcio (Ref. PR00167, base de datos BLOCKs+). 50 La huella digital derivada de un alineamiento inicial de 6 motivos de secuencias se trazaron de regiones conservadas del bucle capaces de distinguirse entre estos y otros canales de cationes; los motivos 1 y 2 codifican a los que están entre los segmentos de transmembrana 4 y 5, y 5 y 6 (primer repetición interna); el motivo 3 corresponde a entre el segmento 6 de la repetición 1 y el segmento 1 de la repetición 2; el motivo 4 codifica entre los segmentos 5 y 6 de la repetición 2; el motivo 5 corresponde entre el segmento 6 de la repetición 3 y el segmento 1 de la repetición 4; y los 55 motivos 6 y 7 codifican a los que están entre los segmentos 4 y 5, y 5 y 6 de la repetición 4.

La Figura 1 muestra que los cóntigos de BAC cubren una región del cromosoma 13 de interés que incluye el gen CanIon, y muestra la localización genómica del gen CanIon en relación con los marcadores genéticos que muestran la mayor significación en los estudios de ligación. En particular, Blouin *et al.* (1998) realizó un barrido amplio 60 del genoma de sensibilidad a esquizofrenia empleando 452 marcadores microsatélite de los linajes del complejo 54. El ligación más significativo entre la esquizofrenia familiar se halló en el cromosoma 13q32 cerca del marcador D13S174. Brzustowicz *et al.* (1999) evaluaron los marcadores microsatélite que abarcan los cromosomas 8 y 13 en 21 familias canadienses extendidas. Los marcadores de la región 13q del cromosoma produjeron puntajes de LOD positivos en cada modelo de análisis usado: dominante autosómico y recesivo, con la definición restringida o amplia de esquizofrenia. Los máximos puntajes LOD de tres puntos se obtuvieron con le marcador D13S793 con 65 un modelo recesivo amplio: 3.92 en la fracción recombinante (θ).1 bajo homogeneidad y 4.42 con $\alpha=.65$ y $\theta=0$ bajo heterogeneidad. En referencia al Figura 1, el gen CanIon se localiza parcialmente en el cóntigo marcado “Región E” y parcialmente en el cóntigo marcado C0001A10. El gen CanIon está flanqueado por los dos marcadores que mues-

tran mayor significación en los estudios de ligación. El marcador D13S174 está también en el cóntigo C0001A10, mientras que el marcador D13S793 está localizado aproximadamente 3,5 Mb en relación centromérica con el gen de CanIon.

Existe una gran necesidad de identificar los genes involucrados en la esquizofrenia, trastorno bipolar y otras enfermedades y afecciones del SNC y cardiovascular. También hay necesidad de identificar nuevos canales iónicos involucrados en las enfermedades. Estos genes y proteínas pueden proporcionar nuevos puntos de intervención para el tratamiento de la esquizofrenia, trastorno bipolar u otras afecciones del SNC, además de otras afecciones tales como afecciones cardíacas e hipertensión, y permiten el estudio y caracterización adicional del gen de CanIon y su vía biológica relacionada. El conocimiento de estos genes y las vías biológicas relacionadas implicadas en estas enfermedades y afecciones permitirán a los investigadores comprender la etiología de por ej., esquizofrenia y trastorno bipolar y conducirán a los fármacos y medicaciones que se dirigen contra las causas de estas enfermedades. Por ejemplo, los compuestos que bloquean canales de CanIon se pueden usar para tratar cualquiera de varias enfermedades o afecciones, con preferencia esquizofrenia o trastorno bipolar y que también incluyen trastornos del dolor, epilepsia y diversos trastornos cardiovasculares tales como arritmias cardíacas, angina e hipertensión. Existe también gran necesidad para hallar nuevos métodos de detección de susceptibilidad a esquizofrenia, trastorno bipolar y otras afecciones, además de prevención o seguimiento del desarrollo de cualquiera de estas enfermedades. Los instrumentos diagnósticos también podrían demostrar ser extremadamente útiles. En efecto, para dar un ejemplo, la identificación precoz de sujetos con riesgo desarrollar esquizofrenia permitiría la administración del tratamiento precoz y/o profiláctico. Además, las mediciones precisas de la eficacia de un medicamento además de la tolerancia del paciente pueden permitir a los médicos mejorar la relación riesgo/beneficio de los regímenes de tratamiento de la esquizofrenia y trastorno bipolar.

La presente invención abarca los métodos de detección de moléculas por la capacidad de modular la expresión o actividad del gen o proteína del canal iónico, además de los métodos de uso de tales moléculas para el tratamiento o prevención de la esquizofrenia, trastorno bipolar o alguna de varias enfermedades o afecciones diferentes. La invención también trata del uso de anticuerpo y dominios de unión del antígeno que se unen en forma específica a tales polipéptidos para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la esquizofrenia y un trastorno bipolar.

La presente invención abarca el uso de una herramienta antisentido que inhibe la expresión del polipéptido canal iónico que comprende un fragmento del gen del canal iónico para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la esquizofrenia o un trastorno bipolar.

La invención también trata de los marcadores bialélicos relacionados con el canal iónico y sus uso en métodos de análisis genético que incluye estudios de ligación familiares, estudios de desequilibrio de conexión en estudios poblacionales y estudios de asociación en poblaciones de casos controles. Un aspecto importante de la presente invención es que los marcadores bialélicos permiten que se realicen estudios de asociación para identificar el papel de los genes involucrados en los rasgos complejos.

Definiciones

Antes de describir la invención con mayor detalle, se exponen las siguientes definiciones para ilustrar y definir el significado y alcance de los términos usados para describir la invención en la presente memoria.

Los términos “*gen CanIon*”, cuando se usa en la presente memoria, abarca secuencias genómicas, ARNm y ADNc que codifican la proteína de CanIon, que incluye las regiones regulatorias no traducidas del ADN genómico.

El término “*proteína heteróloga*”, cuando se usa en la presente memoria, está destinado a designar alguna proteína o polipéptido diferente de la proteína de CanIon. Por ejemplo, la proteína heteróloga puede ser un compuesto que se puede usar como un marcador en experimentos adicionales con una región regulatoria de CanIon.

El término “*aislado*” requiere que el material sea retirado de su ambiente original (por ej., el ambiente natural si este se produce en forma natural). Por ejemplo, un polinucleótido o polipéptido que se produce naturalmente presente en un animal vivo no está aislado, pero el mismo polinucleótido o ADN o polipéptido, separado de algunos todos los materiales coexistentes en los sistemas naturales, está aislado. Tales polinucleótidos podrían ser parte de un vector y/o tales polinucleótido o polipéptido podrían ser parte de una composición, y aún ser aislados debido a que el vector o composición no es parte de su ambiente natural.

Por ejemplo, un polinucleótido que se produce naturalmente presente en un animal vivo no está aislado, pero el mismo polinucleótido, separado de algunos todos los materiales coexistentes en los sistemas naturales, está aislado. Específicamente excluidos de la definición de “aislado” son: cromosomas que se producen naturalmente (tales como extensiones de cromosomas), genotecas de cromosomas artificiales, genotecas genómicas y genotecas de ADNc que existen tanto como una preparación de ácido nucleico *in vitro* o como una preparación de célula hospedante transfectada/transformada, donde las células hospedantes son una preparación heterogénea *in vitro* o incubada como una población heterogénea de colonias únicas. También están específicamente excluidas, las genotecas anteriores donde un polinucleótido especificado se compone con menos de 5% de varios insertos de ácido nucleico de las moléculas del vector. También están específicamente excluidas el ADN genómico de la célula total o las preparaciones de ARN de la célula total (que incluyen dichas preparaciones de célula completa que están fragmentada mecánicamente o digeridas enzimáticamente). Además están específicamente excluidas las preparaciones de célula completa anteriores tanto en

una preparación *in vitro* o como una mezcla heterogénea separada por electroforesis (que incluyen transferencias de la misma) donde el polinucleótido de la invención no ha sido separado adicionalmente de los polinucleótidos heterólogos del medio de electroforesis (por ej., separación adicional por escisión de una calle única de una población de calles heterogéneas en un gel de agarosa o transferencia en nylon).

El término “*purificado*” no requiere pureza absoluta; más bien, se considera como una definición relativa. Esta expresamente contemplada la purificación del material de partida o material natural material en por lo menos un orden de magnitud, con preferencia dos o tres órdenes de magnitud y con más preferencia cuatro o cinco órdenes de magnitud. Como un ejemplo, la purificación de 0,1% de concentración a 10% de concentración es dos órdenes de magnitud. Para ilustrar, los clones de ADNc individuales aislados de una genoteca de ADNc se han purificado convencionalmente por homogeneidad electroforética. Las secuencias obtenidas de estos clones no se podrían obtener directamente de la genoteca o de el ADN humano total. Los clones de ADNc no se producen en forma natural como tales, sino que mas bien se obtiene por manipulación de una sustancia que se produce en forma natural parcialmente purificada (ARN mensajero). La conversión de ARNm en una genoteca de ADNc implica la creación de una sustancia sintética (ADNc) y los clones individuales de ADNc se pueden aislar de la genoteca sintética por selección clonal. De este modo, se crea una genoteca de ADNc del ARN mensajero y posteriormente se aíslan clones individuales de esa genoteca que produce una purificación de aproximadamente 10^4 - 10^6 veces del mensaje nativo.

El término “*purificado*” también se usa en la presente memoria para describir un polipéptido o polinucleótido de la invención que ha sido separado de los otros compuestos que incluyen, pero sin limitación, polipéptidos o polinucleótidos, carbohidratos, lípidos, etc. El término “*purificado*” se puede usar para especificar la separación de polipéptidos monoméricos de la invención de las formas oligoméricas tales como homo- o hetero dímeros, trímeros, etc. El término “*purificado*” también se puede usar para especificar la separación de may de polinucleótidos cerrados en forma covalente a partir de sus polinucleótidos lineales. Un polinucleótido es sustancialmente puro cuando por lo menos aproximadamente 50%, con preferencia 60 a 75% de una muestra presenta una secuencia y conformación del polinucleótido única (por ej., lineal versus covalentemente cerrado). Un polipéptido o polinucleótido sustancialmente puro comprende típicamente aproximadamente 50%, con preferencia 60 a 90% peso/peso de una muestra de polipéptido o polinucleótido, respectivamente, más usualmente aproximadamente 95%, y con preferencia es por encima de aproximadamente 99% puro. La pureza del polipéptido y polinucleótido, u homogeneidad, está indicada por varios medios bien conocidos en la técnica, tales como la electroforesis en gel de agarosa o poliácridamida de una muestra, seguida por la visualización de una calle única después la tinción del gel. Para ciertos propósitos, una mayor resolución se puede proporcionar por medio de HPLC u otros medios bien conocidos en la técnica. Como realización alternativa, la purificación de los polipéptidos y polinucleótidos de la presente invención se puede expresar como “por lo menos” un porcentaje de pureza en relación con los polipéptidos y polinucleótidos heterólogos (ADN, ARN o ambos). Como realización preferida, los polipéptidos y polinucleótidos de la presente invención son por lo menos; 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 96%, 98%, 99%, o 100% puro con respecto a los polipéptidos y polinucleótidos heterólogos, respectivamente. Como una realización adicional preferida los polipéptidos y polinucleótidos tiene una pureza que varía de cualquier número a la milésima posición, entre 90% y 100% (por ej., un polipéptido o polinucleótido por lo menos 99,995% puro) con respecto a los polipéptidos y polinucleótidos heterólogos, respectivamente, o como una proporción peso/peso en relación con todos los compuestos y moléculas diferentes que las que existen el vehículo. Cada número que representa un por ciento de pureza, hasta la milésima posición, puede ser reivindicado como una especie individual de pureza.

El término “*polipéptido*” se refiere a un polímero de aminoácidos sin tomar en consideración la longitud del polímero; de este modo, los péptidos, oligopéptidos y proteínas están incluidas en la definición de polipéptido. Este término tampoco especifica o excluye las modificaciones pos-expresión de los polipéptidos, por ejemplo, polipéptidos que incluyen la unión covalente de los grupos glicosilo, grupos acetilo, grupos fosfato, grupos lipídicos y similares estás expresamente comprendidos por el término polipéptido. También están incluidos en la definición los polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido (que incluyen, por ejemplo, aminoácidos que no se producen naturalmente, aminoácidos que solo se producen naturalmente en un sistema biológico no relacionado, aminoácidos modificados de sistemas mamíferos, etc.), polipéptidos con uniones sustituidas, además de otras modificaciones conocidas en la técnica, tanto que se producen naturalmente como los que se no se producen naturalmente.

El término “*polipéptido recombinante*” se usa en la presente memoria para referirse a los polipéptidos que han sido diseñados artificialmente y que comprenden por lo menos dos secuencias polipeptídicas que no se hallan como secuencias polipeptídicas contiguas en su ambiente natural inicial o se refiere a los polipéptidos que han sido expresado a partir de un polinucleótido recombinante.

Como se usa en la presente memoria, el término “*animal no humano*” se refiere a cualquier vertebrado no humano, pájaros y más usualmente mamíferos, con preferencia primates, animales de granja tales como cerdos, cabras, ovejas, burros y caballos, conejos o roedores, con más preferencia ratas o ratones. Como se usa en la presente memoria, el término “*animal*” se usa para referirse a cualquier vertebrado, con preferencia un mamífero. Ambos términos “*animal*” y “*mamífero*” abarca expresamente sujetos humanos a menos que este precedida por el término “*no humano*”.

Como se usa en la presente memoria, el término “*anticuerpo*” se refiere a un polipéptido o grupo de polipéptidos que comprenden por lo menos un dominio de unión, donde un dominio de unión del anticuerpo está formado del plegado de dominios variables de una molécula de anticuerpo para formar espacios de unión tridimensionales con una forma de superficie interna y distribución de carga complementaria con las características de un determinante

antigénico de un antígeno, que permite una reacción inmunológica con el antígeno. Los anticuerpos incluyen proteínas recombinantes que comprenden los dominios de unión, además de los fragmentos, que incluyen los fragmentos Fab, Fab', F(ab)₂, y F(ab')₂.

5 Como se usa en la presente memoria, un “*determinante antigénico*” es la porción de una molécula de antígeno, en este caso un polipéptido CanIon, que determina la especificidad de la reacción del antígeno anticuerpo. Un “*epítipo*” se refiere a un determinante antigénico de un polipéptido. Un epítipo puede comprender solamente 3 aminoácidos en una conformación espacial que es única para el epítipo. Generalmente un epítipo comprende por lo menos 6 de tales aminoácidos, y más usualmente por lo menos 8-10 de tales aminoácidos. Los métodos para determinar los aminoácidos
10 que componen un epítipo incluyen la cristalografía de rayos x, resonancia magnética nuclear en 2 dimensiones y mapeo de epítopes por ej. el método Pepscan descrito por Geysen *et al.* 1984; Publicación PCT No. WO 84103564; y Publicación PCT No. WO 84103506.

A lo largo de la presente memoria descriptiva, la expresión “*secuencia de nucleótidos*” se puede empelar para
15 designar en forma indistinta a un polinucleótido o un ácido nucleico. Más precisamente, la expresión “*secuencia de nucleótidos*” abarca el material nucleico en sí mismo y de este modo no está restringido a la información de la secuencia (es decir, la sucesión de letras elegidas entre las cuatro letras básicas) que caracterizan bioquímicamente una molécula de ADN o ARN específica.

20 Como se usan en forma indistinta en la presente memoria, los términos “*ácidos nucleicos*”, “*oligonucleótidos*” y “*polinucleótidos*” incluyen las secuencias híbridas de ARN, ADN o ARN/ADN de un nucleótido forma de cadena simple o bicatenaria. El término “*nucleótido*” se usa en la presente memoria como un adjetivo para describir moléculas que comprenden secuencias híbridas de cualquier longitud de ARN, ADN o ARN/ADN de un nucleótido forma de cadena simple o bicatenaria. El término “*nucleótido*” también se usa en la presente memoria como un sustantivo para
25 referirse a nucleótidos individuales o variedades de nucleótidos, que significan una molécula, o unidad individual en una molécula de ácido nucleico más grande, que comprende una purina o pirimidina, un residuo de azúcar ribosa o desoxirribosa y un grupo fosfato, o unión fosfodiéster en el caso de los nucleótidos dentro de un oligonucleótido o polinucleótido. Si bien el término “*nucleótido*” también se usa en la presente memoria para abarcar “*nucleótidos modificados*” que comprende por lo menos una de las siguientes modificaciones (a) un grupo de unión alternativo,
30 (b) una forma análoga de purina, (c) una forma análoga de pirimidina, o (d) un azúcar análogo, para ejemplos de los grupos de unión análogos, purina, pirimidinas y azúcares, ver por ejemplo publicación PCT No. WO 95/04064. Las secuencias de polinucleótidos de la invención se pueden preparar por cualquier método conocido, que incluye métodos de síntesis, recombinantes, de generación *ex vivo* o una combinación de los mismos, además de la utilización de alguno de los métodos de purificación conocidos en la técnica.

35 Una secuencia que está “*operativamente unida*” a una secuencia regulatoria tal como un promotor significa que dicho elemento regulatorio está en la localización y orientación correcta en relación con el ácido nucleico para controlar la iniciación y expresión de ARN polimerasa del ácido nucleico de interés. Como se usa en la presente memoria, el término “*operativamente unido*” se refiere al unión de los elementos del polinucleótido en una relación funcional. Por ejemplo, un promotor o potenciador está operativamente unido a una secuencia codificadora si esta afecta la transcripción de la secuencia codificadora.

Los términos “*rasgo*” y “*fenotipo*” se usan en forma indistinta en la presente memoria y se refieren a cualquier propiedad visible, detectable o aparte de eso medible de un organismo tal como síntomas de o susceptibilidad a una
45 enfermedad por ejemplo. Típicamente los términos “*rasgo*” o “*fenotipo*” se usan en la presente memoria para referirse a los síntomas de o susceptibilidad a una enfermedad, respuesta benéfica a o efectos secundarios a un tratamiento. Con preferencia, dicho rasgo puede ser, sin limitación, trastornos psiquiátricos tales como esquizofrenia o trastorno bipolar, otros trastornos del SNC o neuronales tal como epilepsia o trastornos del dolor, además de afecciones cardiovasculares tales como anginas, hipertensión y arritmias, así también como cualquier aspecto, rasgo o características de alguna de
50 estas enfermedades o afecciones.

El término “*alelo*” se usa en la presente memoria para referirse a las variantes de una secuencia de nucleótidos. Un polimorfismo bialélico tiene dos formas. Los organismos diploides pueden ser homócigos o heterócigos para una forma alélica.

55 El término “*tasa de heterocigosidad*” se usa en la presente memoria para referirse a la incidencia de los individuos en la población que son heterócigos en un alelo particular. En un sistema bialélico, la tasa de heterocigosidad es sobre un promedio igual a $2P_a(1-P_a)$, donde P_a es la frecuencia del alelo menos común. Con el fin de ser útil para los estudios genéticos, un marcador genético debería tener un nivel adecuado de heterocigosidad para permitir una probabilidad razonable de que una persona seleccionada al azar será heteróciga.

60 El término “*genotipo*” como se usa en la presente memoria se refiere a la identidad de los alelos presentes en un individuo o muestra. En el contexto de la presente invención, un genotipo con preferencia se refiere a la descripción de los alelos del marcador bialélico presente en un individuo o muestra, por ej., los alelos de los marcadores bialélicos dentro del gen CanIon o región genómica. El término “*genotipificación*” de una muestra o individuo para un marcador bialélico involucra determinar el alelo específico o el nucleótido específico portado por un individuo en el marcador bialélico.

El término “*mutación*” como se usa en la presente memoria se refiere a una diferencia en la secuencia de ADN entre diferentes genomas o individuos que tiene una frecuencia por debajo del 1%.

El término “*haplotipo*” se refiere a una combinación de alelos presentes en un individuo o muestra. En el contexto de la presente invención, un haplotipo con preferencia se refiere a una combinación de alelos del marcador bialélico hallados en un individuo dado y el cual se puede asociar con un fenotipo.

El término “*polimorfismo*” como se usa en la presente memoria se refiere a la presencia de dos o más secuencias genómicas o alelos alternativos entre dos o más genomas o individuos diferentes. “Polimórfico” se refiere a la afección en la que dos o más variantes de una secuencia genómica específica se pueden hallar en una población. Un “sitio polimórfico” es el locus en cual se produce la variación. Un polimorfismo de nucleótido único es el reemplazo de un nucleótido por otro nucleótido en el sitio polimórfico. La supresión de un nucleótido único o la inserción de un nucleótido único también originan polimorfismos de nucleótido único. En el contexto de la presente invención, el “polimorfismo de nucleótido único” con preferencia se refiere a una sustitución de nucleótido único. Típicamente, entre diferentes individuos, el sitio polimórfico puede ser ocupado por dos diferentes nucleótidos.

El término “*polimorfismo bialélico*” y “*marcador bialélico*” se usan en forma indistinta en la presente memoria para referirse a un polimorfismo de nucleótido único que tiene dos alelos en una frecuencia basta alta en la población. Un “alelo del marcador bialélico” se refiere a las variantes de nucleótidos presentes en un sitio del marcador bialélico. Típicamente, se ha convalidado la frecuencia del alelo menos común de los marcadores bialélicos de la presente invención que es mayor del 1%, con preferencia la frecuencia es mayor del 10%, con más preferencia la frecuencia es por lo menos del 20% (es decir, la tasa de heterocigosidad es de por lo menos 0,32), aun con más preferencia la frecuencia es por lo menos del 30% (es decir, la tasa de heterocigosidad es de por lo menos 0,42). Un marcador bialélico donde la frecuencia de los alelos menos comunes es del 30% o más se denomina “marcador bialélico de alta calidad”.

La localización de nucleótidos en un polinucleótido con respecto al centro del polinucleótido se describen en la presente memoria de la siguiente manera Cuando un polinucleótido tiene un número impar de nucleótidos, se considera que el nucleótido a una distancia igual de los extremos 3' y 5' del polinucleótido está “*en el centro*” del polinucleótido, y cualquier nucleótido inmediatamente adyacente al nucleótido en el centro, o el nucleótido en el centro mismo se considera que está “dentro de 1 nucleótido del centro”. Con un número impar de nucleótidos de un polinucleótido, se debería considerar que cualquiera de las cinco posiciones de nucleótidos del medio del polinucleótido está en los 2 nucleótidos del centro y similares. Cuando un polinucleótido tiene un número par de nucleótidos, debería haber un enlace y no un nucleótido en el centro del polinucleótido. De este modo, se debería considerar que cualquiera de los dos nucleótidos está “en 1 nucleótido del centro” y se debería considerar que cualquiera de los cuatro nucleótidos del medio del polinucleótido esta “en los 2 nucleótidos del centro” y etcétera. Para los polimorfismos que involucran la sustitución, inserción o supresión de 1 o más nucleótidos, el polimorfismo, marcador alélico o bialélico está “en el centro” de un polinucleótido si la diferencia entre la distancia de los polinucleótidos sustituidos, insertados o suprimidos del polimorfismo y el extremo 3' del polinucleótido y la distancia de los polinucleótidos sustituido, insertado o suprimido del polimorfismo y el extremo 5' del polinucleótido es cero o un nucleótido. Si esta diferencia es 0 a 3, entonces se considera que el polimorfismo está “en 1 nucleótido del centro”. Si la diferencia es 0 a 5, se considera que el polimorfismo está “en 2 nucleótidos del centro”. Si la diferencia es 0 a 7, se considera que el polimorfismo está “en 3 nucleótidos del centro” y etcétera.

El término “*corriente arriba*” se usa en la presente memoria para referirse a una localización que es hacia el extremo 5' del polinucleótido de un punto de referencia específica o en el caso de un gen, en la dirección que corre de la secuencia codificadora al promotor.

Los términos “*con bases apareadas*” y “con apareamiento de bases de Watson & Crick” se usan en forma indistinta en la presente memoria para referirse a los nucleótidos que se pueden unir por hidrógeno a otro en virtud de sus identidades de secuencia en una manera similar a la que se halló en ADN de doble hélice con residuos de timina o uracilo unidos a residuos de adenina por dos enlaces de hidrógeno y residuos de citosina y guanina unidos por tres enlaces de hidrógeno (ver Stryer, L., *Biochemistry*, 4th edición, 1995).

Los términos “*complementario/a*” o “complemento del mismo” se usan en la presente memoria para referirse a las secuencias de polinucleótidos que son capaces de formar un apareamiento de bases de Watson & Crick con otro polinucleótido especificado a lo largo de la totalidad de la región complementaria. Para el propósito de la presente invención, se estima que un primer polinucleótido es complementario con el segundo polinucleótido cuando cada base en el primer polinucleótido se aparea con su base complementaria. Las bases complementarias son, generalmente, A y T (o A y U), o C y G. “Complemento” se usa en la presente memoria como un sinónimo de “polinucleótido complementario”, “ácido nucleico complementario” y “secuencia nucleotídica complementaria”. Estos términos se aplican a pares de polinucleótidos basadas únicamente en sus secuencias y no en cualquier conjunto de condiciones bajo las cuales los dos polinucleótidos se unirían realmente.

*Variantes y fragmentos**1- Polinucleótidos*

5 Son adecuados para el uso en la presente invención las variantes y fragmentos de los polinucleótidos descritos en la presente memoria, en particular de un gen de CanIon que contiene uno o más marcadores bialélicos.

Las variantes de los polinucleótidos, como el término usado en presente memoria, son los polinucleótidos que difieren de un polinucleótido de referencia. Una variante de un polinucleótido puede ser una variante que se produce naturalmente tal como una variante alélica que se produce naturalmente o puede ser una variante que no se sabe que se produce naturalmente. Tales variantes del polinucleótido que no se producen naturalmente se pueden preparar por técnicas de mutagénesis, que incluyen a las aplicadas a los polinucleótidos, células u organismos. Generalmente, las diferencias se limitan a que las secuencias de nucleótidos de la referencia y las variantes son muy similares globalmente y en muchas regiones idénticas.

Las variantes de los polinucleótidos adecuadas para el uso en la presente invención incluyen, pero sin limitación, secuencias de nucleótidos que son por lo menos 95% idénticas a un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en las secuencias de nucleótidos de las SEC ID Nos 1 a 4 o de cualquier fragmento de polinucleótido de por lo menos 12 nucleótidos consecutivos de un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en las secuencias de nucleótidos de las SEC ID Nos 1 a 4, y con preferencia por lo menos 99% idéntica, más particularmente por lo menos 99,5% idéntica y con mayor preferencia por lo menos 99,8% idéntica a un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en las secuencias de nucleótidos de las SEC ID Nos 1 a 4 de cualquier fragmento de polinucleótido de por lo menos 12 nucleótidos consecutivos de un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en las secuencias de nucleótidos de las SEC ID Nos 1 a 4.

Los cambios de nucleótidos presentes en una variante de polinucleótido puede ser silente, lo cual significa que no alteran los aminoácidos codificados por el polinucleótido. Sin embargo, los cambios de nucleótidos también pueden producir sustituciones, adiciones, supresiones, fusiones y truncamientos de aminoácidos del polipéptido codificado por la secuencia de referencia. Las sustituciones, supresiones o adiciones pueden involucrar uno o más nucleótidos. Se pueden alterar las variantes en las regiones codificadoras o no codificadoras o en ambas. Las alteraciones en las regiones codificadoras pueden producir sustituciones, supresiones o adiciones conservadoras o no conservadoras de aminoácidos.

Las realizaciones particularmente preferidas adecuadas para usar en la presente invención son aquellas en las cuales los polinucleótidos codifican polipéptidos que retienen sustancialmente la misma función o actividad biológica que la proteína de CanIon madura o aquellas en las cuales los polinucleótidos codifican polipéptidos que mantienen o aumentan una actividad biológica particular, mientras se reduce una segunda actividad biológica.

Un fragmento de polinucleótido es un polinucleótido que tiene una secuencia que es completamente igual en parte pero no el total de una secuencia de nucleótido dada, con preferencia la secuencia de nucleótido de un gen de CanIon y variantes del mismo. El fragmento puede ser una porción de un intrón o un exón de un gen de CanIon. También puede ser una porción de las regiones regulatorias de CanIon. Con preferencia, tales fragmentos comprenden por lo menos uno de los marcadores bialélicos A1 a A17 o los complementos del mismo o un marcadores bialélico en desequilibrio de unión con uno o más de los marcadores bialélicos A1 a A17.

Tales fragmentos pueden estar "libres", es decir, no son parte o no están fusionados a otros polinucleótidos, o ellos pueden estar comprendidos dentro de un polinucleótido único más grande en el cual ellos forman una parte o región. En efecto, varios de estos fragmentos pueden estar presentes dentro de un polinucleótido único más grande.

Opcionalmente, tales fragmentos pueden consistir en o consistir esencialmente de un espacio contiguo de por lo menos 8, 10, 12, 15, 18, 20, 25, 35, 40, 50, 70, 80, 100, 250, 500 o 1000 nucleótidos de longitud. Un conjunto de fragmentos preferidos contiene por lo menos uno de los marcadores bialélicos A1 a A17 del gen de CanIon que se describió en la presente memoria o los complementos del mismo.

2- Polipéptidos

Son adecuados para el uso en la presente invención variantes, fragmentos, análogos y derivados de los polipéptidos descritos en la presente memoria, que incluyen las proteínas CanIon mutadas.

La variante puede ser 1) una en la cual uno o más de los residuos de aminoácidos están sustituidos con un residuo de aminoácido conservado o no conservado y tal residuo de aminoácido sustituido pueden o no puede estar codificado por el código genético, o 2) una en la cual uno o más de los residuos de aminoácidos incluye un grupo sustituyente o 3) una en la cual el CanIon mutado está fusionado con otro compuesto, tal como un compuesto para aumentar la vida media del polipéptido (por ejemplo, polietilenglicol), o 4) una en la cual los aminoácidos adicionales está fusionados al CanIon mutado, tal como una secuencia líder o secretoria o una secuencia que se emplea para la purificación de CanIon mutado o una secuencia de proteína. Tales variantes están consideradas dentro del alcance de los expertos en la técnica.

Un fragmento de polipéptido es un polipéptido que tiene una secuencia que es completamente igual en parte pero no el total de un polipéptido dado, con preferencia un polipéptido codificado por el gen de CanIon y las variantes del mismo.

En el caso de una sustitución de aminoácido en la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de acuerdo con la invención, uno o varios aminoácidos se pueden reemplazar por aminoácidos “equivalentes”. La expresión aminoácido “equivalente” se usa en la presente memoria para designar a cualquier aminoácido que puede ser sustituido por uno de los aminoácidos que tienen propiedades similares, de manera que un experto en la técnica de la química de péptidos podría esperar que la estructura secundaria y la naturaleza hidropática del polipéptido permanezca sustancialmente sin cambios. Generalmente, los siguientes grupos de aminoácidos representan cambios equivalentes: (1) Ala, Pro, Gli, Glu, Asp, Gin, Asn, Ser, Tr, (2) Cys, Ser, Thr, Trp; (3) Val, Ile, Leu, Met, Ala, Phe; (4) Lys, Arg, His; (5) Phe, Thr, Trp, His.

Una realización específica de una molécula modificada del péptido de CanIon de interés adecuada para el uso en la presente invención incluye, pero sin limitaciones, a una molécula de péptido que es resistente a la proteólisis, es un péptido en el cual el enlace péptido-CONH está modificado y reemplazado por un enlace reducido (CH₂NH), un enlace retro inverso (NHCO), un enlace metileno (CH₂-O), un enlace tiometileno (CH₂-S), un enlace carba (CH₂CH₂), un enlace cetometileno (CO-CH₂), a un enlace hidroxietileno (CHOH-CH₂), un enlace (N-N) y un enlace E-alceno o también un enlace -CH=CH-. Para el uso en la presente invención es adecuado un polipéptido CanIon humano o un fragmento o una variante del mismo en la cual por lo menos un enlace peptídico que ha sido modificado como se describió anteriormente.

Tales fragmentos pueden estar “libres”, es decir, es decir, no son parte o no están fusionados a otros polipéptidos o ellos pueden estar comprendidos dentro de un polipéptido único más grande en el cual ellos forman una parte o región. Sin embargo, varios fragmentos pueden estar comprendidos en un polipéptido único más grande.

Como ejemplos representativos de los fragmentos de polipéptido adecuados para uso en la invención, se puede mencionar a los que tienen de aproximadamente 5, 6, 7, 8, 9 o 10 a 15, 10 a 20, 15 a 40, o 30 a 55 aminoácidos de largo. Los fragmentos preferidos son los que contienen por lo menos una mutación de aminoácido en la proteína de CanIon.

Identidad entre ácidos nucleicos o polipéptidos

Los términos “porcentaje de identidad de secuencia” y “porcentaje de homología” se usan en forma indistinta en la presente memoria para referirse a las comparaciones entre polinucleótidos y polipéptidos, y se determinan por comparación de dos secuencias con alineamiento óptimo a través de una ventana de comparación, en la que una porción de la secuencia de polinucleótidos o polipéptidos de la ventana de comparación puede comprender adiciones o supresiones (es decir, brechas) en comparación con la secuencia de referencia (que no comprende adiciones o supresiones) para el alineamiento óptimo de las dos secuencias. El porcentaje se calcula por la determinación del número de posiciones en las que aparece el residuo idéntico de la base de ácido nucleico o aminoácido en ambas secuencias para producir el número de posiciones apareadas, se divide el número de posiciones apareadas por el número total de posiciones de la ventana de comparación y se multiplica el resultado por 100 para producir el porcentaje de la identidad de secuencia. La homología se evalúa mediante alguno de la variedad de algoritmos y programas de comparación de secuencia conocidos en la técnica. Tales algoritmos y programas incluyen, pero no implican una limitación a, TBLASTN, BLASTP, FASTA, TFASTA, y CLUSTALW (Pearson and Lipman, 1988; Altschul *et al.*, 1990; Thompson *et al.*, 1994; Higgins *et al.*, 1996; Altschul *et al.*, 1990; Altschul *et al.*, 1993). En una realización particularmente preferida, las homologías de la secuencia de proteína y ácido nucleico se evalúan mediante la herramienta de búsqueda de alineamiento local de bases (“BLAST”) que es bien conocido en la técnica (ver, por ej., Karlin and Altschul, 1990; Altschul *et al.*, 1990, 1993, 1997). En particular, se emplean cinco programas BLAST específicos para realizar la siguiente tarea:

(1) BLASTP y BLASTS compara una secuencia de aminoácidos desconocida contra una secuencia de proteína de una base de datos;

(2) BLASTN compara una secuencia de nucleótido desconocida contra una secuencia de nucleótido de una base de datos;

(3) BLASTX compara los productos de traducción conceptual de seis marcos de una secuencia de nucleótido desconocida (ambas cadenas) contra una secuencia de proteína de una base de datos;

(4) TBLASTN compara una secuencia de proteína desconocida contra una secuencia de nucleótido de una base de datos traducida en los seis marcos de lectura (ambas cadenas); y

(5) TBLASTX compara las traducciones de seis marcos de una secuencia de nucleótidos desconocida contra las traducciones de seis marcos de una secuencia de nucleótidos de una base de datos.

Los programas BLAST identifican secuencias homólogas por identificación de segmentos similares, que se mencionan en la presente memoria como “pares de segmentos de alto puntaje” entre una secuencia desconocida de aminoácidos o ácidos nucleicos y una secuencia de ensayo que se obtiene con preferencia de una secuencia de proteína o

ácidos nucleicos de una base de datos. Los pares de segmentos de alto puntaje se identifican con preferencia (es decir, se alinean) por medio de matrices de puntaje, muchas de las cuales son conocidas en la técnica. Con preferencia, se usa la matriz de puntaje BLOSUM62 (Gannet *et al.*, 1992; Henikoff and Henikoff, 1993). Con menor preferencia, se pueden usar PAM o PAM250 (ver, por ej., Schwartz and Dayhoff, eds., 1978). Los programas BLAST evalúan la significación estadística de todos los pares de segmentos de alto puntaje identificados y con preferencia selecciona los segmentos que satisfacen el umbral especificado por el usuario de significación, tal como un porcentaje de homología especificado por el usuario. Con preferencia, la significación estadística de un par de segmentos de alto puntaje se evalúa mediante la fórmula de significación estadística de Karlin (ver, por ej., Karlin y Altschul, 1990). Los programas BLAST se pueden usar con parámetros en defecto o con parámetros proporcionados por el usuario.

Condiciones rigurosas de hibridación

Con el propósito de definir tal hibridación de ácido nucleico, las condiciones de hibridación rigurosas son las siguientes:

El paso de hibridación se realiza a 65°C en presencia de buffer SSC 6 x, solución de Denhardt 5x, SDS 0,5% y 100 µg/ml de ADN de esperma de salmón.

El paso de hibridación se continúa con cuatro pasos de lavado:

- dos lavados de 5 min, con preferencia a 65°C en SSC 2 x y buffer SDS 0,1% SDS;
- un lavado de 30 min, con preferencia a 65°C en SSC 2 x y buffer SDS 0,1%;
- un lavado de 10 min, con preferencia a 65°C en SSC 0,1 x y SDS 0,1%,

estas condiciones de hibridación son adecuadas para una molécula de ácido nucleico de aproximadamente 20 nucleótidos de longitud. No hay necesidad de decir que las condiciones de hibridación descritas anteriormente se deben adaptar a la longitud del ácido nucleico deseado, siguiendo las técnicas bien conocidas por los expertos. Las condiciones de hibridación adecuadas se pueden adaptar. por ejemplo de acuerdo con las instrucciones descritas en el libro de Hames y Higgins (1985).

Secuencias genómicas del gen CanIon

Es adecuado para el uso en la presente invención el gen CanIon o las secuencias genómicas de CanIon que consisten en esencialmente o comprenden la secuencia de las SEC ID Nos 1 a 3, una secuencia del mismo, además de los fragmentos y variantes de los mismos. Estos polinucleótidos puede ser purificados, aislados o recombinantes.

Es adecuado para el uso en la presente invención es un polinucleótido purificado, aislado o recombinante que comprenden una secuencia de nucleótidos que tiene por lo menos 70, 75, 80, 85, 90, o 95% de identidad de nucleótidos con una secuencia de nucleótidos de las SEC ID Nos 1 a 3 o una secuencia complementaria de la misma o un fragmento de la misma. Las diferencias de nucleótidos en cuanto a la secuencia de nucleótidos de las SEC ID Nos 1 a 3 generalmente se puede distribuir al azar en todo el ácido nucleico entero. Sin embargo, los ácidos nucleicos preferidos son aquellos en los que la diferencia de nucleótidos en cuanto a la secuencia de nucleótidos de las SEC ID Nos 1 a 3 se localizan predominantemente fuera de las secuencias codificadoras contenidas en los exones. Estos ácidos nucleicos, además de sus fragmentos y variantes, se pueden usar como cebadores o sondas de oligonucleótidos para detectar la presencia de una copia del gen de CanIon en una muestra de ensayo o alternativamente para amplificar una secuencia de nucleótidos blanco dentro de las secuencias de CanIon.

Es adecuado para el uso en la presente invención un ácido nucleico purificado, aislado o recombinante se hibridiza con la secuencia de nucleótidos de las SEC ID Nos 1 a 3 o una secuencia complementaria de la misma o un fragmento de la misma, en las condiciones de hibridización rigurosas como se definió anteriormente. En realizaciones preferidas, dicho ácido nucleico purificado, aislado o recombinante se hibridiza específicamente con los polinucleótidos del gen de CanIon humano, con más preferencia dicho ácido nucleico es capaz de hibridizar a los nucleótidos del gen de CanIon humano pero es sustancialmente incapaz de hibridizar con una secuencia de ácido nucleico del gen de CanIon de rata.

Los ácidos nucleicos particularmente preferidos adecuado para el uso en la presente invención incluyen polinucleótidos purificados, aislados o recombinantes que comprenden un espacio contiguo de por lo menos 12, 15, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 o 10000 nucleótidos de las SEC ID No 1 a 3 o los complementos de la misma. Se debe advertir que los fragmentos de ácido nucleico de cualquier tamaño y secuencias también pueden estar comprendidos por los polinucleótidos descriptos en esta sección.

El ácido nucleico genómico de CanIon comprende 44 exones. Las posiciones del exón en las SEC ID No 1 a 3 se detallan a continuación en la

ES 2 271 092 T3

TABLA B

Exón	Posición en la SEC ID No 1		Intrón	Posición en la SEC ID No 1	
	Comienzo	Fin		Comienzo	Fin
1	2001	2026	1	2027	19187
2	19188	19334	2	19335	22995
3	22996	23178	3	23179	39730
4	39731	39814	4	39815	41336
5	41337	41476	5	41477	41564
6	41565	41693	6	41694	73012
7	73013	73167			
Exón	Posición en la SEC ID No 2		Intrón	Posición en la SEC ID No 2	
	Comienzo	Fin		Comienzo	Fin
8	43726	43868	7	43869	43997
9	43998	44102	8	44103	52092
10	52093	52179	9	52180	77567
11	77568	77699	10	77700	98225
12	98226	98393	11	98394	106566
13	106567	106758	12	106759	144108
14	144109	144246	13	144247	159793
15	159794	159868	14	159869	191291
16	191292	191428	15	191429	192966
17	192967	193108	16	193109	211539
18	211540	211613	17	211614	225005
19	225006	225107_	18	225108	225543
20	225544	225613	19	225614	228449
21	228450	228541	20	228542	228629
22	228630	228752	21	228753	231288
23	231289	231345	22	231346	231588
24	231589	231709	23	231710	231812
25	231813	231944	24	231945	232899
26	232900	233067	25	233068	235354
27	235355	235459			
Exón	Posición en la SEC ID No 3		Intrón	Posición en la SEC ID No 3	
	Comienzo	Fin		Comienzo	Fin
28	3895	4001	26	4002	9610
29	9611	9731	27	9732	9815
30	9816	9914	28	9915	15775
31	15776	15869	29	15870	16381
32	16382	16488	30	16489	16696

33	16697	16771	31	16772	17933
34	17934	18053	32	18054	23643
35	23644	23712	33	23713	24927
36	24928	25076	34	25077	25912
37	25913	26006	35	26007	30766
38	30767	30899	36	30900	31560
39	31561	31676	37	31677	34043
40	34044	34201	38	34202	37492
41	37493	37643	39	37644	39651
42	39652	39801	40	39802	41562
43	41563	41680	41	41681	44130
44	44131	45841			

De este modo, son adecuados para el uso en la invención los polinucleótidos purificados, aislados o recombinantes que comprenden una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en los 44 exones del gen de CanIon y cada una de las secuencias complementarias de las mismas. La invención también proporciona ácidos nucleicos purificados, aislados o recombinantes que comprenden una combinación de por lo menos dos exones del gen de CanIon, donde los polinucleótidos se disponen dentro del ácido nucleico del extremo 5' al extremo 3' de dicho ácido nucleico, en el mismo orden que en la SEC ID No 1 a 3.

El intrón 1 se refiere a la secuencia de nucleótidos localizada entre el Exón 1 y Exón 2, etcétera. La posición de los intrones se detalla en la Tabla A. De este modo, son adecuados para el uso en la invención los polinucleótidos purificados, aislados o recombinantes que comprenden una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en los 43 intrones del gen CanIon o una secuencia complementaria de la misma.

Si bien esta sección se titula "secuencias genómicas de CanIon" se debe advertir que los fragmentos de ácido nucleico de cualquier tamaño y secuencias también pueden estar comprendidos por los polinucleótidos descritos en esta sección, flanqueando las secuencias genómicas de CanIon en otro lado o entre dos o más de tales secuencias genómicas.

Secuencias de ADNc de CanIon

Se ha demostrado que la expresión del gen de CanIon conduce a la producción de por lo menos una especie de ARNm, cuya secuencia de ácidos nucleicos se expone en la SEC ID No 4.

Es adecuado para el uso en la presente invención un ácido nucleico purificado, aislado o recombinante que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEC ID No 4, secuencias complementarias de las mismas, además de variantes alélicas y fragmentos de las mismas. Además los polinucleótidos preferidos de la invención incluyen los ADNc de CanIon purificados, aislados o recombinantes que consisten en, consisten esencialmente en o comprenden la secuencia de la SEC ID No 4. Los ácidos nucleicos particularmente preferidos de la invención incluyen polinucleótidos purificados, aislados o recombinantes que comprenden un espacio contiguo de por lo menos 12, 15, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 o 6000 nucleótidos de la SEC ID No 4 o los complementos de las mismas. En realizaciones preferidas, dicho espacio contiguo comprende un marcador bialélico relacionado con CanIon; con preferencia seleccionado del grupo que consiste en A12 y A16.

Es adecuado para el uso en la presente invención un ácido nucleico purificado o aislado que comprende un polinucleótido que tiene por lo menos 95% de identidad de nucleótidos con un polinucleótido de la SEC ID No 4, ventajosamente 99% de identidad de nucleótido, con preferencia 99,5% de identidad de nucleótidos y con mayor con preferencia 99,8% de identidad de nucleótidos con un polinucleótido de la SEC ID No 4, o una secuencia complementaria de la misma o un fragmento biológicamente activo de la misma.

Son adecuados para el uso en la presente invención los ácidos nucleicos purificados, aislados o recombinantes que comprenden un polinucleótido que hibridiza en condiciones de hibridación rigurosas definidas en la presente memoria, con un polinucleótido de la SEC ID No 4, o una secuencia complementaria de la misma, o una variante de la misma o un fragmento biológicamente activo de la misma.

Son adecuados para el uso en la presente invención un polinucleótido purificado, aislado o recombinante que codifica un polipéptido de CanIon que comprende un espacio contiguo de por lo menos 6 aminoácidos SEC ID No 5, en que dicho espacio contiguo incluye por lo menos 1, 2, 3, 5 o 10 de las posiciones de aminoácidos 277, 338, 574, 678, 680, 683, 691, 692, 695, 696, 697, 894, 1480, 1481, 1483, 1484, 1485, 1630, 1631, 1632, 1636, 1660, 1667,

1707, 1709 de la SEC ID No 5. También es adecuado para el uso en la presente invención un polinucleótido purificado, aislado o recombinante que codifica un polipéptido de CanIon que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID No 5, o derivados o fragmentos biológicamente activos de la misma, además de un polinucleótido purificado, aislado o recombinante que codifica un polipéptido de CanIon por lo menos 80, 85, 90, 95, 98, 99, 99,5 o 99,8% idéntico a la secuencia de aminoácidos de la SEC ID No 5.

El ADNc de la SEC ID No 4 incluye una región 5'-UTR que comienza en el nucleótido de la posición 1 y finaliza en el nucleótido de la posición 65 de la SEC ID No 4. El ADNc de la SEC ID No 4 incluye una región 3'-UTR que comienza en el nucleótido de la posición 5283 y finaliza en el nucleótido de la posición 6799 de la SEC ID No 4.

Por consiguiente, es adecuado para el uso en la presente invención un ácido nucleico purificado, aislado o recombinante que comprende una secuencia de nucleótidos de la 5'UTR del ADNc de CanIon, una secuencia complementaria de la misma o una variante alélica de la misma. También es adecuado para el uso en la presente invención un ácido nucleico purificado, aislado o recombinante que comprende una secuencia de nucleótidos de la 3'UTR del ADNc de CanIon, una secuencia complementaria de la misma o una variante alélica de la misma.

Si bien esta sección se titula "secuencias de ADNc de CanIon" se debe advertir que los fragmentos de ácido nucleico de cualquier tamaño y secuencias también pueden estar comprendidos por los polinucleótidos descritos en esta sección, flanqueando las secuencias genómicas de CanIon en otro lado o entre dos o más de tales secuencias genómicas.

Regiones codificadoras

El marco de lectura abierto del gen CanIon está contenido en el correspondiente ARNm de la SEC ID No 4. Más precisamente, la secuencia codificadora de CanIon (CDS) efectiva incluye la región entre la posición 66 (primer nucleótido de codón ATG) y la posición del nucleótido 5282 (nucleótido final del codón TGA) de la SEC ID No 4. La presente invención también abarca polinucleótidos purificados, aislados o recombinantes que codifican polipéptidos que comprenden un espacio contiguo de por lo menos 6 aminoácidos, con preferencia por lo menos 8 o 10 aminoácidos, con más preferencia por lo menos 12, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 700 o 1000 aminoácidos de la SEC ID No 5.

El polinucleótido descrito anteriormente que contiene la región codificadora del gen de CanIon se puede expresar en una célula hospedante deseada o un organismo hospedador deseado, cuando este polinucleótido se coloca bajo el control de las señales de expresión adecuadas. Las señales de expresión pueden ser las señales de expresión contenidas en las regiones regulatorias del gen de CanIon de la invención o en contraste las señales pueden ser secuencias nucleicas regulatorias exógenas. Tal polinucleótido, cuando se coloca bajo las señales de expresión adecuada, también se pueden insertar en un vector para su expresión y/o amplificación.

Secuencias regulatorias de CanIon

Como se mencionó, la secuencia genómica del gen de CanIon contiene secuencias regulatorias tanto en la región flanqueante no codificadora 5' y la región flanqueante no codificadora 3' que limita la región codificadora de CanIon que contiene los 44 exones de este gen.

Los polinucleótidos derivados de las regiones regulatorias 5' y 3' son útiles para detectar la presencia de por lo menos una copia de una secuencia de nucleótidos de CanIon o un fragmento de la misma en una muestra de ensayo.

La actividad promotora de las regiones regulatorias 5' contenidas en CanIon se puede evaluar como se describe a continuación. Para identificar los fragmentos de polinucleótido biológicamente activos relevantes o las variantes de la SEC ID No 1, un experto en la técnica se puede referir a Sambrook *et al.* (1989) que describe el uso de un vector recombinante que porta un gen marcador (es decir, beta galactosidasa, cloranfenicol acetil transferasa, etc.), cuya expresión se puede detectar cuando se lo coloca bajo el control de los fragmentos de polinucleótido biológicamente activos o variantes de la SEC ID No 1. Las secuencias genómicas localizadas corriente arriba del primer exón del gen de CanIon se clonan en un vector indicador promotor adecuado, tal como los vectores pSEAP-Basic, pSEAP-potenciador, p3gal-Basic, pSgal-potenciador o indicador promotor pEGFP-1 disponibles en Clontech, o pGL2-basic o pGL3-basic o vector del gen indicador de luciferasa menos promotor de Promega. Brevemente, cada uno de estos vectores indicadores promotores incluyen sitios de clonación ubicados corriente arriba de un gen indicador que codifica una proteína que se puede ensayar fácilmente tal como fosfatasa alcalina secretada, luciferasa, β -galactosidasa, o proteína verde fluorescente. Las secuencias corriente arriba de la región codificadora de CanIon se insertan en los sitios de clonación corriente arriba del gen indicador en ambas orientaciones y se introduce en una célula hospedante apropiada. Se ensaya el nivel de la proteína indicadora y se compara con el nivel obtenido de un vector que carece de un inserto para el sitio de clonación. La presencia de un nivel de expresión elevada en el vector que contiene el inserto en comparación con el nivel del vector control indica la presencia de un promotor en el inserto. Si es necesario, las secuencias corriente arriba se pueden clonar en vectores que contienen un potenciador para aumentar los niveles de transcripción de las secuencias promotoras débiles. Un nivel de expresión importante mencionado que se observa con el vector que carece de un inserto indica que una secuencia del promotor está presente la secuencia insertada corriente arriba.

La secuencia promotora dentro del ADN genómico corriente arriba se puede definir adicionalmente por la construcción de supresiones 5' y/o 3' anidadas en el ADN corriente arriba usando técnicas convencionales tales como Exonucleasa III o digestión con endonucleasa de restricción apropiada. Los fragmentos de supresión resultante se pueden insertar en el vector indicador promotor para determinar si la supresión ha reducido u obliterado la actividad del promotor, tal como describió, por ejemplo, Coles *et al.* (1998). De esta manera, los límites de los promotores se pueden definir si se desea, los potenciales sitios regulatorios individuales dentro del promotor se puede identificar mediante mutagénesis dirigida al sitio o barrido del ligador para obliterar los sitios de unión al factor de transcripción potencial dentro del promotor en forma individual o en combinación. Los efectos de estas mutaciones en los niveles de transcripción se pueden determinar por la inserción de las mutaciones en los sitios de clonación en vectores indicadores promotores. Este tipo de ensayo es bien conocido por los expertos en la técnica y se describe en WO 97/17359, Patente Estadounidense No. 5.374.544; EP 582.796; Patente Estadounidense No. 5.698.389; US 5.643.746; Patente Estadounidense No. 5.502.176; y Patente Estadounidense 5.266.488.

La potencia y especificidad del promotor del gen de CanIon se puede evaluar mediante la expresión de los niveles de un polinucleótido detectable operativamente unido al promotor de CanIon en tipos diferentes tipos de células y tejidos. El polinucleótido detectable puede ser un polinucleótido que se hibridiza específicamente con una sonda de oligonucleótido predefinida o un polinucleótido que codifica una proteína detectable, que incluye un polipéptido de CanIon o un fragmento o una variante de la misma. Este tipo de ensayo es bien conocido por los expertos en la técnica y se describe en la Patente Estadounidense No. 5.502.176; y la Patente Estadounidense No. 5.266.488. Alguno de los métodos se discuten con más detalle más adelante.

Los polinucleótidos que portan los elementos regulatorios localizados en el extremo 5' y en el extremo 3' de la región codificadora de CanIon se puede usar ventajosamente para controlar la actividad transcripcional y traduccional de un polinucleótido heterólogo de interés.

De este modo, es adecuado para el uso en la presente invención un ácido nucleico purificado o aislado que comprende un polinucleótido que se selecciona de un grupo que consiste en las regiones regulatorias 5' y 3' o una secuencia complementaria de la misma o un fragmento biológicamente activo o una variante de la misma. En realizaciones preferidas, la región regulatoria "5" se localiza en la secuencia de nucleótidos localizada entre las posiciones 1 y 2000 de la SEC ID No 1. La "región regulatoria" "3" se localiza en la secuencia de nucleótidos ubicada entre las posiciones 45842 y 47841 de la SEC ID No 3.

Es adecuado para el uso en la presente invención un ácido nucleico purificado o aislado que comprende un polinucleótido que tiene por lo menos 95% de identidad de nucleótidos con un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en las regiones regulatorias 5' y 3', ventajosamente 99% de identidad de nucleótido, con preferencia 99,5% de identidad de nucleótidos y con mayor preferencia 99,8% de identidad de nucleótidos con un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en las regiones regulatorias 5' y 3' o una secuencia complementaria de la misma o una variante o un fragmento biológicamente activo de la misma.

Es adecuado para el uso en la presente invención un ácido nucleico purificado o aislado que comprende un polinucleótido que hibridiza, en las condiciones de hibridación rigurosas definida en la presente memoria, con un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en las secuencias de nucleótidos de las regiones regulatorias 5'- y 3' o una secuencia complementaria de la misma o una variante de la misma o un fragmento biológicamente activo de la misma.

Los fragmentos preferidos de la región regulatoria 5' tiene una longitud de aproximadamente 1500 o 1000 nucleótidos, con preferencia de aproximadamente 500 nucleótidos, con más preferencia aproximadamente 400 nucleótidos, aun con más con preferencia 300 nucleótidos y con mayor preferencia aproximadamente 200 nucleótidos.

Los fragmentos preferidos de la región regulatoria 3' tienen por lo menos 50, 100, 150, 200, 300 o 400 bases de longitud.

Los derivados de polinucleótido "biológicamente activos" de las SEC ID Nos 1 y 3 son los polinucleótidos que comprenden o alternativamente consisten en un fragmento de dicho polinucleótido que es funcional como una región regulatoria para la expresión de un polipéptido recombinante o un polinucleótido recombinante en una célula hospedante recombinante. Este podría actuar como un potenciador o un represor.

Para el propósito de la invención, un ácido nucleico o polinucleótido es "funcional" como una región regulatoria para la expresión de un polipéptido recombinante o polinucleótido recombinante si dicha polinucleótido regulatorio contiene las secuencias de nucleótidos que contienen información regulatoria transcripcional y traduccional, y tales secuencias están "operativamente unidas" a secuencias de nucleótidos que codifican al polipéptido deseado o el polinucleótido deseado.

Los polinucleótidos regulatorios adecuados para usar en la invención se pueden preparar a partir de la secuencia de nucleótidos de las SEC ID Nos 1 y 3 por escisión mediante enzimas de restricción adecuadas como se describe por ejemplo en el libro de Sambrook *et al.* (1989). Los polinucleótidos regulatorios se pueden preparar por digestión de las SEC ID Nos 1 y 3 por una enzima endonucleasa, tal como Ba131 (Wabiko *et al.*, 1996). Estos polinucleótidos regulatorios también se pueden preparar por síntesis química como se describe en otra parte de la memoria descriptiva.

Los polinucleótidos regulatorios adecuados para usar en la invención puede ser parte de un vector de expresión recombinante que se puede usar para expresar una secuencia codificadora en una célula hospedante u organismo hospedador deseados. Los vectores de expresión recombinante de acuerdo con la invención se describen en otra parte de la memoria descriptiva.

Un polinucleótido regulatorio 5' adecuado para usar en la invención preferido incluye la región 5' no traducida (5'-UTR) del ADNc de CanIon o un fragmento biológicamente activo o variante de la misma.

Un polinucleótido regulatorio 3' adecuado para usar en la invención preferido incluye la región no traducida 3' (3'-UTR) del ADNc de CanIon o o un fragmento biológicamente activo o variante de la misma.

Un objeto adicional de la invención consiste en un ácido nucleico purificado o aislado que comprende:

a) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos regulatoria seleccionada del grupo que consiste en:

(i) una secuencia de nucleótidos que comprende un polinucleótido de la región regulatoria 5' o una secuencia complementaria de la misma;

(ii) una secuencia de nucleótidos que comprende un polinucleótido que tiene por lo menos 95% de identidad de nucleótidos con la secuencia de nucleótidos de la región regulatoria 5' o una secuencia complementaria de la misma;

(iii) una secuencia de nucleótidos que comprende un polinucleótido que hibridiza en condiciones de hibridación rigurosas con la secuencia de nucleótidos de la región regulatoria 5' o una secuencia complementaria de la misma; y

(iv) un fragmento biológicamente activo o una variante de los polinucleótidos en (i), (ii) y (iii);

b) un polinucleótido que codifica un polipéptido deseado o un ácido nucleico de interés, operativamente unido al ácido nucleico definido anteriormente (a);

c) opcionalmente, un ácido nucleico que comprende un polinucleótido regulatorio 3', con preferencia polinucleótido regulatorio 3' del gen de CanIon.

En una realización específica del ácido nucleico definido anteriormente, dicho ácido nucleico incluye la región no traducida 5' (5'-UTR) del ADNc del gen de CanIon o un fragmento biológicamente activo o variante de la misma.

En una segunda realización específica del ácido nucleico definido anteriormente, dicho ácido nucleico incluye la región no traducida 3' (3'-UTR) del ADNc de CanIon o un fragmento biológicamente activo o variante de la misma.

El polinucleótido de la región regulatoria 5' o sus fragmentos o variantes biológicamente activos, está operativamente unido al extremo 5 del polinucleótido que codifica el polipéptido o polinucleótido deseado.

El polinucleótido de la región regulatoria 3' o sus fragmentos o variantes biológicamente activos está ventajosamente operativamente unida en el extremo 3' del polinucleótido que codifica el polipéptido o polinucleótido deseado.

El polipéptido deseado codificado por el ácido nucleico anteriormente descrito puede ser de naturaleza u origen diverso, que abarca proteínas de origen procariota o eucariota. Entre los polipéptidos expresados bajo control de una región regulatoria CanIon incluye antígenos bacterianos, fúngicos o virales. También están abarcadas las proteínas eucariotas tales como proteínas intracelulares, como proteínas tipo "constitutivas", proteínas unidas a membranas, tipo receptores y proteínas secretadas como mediadores endógenos tales como las citoquinas. El polipéptido deseado puede ser la proteína de CanIon, especialmente la proteína de la secuencia de aminoácidos de la SEC ID No 5, o un fragmento o una variante de la misma.

Los ácidos nucleicos deseados codificados por el polinucleótido anteriormente descrito, usualmente una molécula de ARN, pueden ser complementarios al polinucleótido codificador deseado, por ejemplo para la secuencia codificadora de CanIon y de este modo útil como un polinucleótido antisentido.

Tal polinucleótido se puede incluir en un vector de expresión recombinante para expresar el polipéptido deseado o el ácido nucleico deseado en la célula hospedante o en el organismo hospedador. Los vectores recombinantes adecuados que contienen un polinucleótido tal como se describe en la presente memoria se revelan en otra parte de la memoria descriptiva.

Construcciones de polinucleótidos

Los términos "construcción de polinucleótidos" y "polinucleótido recombinante" se usan en forma indistinta en la presente memoria para referirse a polinucleótidos lineales o circulares, purificados o aislados que han sido diseñados

en forma artificial y que comprenden por lo menos dos secuencias de nucleótidos que no se hallan como secuencias de nucleótidos contiguas en su ambiente natural inicial.

Construcción de ADN que permite dirigir la expresión temporal u espacial del gen de CanIon en células hospedantes recombinantes y en animales transgénicos

Con el fin de estudiar las consecuencias fisiológicas y fenotípicas de la carencia de síntesis de la proteína de CanIon, tanto a nivel celular como a nivel de organismos multicelulares, la invención también abarca construcciones de ADN y vectores recombinantes que permiten una expresión condicional de un alelo específico de la secuencia genómica o ADNc de CanIon y también una copia de esta secuencia genómica o ADNc que alberga sustituciones, supresiones o adiciones de una o más bases en cuanto a la secuencia de nucleótidos de CanIon de las SEC ID Nos 1 a 4, o un fragmento de la misma, estas sustituciones, supresiones o adiciones de bases se localizan tanto en un exón, un intrón o una secuencia regulatoria, pero con preferencia en la secuencia regulatoria 5' o en un exón de la secuencia genómica de CanIon o dentro del ADNc de CanIon de la SEC ID No 4. En una realización preferida, la secuencia de CanIon comprende un marcador bialélico adecuado para usar en la presente invención. En una realización preferida, la secuencia de CanIon comprende un marcador bialélico adecuado para usar en la presente invención, con preferencia uno de los marcadores bialélicos es A1 a A17.

Son adecuados para usar en la invención los vectores recombinantes que comprenden a alguno de los polinucleótidos descriptos en la presente invención. Más particularmente, las construcciones de polinucleótidos de acuerdo con la presente invención pueden comprender a alguno de los polinucleótidos descriptos en sección "Secuencias genómicas del gen de CanIon", la sección "Secuencias de ADNc de CanIon", la sección "Regiones codificadoras" y la sección "Sondas y cebadores de oligonucleótidos".

Una primera construcción de ADN preferida se basa en el operón *tet* de resistencia a tetraciclina proveniente de transposón de *E. coli* Tn10 para controlar la expresión del gen de CanIon, tal como fue descrito por Gossen *et al.* (1992, 1995) y Furth *et al.* (1994). Tal construcción de ADN contiene siete secuencias del operador *tet* de Tn10 (*tetop*) que está fusionados tanto a un promotor mínimo o una secuencia regulatoria 5' del gen de CanIon, dicho promotor mínimo o dicha secuencia regulatoria de CanIon está operativamente unida a un polinucleótido de interés que codifica tanto a un oligonucleótido homocodificado como antisentido o forma un polipéptido, que incluye un polipéptido de CanIon o fragmento del péptido del mismo. Esta construcción de ADN es funcional como un sistema de expresión condicional para la secuencia de nucleótidos de interés cuando la misma célula también comprende una secuencia de nucleótidos que codifica para el represor tipo salvaje (tTA) o el mutante (rtTA) fusionado al dominio de activación de la proteína viral VP16 del virus del herpes simplex, colocado bajo el control de un promotor, tal como el potenciador/promotor HCMVIE1 o el MMTV-LTR. En efecto, una construcción de ADN preferida de la invención comprende tanto el polinucleótido que contiene las secuencias del operador *tet* y como el polinucleótido que contiene la secuencia codificadora para el represor tTA o rtTA.

En una realización específica, la construcción de ADN de expresión condicional contiene la secuencia que codifica el represor de tetraciclina mutante rtTA, la expresión del polinucleótido de interés es silente en ausencia de tetraciclina y se induce en su presencia.

Construcciones de ADN que permiten la recombinación homóloga: Vectores de reemplazo

Una segunda construcción de ADN preferida comprenderá del extremo 5' al extremo 3': (a) una primera secuencia de nucleótidos que está comprendida en la secuencia genómica de CanIon; (b) una secuencia de nucleótidos que comprende un marcador selectivo positivo, tal como el marcador para resistencia a neomicina (*neo*); y (c) una segunda secuencia de nucleótidos que está comprendida en la secuencia genómica de CanIon y se localiza en el genoma corriente abajo de la primera secuencia de nucleótidos de CanIon (a).

En una realización preferida, esta construcción de ADN también comprende un marcador selectivo negativo localizado corriente arriba de la secuencia de nucleótidos (a) o corriente abajo de la secuencia de nucleótidos (c). Con preferencia, el marcador selectivo negativo comprende el gen de la timidina quinasa (*tk*) (Thomas *et al.*, 1986), el gen de la higromicina beta (*Te Miele et al.*, 1990), el gen *hprt* (Van der Lugt *et al.*, 1991; Reid *et al.*, 1990) o el gen del fragmento de la toxina A de Difteria (Dt-A) (Nada *et al.*, 1993; Yagi *et al.* 1990). Con preferencia, el marcador de selección positivo se localiza dentro de la secuencia del exón CanIon de modo de interrumpir la secuencia codificadora de la proteína de CanIon. Estos vectores de reemplazo se describen, por ejemplo, en Thomas *et al.* (1986; 1987), Mansour *et al.* (1988) y Koller *et al.* (1992).

La primera y segunda secuencias de nucleótidos (a) y (c) se puede localizar en forma indiferente dentro de una secuencia regulatoria de CanIon, una secuencia intrónica, una secuencia del exón o una secuencia que contiene secuencias regulatorias y/o secuencias intrónicas y/o del exón. El tamaño de las secuencias de nucleótidos (a) y (c) varía de 1 a 50 kb, con preferencia de 1 a 10 kb, con más preferencia de 2 a 6 kb y con mayor preferencia de 2 a 4 kb.

Construcciones de ADN que permiten la recombinación homóloga: Sistema Cre-LoxP

Estas nuevas construcciones de ADN emplean el sistema de recombinación de sitio específico del fago P1. El fago P1 posee una recombinasa llamada Cre que interactúa específicamente con un sitio *loxP* de 34 pares de bases.

El sitio *loxP* está compuesto de dos secuencias palindrómicas de 13 pb separadas por una secuencia conservada de 8 pb (Hoess *et al.*, 1986). La recombinación con la enzima Cre entre los dos sitios *loxP* que presentan una orientación idéntica conduce a la supresión del fragmento de ADN.

5 El sistema Cre-*loxP* empleado en combinación con una técnica de recombinación homóloga ha sido descrito por Gu *et al.* (1993, 1994). En breves palabras, una secuencia de nucleótidos de interés se inserta en una localización específica del genoma que alberga por lo menos dos sitios *loxP* en la misma orientación y se localiza en sus respectivos extremos de una secuencia de nucleótidos para escindirla del genoma recombinante. El evento de escisión requiere la presencia de la enzima recombinasa (Cre) dentro del núcleo de la célula hospedante recombinante. La enzima
10 recombinasa se puede poner en el momento deseado por (a) incubación de las células hospedantes recombinantes en un medio de cultivo que contiene esta enzima por medio de la inyección de la enzima Cre directamente en la célula deseada, tal como fue descrito por Araki *et al.* (1995), o por lipofección del enzima en las células, tal como fue descrito por Baubonis *et al.* (1993); (b) transfección de la célula hospedante con un vector que comprende la secuencia codificadora de Cre operativamente unida a un promotor funcional de la célula hospedante recombinante, tal promotor es opcionalmente inducible, dicho vector se introduce en la célula hospedante recombinante, tal como
15 fue descrito por Gu *et al.* (1993) y Sauer *et al.* (1988); (c) introducción en el genoma de la célula hospedante de un polinucleótido que comprende la secuencia codificadora Cre operativamente unida a un promotor funcional de la célula hospedante recombinante, tal promotor es opcionalmente inducible y dicho polinucleótido se inserta en el genoma de la célula hospedante por un evento de inserción al azar o un evento de recombinación homóloga, tal como
20 fue descrito por Gu *et al.* (1994).

En una realización específica, el vector que contiene la secuencia que se insertará en el gen de CanIon por recombinación homóloga se construye de una manera tal que los marcadores seleccionables son flanqueados por los sitios *loxP* de igual orientación, es posible, por medio del tratamiento con la enzima Cre, eliminar los marcadores seleccionables mientras se dejan las secuencias de CanIon de interés que han sido insertadas por un evento de recombinación homóloga. Otra vez, se necesitan marcadores seleccionables: un marcador de selección positivo para seleccionar el evento de recombinación y un marcador de selección negativo para seleccionar el evento de recombinación homólogo. Los vectores y métodos que usan el sistema Cre-*loxP* se describen en Zou *et al.* (1994).

30 De este modo, una tercera construcción de ADN adecuada para usar en la invención comprende, del extremo 5' al extremo 3': (a) una primer secuencia de nucleótidos que está comprendida en la secuencia genómica de CanIon; (b) una secuencia de nucleótidos que comprende un polinucleótido que codifica un marcador de selección positivo, dicha secuencia de nucleótidos comprende adicionalmente dos secuencias que definen un sitio reconocido por una recombinasa, tal como un sitio *loxP*, los dos sitios se colocan en la misma orientación; y (c) una segunda secuencia de
35 nucleótidos que está comprendida en la secuencia genómica de CanIon y está localizada en el genoma corriente abajo de la primer secuencia de nucleótidos de CanIon (a).

Las secuencias que definen un sitio reconocido por una recombinasa, tal como el sitio *loxP*, están con preferencia localizadas dentro de la secuencia de nucleótidos (b) en condiciones adecuadas rodeando la secuencia de nucleótidos para los cuales se busca la escisión condicional. En una realización específica, los dos sitios *loxP* se localizan a cada lado de la secuencia del marcador de selección positiva, con el fin de permitir su escisión en un momento deseado después de que se ha producido el evento de recombinación homóloga.

En una realización preferida de un método que emplea la tercer construcción de ADN descrita anteriormente, la escisión del fragmento del polinucleótido rodeado por los dos sitios reconocidos por una recombinasa, con preferencia los dos sitios *loxP*, se realiza en el momento deseado, debido a la presencia dentro del genoma de la célula hospedante recombinante de una secuencia codificadora de la enzima Cre operativamente unida a una secuencia promotora, con preferencia un promotor inducible, con más preferencia una secuencia de un promotor específico de tejido y con mayor preferencia una secuencia promotora que es tanto inducible como específica de tejido, tal como fue descrito por Gu
50 *et al.* (1994).

La presencia de la enzima Cre dentro del genoma de la célula hospedante recombinante puede resultar de la cruce de dos animales transgénicos, el primer animal transgénico que porta la secuencia derivada de CanIon de interés que contiene los sitios *loxP* se describió anteriormente y el segundo animal transgénico que porta la secuencia codificadora de Cre operativamente unida a una secuencia de promotor adecuada, tal como fue descrito por Gu *et al.* (1994).

El control espacio-temporal de la expresión de la enzima Cre también se puede lograr con un vector basado en adenovirus que contiene el gen Cre, de este modo se permite la infección de las células o infección *in vivo* de órganos, para la administración de la enzima Cre, tal como fue descrito por Anton y Graham (1995) y Kanegae *et al.* (1995).

60 Las construcciones de ADN descritas anteriormente se pueden usar para introducir una secuencia de nucleótidos deseada adecuada para el uso de la invención, con preferencia una secuencia genómica de CanIon o una secuencia de ADNc de CanIon y con mayor preferencia de una copia alterada de una secuencia genómica de CanIon o una secuencia de ADNc, dentro de una localización predeterminada de un genoma específico, que conduce tanto a la generación de una copia alterada de un gen específico (recombinación homóloga *knockout*) como al reemplazo de una copia del gen específico por otra copia suficientemente homóloga para permitir que se produzca el evento de recombinación homóloga (recombinación homóloga *knockout*). En una realización específica, las construcciones de ADN descritas anteriormente se pueden usar para introducir una secuencia genómica de CanIon o una secuencia de ADNc de CanIon

que comprende por lo menos un marcador bialélico adecuado para usar en la presente invención, con preferencia por lo menos un marcador bialélico seleccionado del grupo que consiste en A1 a A17.

Construcciones de ADN antisentido nucleares

Otras composiciones que contienen un vector de la invención que comprenden un fragmento de oligonucleótido de la secuencia de ácido nucleico SEC ID No 4, con preferencia un fragmento que incluye el codón de iniciación del gen de CanIon, como una herramienta antisentido que inhibe la expresión del correspondiente gen de CanIon. Los métodos preferidos que usan polinucleótidos antisentido adecuados para el uso en la presente invención son los procedimientos descriptos por Sczakiel *et al.* (1995) o los descriptos en la solicitud de PCT No WO 95/24223.

Con preferencia, las herramientas antisentido se eligen entre los polinucleótidos (15-200 pb de largo) que son complementarios al extremo 5' del ARNm de CanIon. En una realización, se usan combinaciones de polinucleótidos antisentido diferentes complementarios con partes diferentes del gen seleccionado deseado.

Los polinucleótidos antisentido preferidos adecuados para el uso en la presente invención son complementarios con una secuencia de los ARNm de CanIon que contiene tanto el codón de iniciación de traducción ATG o un sitio de empalme. Además los polinucleótidos antisentido preferidos de acuerdo con la invención son complementarios del sitio de empalme del ARNm de CanIon.

Con preferencia, los polinucleótidos antisentido adecuado para el uso en la invención tienen una señal de poliadetilación 3' que ha sido reemplazado con una secuencia de ribozima de auto-escisión, para que los transcritos de ARN polimerasa II se produzcan sin poli(A) en sus extremos 3', estos los polinucleótidos antisentido son incapaces de exportarse del núcleo, tal como fue descrito por Liu *et al.* (1994). En una realización preferida, estos los polinucleótidos antisentido de CanIon también comprenden, dentro del casete de la ribozima, una estructura en forma de horquilla de la histona para estabilizar transcritos escindidos contra la degradación exonucleolítica 3'-5', tal como la estructura descriptas por Eckner *et al.* (1991).

Sondas y cebadores oligonucleotídicos

Los polinucleótidos derivados del gen de CanIon son útiles para detectar la presencia de por lo menos una copia de una secuencia de nucleótidos de las SEC ID Nos 1 a 4 y 6, o un fragmento, complemento, o variante de la misma de una muestra de ensayo.

Las sondas y cebadores particularmente preferidas adecuadas para el uso en la invención incluyen a los polinucleótidos purificados, aislados o recombinantes que comprenden un espacio contiguo de por lo menos 12, 15, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 500, 1000, 2000, 5000, 10000 o 20000 nucleótidos de las SEC ID Nos 1 a 3 o los complementos de la misma. Además las sondas y cebadores preferidos adecuados para el uso en la invención incluyen a los polinucleótidos purificados, aislados o recombinantes, donde dicho espacio contiguo comprende un marcador bialélico seleccionado del grupo que consiste en A1 a A17.

Adecuado para usar en la invención es un ácido nucleico purificado, aislado o recombinante que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEC ID No 4, secuencia complementaria de la misma, además las variantes alélicas, y fragmentos de la misma. Además, las sondas y cebadores preferidas adecuadas para el uso en la invención incluyen a los ADNc de CanIon purificado, aislado o recombinante que consisten en, consisten esencialmente en o comprenden la secuencia de la SEC ID No 4. Las sondas y cebadores particularmente preferidos de la invención incluyen a los polinucleótidos purificados, aislados o recombinantes que comprenden un espacio contiguo de por lo menos 12, 15, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 o 6000 nucleótidos de la SEC ID No 4 o los complementos de la misma. Además las sondas y cebadores preferidas adecuadas para usar en la invención incluyen a los polinucleótidos purificados, aislados o recombinantes que comprenden un espacio contiguo de por lo menos 12, 15, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 o 6000 nucleótidos de la SEC ID No 4 o los complementos de la misma, donde dicho espacio contiguo comprende un marcador bialélico seleccionado del grupo que consiste en A12 a A16.

En realizaciones adicionales, las sondas y cebadores adecuadas para usar en la invención incluyen a los polinucleótidos purificados, aislados o recombinantes que comprenden un espacio contiguo de por lo menos 12, 15, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 300 o 400 nucleótidos de la SEC ID No 6 o los complementos de la misma. En realizaciones preferidas, dicho espacio contiguo de la SEC ID No 6 comprende un marcador bialélico A18.

De este modo, la invención también se refiere a sondas de ácido nucleico caracterizadas porque se hibridizan específicamente, en condiciones de hibridación rigurosas definidas anteriormente con un ácido nucleico seleccionado del grupo que consiste en las secuencias de nucleótidos de CanIon humanas de las SEC ID Nos 1 a 3, o una variante de la misma o una secuencia complementaria de la misma.

En una realización adecuada para usar en la invención están los polinucleótidos purificados, aislados o recombinantes que consisten en, consisten esencialmente en un espacio contiguo de 8 a 50 nucleótidos de cualquiera de las SEC ID Nos 1 a 4 y 6, el complemento de la misma, donde dicho espacio contiguo incluye un marcador bialélico relacionado con CanIon en dicha secuencia; opcionalmente, donde dicho marcador bialélico relacionado con CanIon

se selecciona del grupo que consiste en A1 a A18, y los complementos de los mismos u opcionalmente los marcadores bialélicos de desequilibrio de unión del mismo. Opcionalmente, donde dicho espacio contiguo tiene de 18 a 35 nucleótidos de longitud y dicho marcador bialélico está dentro de los 4 nucleótidos del centro de dicho polinucleótido; opcionalmente, donde dicho polinucleótido consiste en dicho espacio contiguo es de 25 nucleótidos de largo y dicho marcador bialélico está en el centro del polinucleótido; opcionalmente, donde el extremo 3' de dicho espacio contiguo está presente en el extremo 3' de dicho polinucleótido; y opcionalmente, donde el extremo 3' de dicho espacio contiguo está localizado en el extremo 3' de dicho polinucleótido y dicho marcador bialélico está presente en el extremo 3' de dicho polinucleótido. En una realización preferida, dichas sondas comprenden, consisten o consisten esencialmente de una secuencia seleccionada de las siguientes secuencias: P1 a P18 y las secuencias complementarias de la misma.

En otra realización adecuada para usar en la invención están los polinucleótidos purificados, aislados o recombinantes que comprenden, consisten en, consisten esencialmente en un espacio contiguo de 8 a 50 nucleótidos de las SEC ID Nos 1 a 4, o los complementos de las mismas, donde el extremo 3' de dicho espacio contiguo se ubica en el extremo 3' de dicho polinucleótido, y donde el extremo 3' de dicho polinucleótido se localiza en los 20 nucleótidos corriente arriba de un marcador bialélico relacionado con CanIon de dicha secuencia, opcionalmente donde dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A18, y los complementos de los mismos, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de unión de los mismos; opcionalmente, donde el extremo 3' de dicho polinucleótido se localiza 1 nucleótido corriente arriba de un marcador bialélico relacionado con CanIon de dicha secuencia y opcionalmente, donde dicho polinucleótido consiste esencialmente en una secuencia seleccionada de las siguientes secuencias: D1 a D18 y E1 a E18.

En una realización adicional, son adecuados para usar en la invención los polinucleótidos purificados, aislados o recombinantes que comprenden, consisten en o consisten esencialmente de una secuencia seleccionada de las siguientes secuencias: B1 a B17 y C1 a C17.

En una realización adicional, son adecuado para usar en la invención los polinucleótidos para uso en ensayos de hibridación, ensayos de secuenciación y ensayos de detección de errores de apareamientos basados en enzimas para determinar la identidad del nucleótido de un marcador bialélico relacionado con CanIon de las SEC ID Nos 1 a 4 y 6, o los complementos de la misma, además de los polinucleótidos para usar en la amplificación de los segmentos de los nucleótidos que comprende un marcador bialélico relacionado con CanIon de las SEC ID Nos 1 a 4 y 6, o los complementos de la misma; opcionalmente, donde dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A18, y los complementos del mismo u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de unión con el mismo.

Esta invención se refiere al uso de los polinucleótidos adecuados para usar en la invención para determinar la identidad del nucleótido de un marcador bialélico relacionado con CanIon, con preferencia en ensayo de hibridación, ensayo de secuenciación, ensayo de microsecuenciación, o un ensayo de detección de errores de apareamientos basado en enzimas y en la amplificación de segmentos de nucleótidos que comprenden un marcador bialélico relacionado con CanIon.

Una sonda o cebador adecuado para usar en la invención tiene entre 8 y 1000 nucleótidos de longitud o se especifica que es de por lo menos 12, 15, 18, 20, 25, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 100, 250, 500 o 1000 nucleótidos de longitud. Más particularmente, la longitud de estas sondas y cebadores pueden variar de 8, 10, 15, 20, o 30 a 100 nucleótidos, con preferencia de 10 a 50, con más preferencia de 15 a 30 nucleótidos. Los cebadores y sondas más cortas tienden a carecer de especificidad para una secuencia de ácido nucleico seleccionada y generalmente requiere temperaturas más frías para formar complejos híbridos con el molde suficientemente estables. Los cebadores y sondas más largos son costosos para producir y algunas veces auto-hibridizar para formar estructuras de horquilla. La longitud apropiada para los cebadores y sondas en un conjunto particular de condiciones de ensayo puede ser determinada empíricamente por un experto en la técnica. Una sonda o cebador preferido consiste en un ácido nucleico que comprende un polinucleótido seleccionado del grupo de secuencias de nucleótidos de P1 a P18 y la secuencia complementaria del mismo, B1 a B17, C1 a C17, D1 a D18, E1 a E18, para las cuales se proporcionan las localizaciones respectivas en el listado de secuencia en las Tablas 1, 2, y 3.

La formación de los híbridos más estables depende de la temperatura de fusión (T_m) del ADN. La T_m depende de la longitud del cebador o sonda, la fuerza iónica de la solución y el contenido de G+C. A mayor contenido de G+C del cebador o sonda, mayor es la temperatura de fusión ya que los pares G:C se toman por tres enlaces H mientras que los pares A:T tienen solo dos. El contenido de GC de las sondas de la invención usualmente varía entre 10 y 75%, con preferencia entre 35 y 60%, y con más preferencia entre 40 y 55%.

Los cebadores y sondas se pueden preparar por cualquier método, que incluyen, por ejemplo, clonación y restricción de secuencias apropiadas y dirigen la síntesis química por un método tal como el método fosfodiéster de Narang *et al.* (1979), el método del fosfodiéster de Brown *et al.* (1979), el método de dietilfosforamidita de Beaucage *et al.* (1981) y el método de soporte sólido descrito en EP 0 707 592.

Las sondas de detección son generalmente secuencias de ácido nucleico o análogos de ácido nucleico descargados tales como, por ejemplo ácido nucleicos peptídicos que están descritos en solicitud de Patente internacional WO 92/20702, análogos de morfolina que se describen las Patentes Estadounidenses numeradas 5.185.444; 5.034.506 y 5.142.047. La sonda se puede haber vuelto "no extendible" o sea que no se pueden agregar dNTP adicionales a la

sonda. Los análogos ya de por sí usualmente son no extendibles y las sondas de ácido nucleico se pueden volver no extendibles por la modificación del extremo 3' de la sonda de manera que el grupo hidroxilo ya no sea capaz de participar en la elongación. Por ejemplo, el extremo 3' de la sonda puede funcionar con la captura o detección de la marca para de este modo consumir o por otra parte bloquear el grupo hidroxilo. Alternativamente, el grupo hidroxilo 3' simplemente se puede escindir, reemplazar o modificar, la solicitud de Patente Estadounidense Serie No. 07/049,061 presentada el 19 de abril de 1993 describe las modificaciones, que se pueden usar para convertir a una sonda en no extendible.

Alguno de los polinucleótidos adecuados para el uso en la presente invención se pueden marcar, si se desea, por la incorporación de cualquiera de las marcas conocidas en la técnica que son detectables por medios espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, inmunoquímicos o químicos. Por ejemplo, las marcas útiles incluyen sustancias radiactivas (que incluyen ^{32}P , ^{25}S , ^3H , ^{125}I), colorantes fluorescentes (que incluyen 5-bromodesoxiuridina, fluoresceína, acetilaminofluoreno, digoxigenina) o biotina. Con preferencia, los polinucleótidos se marcan en sus extremos 3' y 5'. Los ejemplos de marcado no radiactivo de los fragmentos de ácido nucleico se describen en la patente francesa No. FR-7810975 o en Urdea *et al.* (1988) o Sanchez-Pescador *et al.* (1988). Además, las sondas de acuerdo con la presente invención pueden tener características estructurales tales que les permitan la amplificación de la señal, tales características estructurales son, por ejemplo, sondas de ADN ramificado como las descritas por Urdea *et al.* (1991) o en la patente Europea No. EP 0 225 807 (Chiron).

Un marcador también se puede usar para capturar el cebador, con el fin de facilitar la inmovilización del cebador o de un producto de extensión del cebador, tal como ADN amplificado, en un soporte sólido. Un marcador de captura se une a los cebadores o sondas y puede ser un miembro de unión específica que forma un par de unión con el miembro de unión específica con los reactivos de fase sólida (por ej. biotina y estreptavidina). En consecuencia, de acuerdo con el tipo de marcador transportado por un polinucleótido o una sonda, se puede emplear para capturar o detectar el ADN específico. Además, se debe entender que los polinucleótidos, cebadores o sondas proporcionados en la presente memoria pueden por sí mismos, actuar como marcador de captura. Por ejemplo, en el caso de que el miembro de unión con los reactivos de fase sólida sea una secuencia de ácido nucleico, ésta se puede seleccionar de manera tal que se una a una porción complementaria de un cebador o sonda para de este modo, inmovilizar el cebador o sonda en la fase sólida. En los casos en los que una sonda de polinucleótido actúa por sí misma como miembro de unión, los expertos en la técnica reconocerán que la sonda contendrá una secuencia o "cola" que no sea complementaria con el blanco. En el caso donde un cebador polinucleotídico sirva por sí mismo como marcador de captura, por lo menos una porción del cebador estará libre de hibridizar con un ácido nucleico en la fase sólida. Las técnicas de marcación de ADN son bien conocidas por el técnico experto.

Las sondas adecuadas para el uso en la presente invención son útiles para varios propósitos. Ellas se pueden usar notablemente en hibridación Southern del ADN genómico. También se pueden usar para detectar productos de amplificación de PCR. También se pueden usar para detectar errores de apareamiento en el gen o ARNm de CanIon mediante otras técnicas. También se pueden usar para detectar expresión de un gen de CanIon, por ej. en una transferencia Northern.

Algunos de los polinucleótidos, cebadores y sondas adecuados para el uso en la presente invención se pueden inmovilizar en forma conveniente en un soporte sólido. Los soportes sólidos son conocidos por los expertos en la técnica e incluyen las paredes de los pocillos de una cubeta de reacción, tubos de ensayo, microesferas de poliestireno, microesferas magnéticas, tiras de nitrocelulosa, membranas, micropartículas tales como partículas de látex, eritrocitos de oveja (u otro animal), duracites y otros. El soporte sólido no es crítico y puede ser seleccionado por un experto en la técnica. De este modo, las partículas de látex, micropartículas, microesferas magnéticas o no magnéticas, membranas, tubos plásticos, paredes de los pocillos de microtitulación, chips de silicona o vidrio, eritrocitos de oveja (u otros de animales adecuados) y duracytes[®] son ejemplos adecuados. Los métodos adecuados para inmovilizar ácidos nucleicos en fases sólidas incluyen interacciones iónicas, hidrofóbicas, covalentes y similares. Un soporte sólido, como se usa en la presente memoria, se refiere a cualquier material que es insoluble, o se puede volver insoluble por una reacción posterior. El soporte sólido se puede elegir para su capacidad intrínseca para atraer e inmovilizar el reactivo de captura. Alternativamente, la fase sólida puede retener un receptor adicional que tiene capacidad para atraer e inmovilizar el reactivo de captura. El receptor adicional puede incluir una sustancia cargada que está cargada en forma opuesta con respecto al reactivo de captura mismo o una sustancia cargada conjugada al reactivo de captura. Como otra realización alternativa, la molécula del receptor puede ser de un miembro de unión específica que está inmovilizado sobre (unido a) el soporte sólido y que tiene la capacidad de inmovilizar al reactivo de captura mediante una reacción de unión específica. La molécula del receptor permite la unión directa del reactivo de captura a un material de soporte sólido antes de la realización del ensayo o durante la realización del ensayo. La fase sólida, en consecuencia, puede ser, un plástico, derivado de plástico, metal magnético no magnético, superficie de vidrio o silicona de un tubo de ensayo, pocillo de microtitulación, lámina, microesfera, micropartícula, chip, eritrocito de oveja (o de otro animal adecuado), duracytes[®] y otras configuraciones conocidas por los que tienen experiencia en la técnica. Los polinucleótidos de la invención se puede unir a o inmovilizarse en un soporte sólido en forma individual o en grupo de por lo menos 2, 5, 8, 10, 12, 15, 20, o 25 polinucleótidos distintos de la invención a un soporte sólido único. Además, los polinucleótidos diferentes de los adecuados para usar en la invención se pueden unir al mismo soporte como uno o más polinucleótidos adecuados para usar en la invención.

Por consiguiente, un método adecuado para usar en la invención es un método para detectar la presencia de un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada de un grupo que consiste en las SEC ID

Nos 1 a 4 y 6, un fragmento o variante de la misma una secuencia complementaria de la misma de una muestra, dicho método que comprende los siguientes pasos de:

5 a) poner en contacto una sonda de ácido nucleico o una pluralidad de las sondas de ácido nucleico que pueden hibridizar con una secuencia de nucleótidos incluidas en una forma de ácido nucleico seleccionada seleccionado del grupo que consiste en las secuencias de nucleótidos de las SEC ID Nos 1 a 4 y 6, un fragmento o una variante de la misma y una secuencia complementaria de la misma y la muestra se ensaya y b) detectar el complejo del híbrido formado entre la sonda y un ácido nucleico de la muestra. Es adecuado para usar en la invención un kit para detectar la presencia de un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada de un grupo que consiste en las SEC ID Nos 1 a 4 y 6, un fragmento o variante de la misma y una secuencia complementaria de la misma en una muestra, dicho kit comprende:

15 a) una sonda de ácido nucleico o una pluralidad de sondas de ácido nucleico que pueden hibridizar con una secuencia de nucleótidos incluida en una forma de ácido nucleico seleccionada que consiste en las secuencias de nucleótidos de las SEC ID Nos 1 a 4 y 6, un fragmento o variante del mismo y una secuencia complementaria de la misma; y

b) opcionalmente, los reactivos necesarios para realizar la reacción de hibridación.

20 En una primera realización preferida de este método y kit de detección, dicha sonda de ácido nucleico o la pluralidad de sondas de ácido nucleico se marcan con una molécula detectable. En una segunda realización preferida de dicho método y kit, dicha sonda de ácido nucleico o la pluralidad de sondas de ácido nucleico han sido inmovilizadas en un sustrato. En una tercera realización preferida, sonda de ácido nucleico o la pluralidad de sondas de ácido nucleico comprenden una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en las secuencias de nucleótidos de P1 a P16 y la secuencia complementaria de la misma, B1 a B17, C1 a C17, D1 a D18, E1 a E18 o un marcador bialélico seleccionado del grupo que consiste en A1 a A18 y los complementos del mismo.

Matrices de oligonucleótidos

30 Un sustrato que comprende una pluralidad de cebadores o sondas oligonucleotídicas de la invención se puede usar para detectar o amplificar las secuencias seleccionadas del gen de CanIon y también se puede usar para detectar mutaciones de las secuencias codificadoras o no codificadoras del gen de CanIon.

Cualquiera de los polinucleótidos proporcionados en la presente memoria se puede unir en áreas superpuestas o en localizaciones al azar sobre el soporte sólido. Alternativamente los polinucleótidos adecuado para usar en la invención se pueden unir en una matriz ordenada donde cada polinucleótido se une a una región distinta del soporte sólido que no se superpone con el sitio de unión de cualquier otro polinucleótido. Con preferencia, tal matriz ordenada de polinucleótidos se diseña para ser “dirigible” en la que se registran las distintas ubicaciones y a las que se puede acceder como parte de un procedimiento de ensayo. Las matrices de polinucleótidos dirigidas típicamente comprenden una pluralidad de sondas de oligonucleótidos diferentes que se acoplan a una superficie de un sustrato en distintas ubicaciones conocidas. El conocimiento de la ubicación exacta de cada polinucleótido convierte a estas matrices “dirigibles” en particularmente útiles para los ensayos de hibridación. Cualquier tecnología de matrices conocidos en la técnica se puede emplear con los polinucleótidos de la invención. Una realización particular de las matrices de polinucleótidos se conoce como Genechips™, y se ha descrito generalmente en la Patente Estadounidense 5.143.854; publicaciones PCT WO 90/15070 y 92/110092. Estas matrices se pueden producir generalmente mediante métodos de síntesis mecánicos o métodos de síntesis dirigidos por la luz que incorporan una combinación de métodos fotolitográficos y síntesis de oligonucleótidos en fase sólida (Fodor *et al.*, 1991). Las matrices de inmovilización de los oligonucleótidos en soporte sólido se han vuelto posibles debido al desarrollo de una tecnología identificada generalmente como “Síntesis de polímeros inmovilizados en gran escala” (VISIPS™) en la cual, típicamente, las sondas se inmovilizan en una matriz de muy alta densidad sobre una superficie sólida de un chip. Los ejemplos de tecnologías VLSIPS™, se proporcionan en las Patentes estadounidenses 5.143.854; y 5.412.087 y en las publicaciones PCT WO 90/15070, WO 92/10092 y WO 95/11995, las que describen los métodos para formar matrices de oligonucleótidos mediante técnicas tales como técnicas de síntesis dirigidas por la luz. Para el diseño de estrategias dirigidas a la provisión de matrices de nucleótidos inmovilizados en soportes sólidos, se desarrollaron estrategias de presentación adicionales para ordenar y desplegar las matrices de oligonucleótidos en los chip en un esfuerzo para maximizar los patrones de hibridación y la información de secuencia. Los ejemplos de tales estrategias de presentación se describen en las Publicaciones PCT WO 94/12305, WO 94/11530, WO 97/29212 y WO 97/31256.

En otra realización de las matrices de oligonucleótidos adecuadas para usar en la invención, se puede usar en forma ventajosa una matriz de sonda de oligonucleótido para detectar las mutaciones que se producen en el gen de CanIon y con preferencia en su región regulatoria. Para este propósito particular, se diseñan específicamente sondas que tengan una secuencia de nucleótidos que permita su hibridación con los genes que portan mutaciones conocidas (tanto por supresión, inserción o sustitución de uno o varios nucleótidos). Por mutaciones conocidas, se entiende a las mutaciones del gen de CanIon que han sido identificadas de acuerdo con, por ejemplo, la técnica usada por Huang *et al.* (1998) o Samson *et al.* (1996).

Otra técnica que se usa para detectar mutaciones en el gen de CanIon es el uso de una matriz de ADN de alta densidad. Cada sonda de oligonucleótido que constituye un elemento unitario de la matriz de ADN de alta densidad

está diseñada para combinarse con una subsecuencia específica del ADN o ADNc de Canlon. De esta manera, una matriz que consiste en oligonucleótidos complementarios con las subsecuencias de la secuencia del gen blanco se usa para determinar la identidad de la secuencia blanco con la secuencia del gen salvaje, medir su proporción y detectar diferencias entre la secuencia blanco y la secuencia del gen salvaje de referencia del gen de Canlon. En tal diseño, denominado matriz en capas 4L está implementado un conjunto de cuatro sondas (A, C, G, T), con preferencia oligómeros de 15 nucleótidos. En cada conjunto de cuatro sondas, el complemento perfecto hibridizará más intensamente que las ondas mal apareadas. Por consiguiente, se barre un ácido nucleico blanco de longitud L para buscar mutaciones con una matriz en capas que contiene sondas 4L, el conjunto total de sondas que contiene todas las mutaciones posibles de la secuencia de referencia salvaje. Las señales de hibridación de la de la matriz sonda en capas del conjunto de las sondas 15-mer se alteran por un cambio de bases único de la secuencia blanco. Como consecuencia, hay una pérdida característica de señal o una "huella genética" para las sondas que flanquean una posición de mutación. Esta técnica fue descrita por Chee *et al.* (1996).

Por consiguiente, es adecuado para usar en la invención una matriz de moléculas de ácido nucleico que comprenden por lo menos un polinucleótido descrito anteriormente como sondas y cebadores. Con preferencia es adecuado para usar en la invención una matriz de ácidos nucleicos que comprende por lo menos dos polinucleótidos descritos anteriormente como sondas y cebadores.

Adecuado para usar en la invención es una matriz de secuencias de ácido nucleico que comprenden por lo menos una de las secuencias seleccionadas del grupo que consiste en P1 a P18, B1 a B17, C1 a C17, D1 a D18, E1 a E18, las secuencias complementarias de las mismas, un fragmento de la misma de por lo menos 8, 10, 12, 15, 18, 20, 25, 30, o 40 nucleótidos consecutivos del mismo y por lo menos una secuencia que comprende un marcador bialélico seleccionado del grupo que consiste en A1 a A18 y los complementos del mismo.

Adecuado para usar en la invención es una matriz de secuencias de ácido nucleico que comprenden por lo menos dos de las secuencias seleccionadas del grupo que consiste en P1 a P18, B1 a B17, C1 a C17, D1 a D18, E1 a E18, las secuencias complementarias de las mismas, un fragmento de la misma de por lo menos 8 nucleótidos consecutivos del mismo y por lo menos dos secuencias que comprenden un marcador bialélico seleccionado del grupo que consiste en A1 a A18 y los complementos del mismo.

Proteínas y fragmentos del polipéptido de Canlon

El término "polipéptidos de Canlon" se usa en la presente memoria para abarcar todas las proteínas y polipéptidos de la presente invención. También son adecuados para usar en la invención los polipéptidos codificados por los polinucleótidos de la invención, además de péptidos de fusión que comprenden tales polipéptidos. La invención comprende las proteínas de Canlon de humanos, que incluyen proteínas de Canlon aisladas o purificadas que consisten en, consiste esencialmente en o comprende la secuencia de la SEC ID No 5.

Es adecuado para usar en la invención el polipéptido codificado por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en la SEC ID No 1 a 4 y 6, una secuencia complementaria de la misma o un fragmento del mismo.

Son adecuados para usar en la invención los polipéptidos purificados, aislados o recombinantes que comprenden un espacio contiguo de por lo menos 6 aminoácidos, con preferencia por lo menos 8 a 10 aminoácidos, con más preferencia por lo menos 12, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 700, 1000, 1200, 1400, 1600 o 1700 aminoácidos de la SEC ID No 5. En otras realizaciones preferidas la extensión contigua de aminoácidos comprende el sitio de una mutación o mutación funcional, que incluye una supresión, adición, intercambio o truncamiento de aminoácidos de la secuencia de la proteína de Canlon. En realizaciones preferidas, son adecuados para usar en la invención los polipéptidos purificados, aislados o recombinantes que comprenden un espacio contiguo de por lo menos 6 aminoácidos, con preferencia por lo menos 8 a 10 aminoácidos, con más preferencia por lo menos 12, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 700, 1000, 1200, 1400, 1600 o 1700 aminoácidos de la SEC ID No 5, donde dicho espacio contiguo incluye por lo menos 1, 2, 3, 5 o 10 de las posiciones de aminoácidos 277, 338, 574, 678, 680, 683, 691, 692, 695, 696, 697, 894, 1480, 1481, 1483, 1484, 1485, 1630, 1631, 1632, 1636, 1660, 1667, 1707, 1709 de la SEC ID No 5. Con preferencia, donde dicho espacio contiguo de la SEC ID No 5 comprende un residuo de alanina de la posición 277; una serina de la posición 338; una valina de la posición 574; una leucina de la posición 678; una serina de la posición 680; una treonina de la posición 683; una histidina de la posición 691; una serina de la posición 692; una serina de la posición 695; una alanina de la posición 696; una isoleucina de la posición 697; una isoleucina de la posición 894; una lisina de la posición 1480; una arginina de la posición 1481; una glicina de la posición 1483; una valina de la posición 1484; una isoleucina de la posición 1485; una asparagina de la posición 1630; una serina de la posición 1631; una metionina de la posición 1632; una treonina de la posición 1636; una alanina de la posición 1660; una fenilalanina de la posición 1667; una treonina de la posición 1707; y/o una alanina de la posición 1709. También se proporciona los polinucleótidos que codifican estos polipéptidos.

Son adecuados para usar en la invención los polipéptidos purificados, aislados o recombinantes que comprenden una secuencia de aminoácidos que tiene por lo menos 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98 o 99% de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de la SEC ID No 5 o un fragmento del mismo.

Las proteínas de Canlon con preferencia se aíslan de muestras de tejido humanas o de mamífero o se expresan a partir de genes humanos o de mamíferos. Los polipéptidos de Canlon adecuados para usar en la invención se pueden

realizar mediante métodos de expresión de rutina conocidos en la técnica. El polinucleótido que codifica el polipéptido deseado, se liga en un vector de expresión adecuado para cualquier huésped conveniente. Tanto los sistemas hospedantes eucariotas como procariotas se usan para formar polipéptidos recombinantes y un resumen de algunos de los sistemas más comunes. El polipéptido luego se aísla de las células lisadas o del medio de cultivo y se purifica hasta el punto que se necesita para el uso al que está destinado. La purificación es por cualquiera de los métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, extracción diferencial, fraccionamiento con sales, cromatografía, centrifugación y similares. Ver, por ejemplo, Métodos de Enzimología por una variedad de métodos para purificar proteínas.

Además, los fragmentos de proteínas más cortos se producen por síntesis química. Alternativamente las proteínas de la invención se extraen de las células o tejidos de seres humanos o animales no humanos. Los métodos para purificar proteínas son conocidos en la técnica e incluyen el uso de detergentes o agentes caotrópicos para alterar partículas seguidas por extracción diferencial y separación de los polipéptidos por cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de afinidad, sedimentación de acuerdo con la densidad y electroforesis en gel.

Cualquier ADNc de CanIon, que incluyen la SEC ID No 4, se puede usar para expresar proteínas y polipéptidos de CanIon. El ácido nucleico que codifica la proteína o polipéptido de CanIon expresada está operativamente unido a un promotor en un vector de expresión empleando tecnología de clonación convencional. El inserto de CanIon en el vector de expresión puede comprender la secuencia codificadora completa para la proteína de CanIon o una porción de la misma.

El vector de expresión es alguno de los sistemas de expresión de los mamíferos, levaduras, insecto o bacteria conocidos en la técnica. Los vectores y sistemas de expresión que se comercializan están disponibles de una variedad de proveedores que incluyen Genetics Institute (Cambridge, MA), Stratagene (La Jolla, California), Promega (Madison, Wisconsin), e Invitrogen (San Diego, California). Si se deseara, para aumentar la expresión y facilitar el plegado apropiado de la proteína, el contexto del codón y el apareamiento codónico de la secuencia se optimiza para el organismo de expresión particular en el cual se introduce el vector de expresión, como se explica en Hatfield, *et al.*, Patente Estadounidense No. 5.082.767.

En una realización, la secuencia codificadora completa del ADNc de CanIon a través de la señal poliA del ADNc está operativamente unida a un promotor del vector de expresión. Alternativamente, si el ácido nucleico que codifica una porción de la proteína de CanIon carece de una metionina para actuar como sitio de iniciación, se puede introducir una metionina iniciadora próxima al primer codón del ácido nucleico mediante técnicas convencionales. De forma similar, si el inserto del ADNc de CanIon carece de una señal poliA, se puede agregar esta secuencia a la construcción, por ejemplo, por empalme de la señal poliA de pSG5 (Stratagene) mediante enzimas de restricción de las endonucleasas *EgII* y *SaII* e incorporación de este en el vector de expresión de mamífero pXT1 (Stratagene). El pXT1 contiene los LTR y una porción de 1 gen gag del virus de leucemia murina Moloney. La posición de los LTR de la construcción permite una eficiente transfección. El vector incluye el promotor timidina quinasa de herpes simplex y el gen seleccionable de neomicina. El ácido nucleico que codifica una proteína de CanIon o una porción de la misma se obtiene por PCR de un vector bacteriano que contiene el ADNc de CanIon de la SEC ID No 5 mediante cebadores de oligonucleótidos complementarios al ADNc de CanIon o una porción de la misma y que contiene secuencias de endonucleasas de restricción para *PstI* incorporado en el cebador 5' y *BglII* en el extremo 5' del correspondiente cebador 3' de ADNc, teniendo cuidado para asegurar que la secuencia que codifica la proteína de CanIon o una porción de la misma se ubica correctamente con respecto a la señal de poliA. El fragmento purificado obtenido de la reacción de PCR resultante se digiere con *PstI*, se corta en forma roma con una exonucleasa, se digiere con *BglII*, purifica y liga a pXTI, que ahora contiene una señal de poliA y se digiere con *BglII*.

El producto ligado se puede transfectar en células de ratón NIH 3T3 mediante Lipofectin (Life Technologies, Inc., Grand Island, New York) en las condiciones descritas en la especificación del producto. Los transfectantes positivos se seleccionan después del crecimiento de las células transfectadas en 600 μ g/ml de G418 (Sigma, St. Louis, Missouri).

Los procedimientos anteriores también se pueden usar para expresar una proteína de CanIon mutante responsable de un fenotipo detectable o una porción del mismo.

La proteína expresada se puede purificar mediante técnicas de purificación convencional tales como precipitación con sulfato de amonio o separación cromatográfica basado en el tamaño o carga. La proteína codificada por el inserto de ácido nucleico también se puede purificar mediante técnicas inmunocromatográficas. En tales procedimientos, una solución que contiene la proteína de CanIon expresada o una porción de la misma, tal como un extracto celular, se aplica a una columna que tiene anticuerpos contra la proteína de CanIon o una porción de la misma se une al matriz de cromatografía. La proteína expresada se deja unir a la columna de inmunocromatografía. A partir de entonces, la columna se lava para eliminar las proteínas unidas en forma no específica. La proteína expresada unida en forma específica se libera luego de la columna y se recupera mediante técnicas estándares.

Para confirmar la expresión de la proteína de CanIon o una porción de la misma, las proteínas expresadas provenientes de células hospedantes que contienen un vector de expresión que contiene un inserto que codifica la proteína de CanIon o una porción de la misma se puede comparar con las proteínas expresadas en las células hospedantes que contienen el vector de expresión sin un inserto. La presencia de una calle en las muestras de células que contienen el vector de expresión con un inserto que está ausente en las muestras de células que contienen el vector de expresión sin un inserto indica que la proteína de CanIon o una porción de la misma se está expresando. Generalmente, la calle pre-

sentará la movilidad esperada para la proteína de CanIon o porción de la misma. Sin embargo, la calle puede presentar una movilidad diferente que la esperada como resultado de modificaciones tales como glicosilación, ubiquitinación o escisión enzimática.

- 5 Los anticuerpos que pueden reconocer específicamente a la proteína de CanIon expresada o una porción de la misma se describen a continuación.

Si no es posible la producción de anticuerpos, los ácidos nucleicos que codifican la proteína de CanIon o una porción de la misma se incorporan en vectores de expresión diseñados para usar en esquemas de purificación que emplean polipéptidos quiméricos. En tales estrategias el ácido nucleico que codifica la proteína de CanIon o una porción de la misma se inserta en marco con el gen que codifica la otra mitad de la quimera. La otra mitad de la quimera es β -globina o un polipéptido que se une al níquel que codifica la secuencia. Una matriz de cromatografía que tiene un anticuerpo β -globina o unido a níquel del mismo luego se usa para purificar la proteína quimérica. Los sitios de escisión de la proteasa se manipulan genéticamente entre el gen de β -globina o el polipéptido unido al níquel y la proteína de CanIon o una porción de la misma. De este modo, los dos polipéptidos de la quimera se separan entre sí por digestión con proteasas.

Un vector de expresión útil para generar proteínas quiméricas de β -globina es pSG5 (Stratagene), que codifica la β -globina de conejo. El intrón II del gen de β -globina de conejo facilita el empalme del transcripto expresado, y la señal de poliadenilación incorporada en la construcción aumenta el nivel de expresión. Estas técnicas son bien conocidas por los expertos en la técnica de la biología molecular. Los métodos estándares se publican en textos de métodos tales como Davis *et al.* (1986) y muchos de los métodos están disponibles en Stratagene, Life Technologies, Inc., o Promega. El polipéptido se puede producir adicionalmente a partir de la construcción mediante sistemas de traducción *in vitro* tales como el kit de traducción *in vitro* ExpressTM (Stratagene).

25 *Anticuerpos que se unen a los polipéptidos de CanIon de la invención*

Se puede usar cualquier polipéptido de CanIon o la proteína completa para generar anticuerpos que se pueden unir específicamente a una proteína de CanIon expresada o fragmentos de la misma como fue descrito.

30 Una composición de anticuerpo adecuada para usar en la invención es capaz de unirse específicamente o selectivamente a la variante de la proteína de CanIon de la SEC ID No 5. Para una composición de anticuerpo que se puede unir específicamente a una primer variante de CanIon, se debe demostrar que por lo menos un 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 50%, o 100% mas de afinidad de unión para una primer variante de longitud completa de la proteína de CanIon que para una segunda variante de longitud completa de la proteína de CanIon en un ensayo de unión ELISA, RIA, y otro basado en anticuerpo. En una realización preferida una composición de anticuerpo es capaz de unirse específicamente a una proteína de CanIon humana.

En una realización preferida, son adecuadas para usar en la invención las composiciones de anticuerpo, tanto policlona como monoclonal, capaces de unirse selectivamente o unirse selectivamente a un polipéptido que contiene un epítipo que comprende un espacio contiguo de por lo menos 6 aminoácidos, con preferencia por lo menos 8 a 10 aminoácidos, con más preferencia por lo menos 12, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 700 o 1000 aminoácidos de la SEC ID No 5. En realizaciones preferidas, dicho espacio contiguo incluye por lo menos 1, 2, 3, 5 o 10 de las posiciones de los aminoácidos 277, 338, 574, 678, 680, 683, 691, 692, 695, 696, 697, 894, 1480, 1481, 1483, 1484, 1485, 1630, 1631, 1632, 1636, 1660, 1667, 1707, 1709 de la SEC ID No 5.

Se puede usar cualquier polipéptido de CanIon o la proteína completa para generar anticuerpos que se pueden unir específicamente a una proteína de CanIon expresada o fragmentos de la misma tal como se describió.

50 Un epítipo puede comprender solo 3 aminoácidos en una conformación espacial, que es única para el epítipo. Generalmente, un epítipo consiste en por lo menos 6 de tales aminoácidos, y con más frecuencia de por lo menos 8-10 de tales aminoácidos. En una realización preferida, los epítipos antigénicos comprenden un número de aminoácidos que es un número entero entre 3 y 50. Los fragmentos que funcionan como epítipos se pueden producir por medios convencionales. Los epítipos se pueden determinar por un análisis antigénico de Jameson-Wolf, por ejemplo, realizado mediante un programa de computación PROTEAN, que emplea parámetros en defecto (Versión 4.0 Windows, ADN STAR, Inc., 1228 South Park Street Madison, WI).

Es adecuado para usar en la invención un anticuerpo purificado o aislado capaz de unirse específicamente a una proteína de CanIon mutada o un fragmento o variante de la misma que comprende un epítipo de una proteína de CanIon mutada. En otra realización preferida, la presente invención trata de un anticuerpo capaz de unirse a un polipéptido que comprende por lo menos 10 aminoácidos consecutivos de una proteína de CanIon e incluye por lo menos uno de los aminoácidos que pueden codificar por las mutaciones que causa el rasgo.

Los animales no humanos y mamíferos, ya sean de tipo salvaje o transgénico, que expresen una especie diferente de CanIon de la cual para la que se desea la unión al anticuerpo y los animales que no expresan CanIon (es decir un animal que carece del gen de CanIon como se describe en la presente memoria) son particularmente útiles para preparar anticuerpos. Los animales carentes de CanIon reconocerán el total o la mayor parte de las regiones expuestas de una proteína de CanIon como antígenos extraños y en consecuencia, producirán anticuerpos con una matriz más

amplia de epítopes de CanIon. Además, los polipéptidos más pequeños con sólo 10 a 30 aminoácidos pueden ser útiles para obtener una unión específica a cualquiera de las proteínas de CanIon. Además, el sistema inmune humoral de los animales que producen una especie de CanIon que se parece a la secuencia antigénica reconocerán con preferencia las diferencias entre las especies de CanIon nativas de los animales y la secuencia del antígeno, y producen los anticuerpos para estos sitios únicos de la secuencia antigénica. Tal técnica será particularmente útil para obtener anticuerpos que se unen específicamente a cualquiera de las proteínas de CanIon.

Las preparaciones de anticuerpos preparadas de acuerdo con el protocolo son útiles para los inmunoensayos cuantitativos que determinan concentraciones de las sustancias que portan antígenos en muestras biológicas; estas también se usan en forma semi-cuantitativa o cualitativa para identificar la presencia de antígeno en la muestra biológica. Los anticuerpos se pueden usar también en composiciones terapéuticas para destruir células que expresan la proteína o reducir los niveles de la proteína en el cuerpo.

Los anticuerpos adecuados para usar en la invención pueden estar marcados con cualquiera de las marcas radioactivas, fluorescentes o enzimáticas conocidas en la técnica.

Por consiguiente, es adecuado para usar en la invención un método para detectar específicamente la presencia de un polipéptido de CanIon de acuerdo con la invención en una muestra biológica, dicho método comprende los siguientes pasos:

a) poner en contacto la muestra biológica con un anticuerpo policlonal o monoclonal que se une específicamente a un polipéptido de CanIon que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEC ID No 5, o un fragmento del péptido o una variante del mismo; y

b) detectar el complejo anticuerpo-antígeno formado.

La invención también trata de un kit diagnóstico para detectar la presencia *in vitro* de un polipéptido canal iónico en una muestra biológica, donde dicho kit comprende:

a) un anticuerpo policlonal o monoclonal que se une específicamente a un polipéptido canal iónico que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEC ID No 5, o a un fragmento del péptido o una variante del mismo, opcionalmente marcado;

b) un reactivo que permite la detección de los complejos antígeno-anticuerpo formados, dicho reactivo que porta opcionalmente una marca, o es capaz de ser reconocido por un reactivo marcado, más particularmente en el caso en que el anticuerpo monoclonal o policlonal mencionado anteriormente no está marcado por sí mismo.

Son adecuados para usar en la invención los anticuerpos y receptores de los antígenos de células T (TCR), que se que se unen específicamente a los polipéptidos, y más específicamente, a los epítopes de los polipéptidos de la presente invención, que incluyen, pero sin limitación, IgG (que incluyen IgG1, IgG2, IgG3 y IgG4), IgA (que incluyen IgA1 y IgA2), IgD, IgE, o IgM e IgY. En una realización preferida los anticuerpos son fragmentos de anticuerpos de unión al antígeno humano de la presente invención que incluyen, pero sin limitación, Fab, Fab' F(ab)2 y F(ab)2, Fd, Fvs de (scFv) cadena simple, anticuerpos de cadena simple, Fvs unidos a puentes disulfuro (sdFv) y fragmentos que comprenden tanto al dominio V_L como al V_H. Los anticuerpos pueden ser de origen animal que incluyen a aves y mamíferos. Con preferencia, los anticuerpos son humanos, murinos, conejo, cabra, cobayo, camello, caballo o pollo.

Los fragmentos del anticuerpo de unión al antígeno, que incluyen anticuerpos de cadena simple, pueden comprender las regiones(s) variables solas o en combinación con el total o parte de los siguientes: región bisagra, dominios CH1, CH2 y CH3. También se incluyen en la invención cualquiera de las combinaciones de regione(s) variables y la región bisagra, dominios CH1, CH2, y CH3. La presente invención incluye adicionalmente el uso de anticuerpos monoclonales y policlonales quiméricos, humanizados y humanos, que se unen específicamente los polipéptidos de la presente invención. Son adecuados para usar en la invención los anticuerpos que son anticuerpos anti-idiotípicos descritos en la presente memoria.

Los anticuerpos adecuados para el uso en la presente invención pueden ser monoespecíficos, biespecíficos, triespecíficos o presentan mayor multiespecificidad. Los anticuerpos multiespecíficos pueden ser específicos para epítopes diferentes de un polipéptido de la presente invención o pueden ser específicos para un polipéptido de la presente invención además de las composiciones heterólogas, tales como un polipéptido heterólogo o material de soporte sólido. Ver, por ej, WO 93/17715; WO 92/08802; WO 91/00360; WO 92/105793; Tuff, *et al.* (1991) J. Immunol. 147:60-69; Patentes Estadounidenses Nos. 5.573.920, 4.474.893, 5.601.819, 4.714.681, 4.925.648; Kostelny, *et al.* (1992) J. Immunol. 148:1547-1553.

Los anticuerpos adecuados para el uso en la presente invención se pueden describir o especificar en términos de los epítope(s) o porción(es) que portan epítopes de un polipéptido de la presente invención, que son reconocidos o específicamente unidos por el anticuerpo. En el caso de las proteínas de la presente invención proteínas secretadas, los anticuerpos se pueden unir específicamente a una proteína de longitud completa codificada por un ácido nucleico de la presente invención, una proteína madura (es decir, la proteína generada por escisión del péptido señal) codificado por un ácido nucleico de la presente invención, un péptido señal codificado por un ácido nucleico de la presente invención

o otro polipéptido de la presente invención. En consecuencia, los epítoto(s) o porción(es) de polipéptidos que portan epítotoes pueden estar especificados como se describe en la presente memoria, por ej., posiciones N-terminal y C-terminal, por tamaño de los residuos de aminoácidos contiguos o descriptos en otra parte de la presente memoria (que incluyen el listado de secuencias). Los anticuerpos que se unen específicamente a cualquier epítoto o polipéptido de la presente invención también pueden ser excluidos como especies individuales. Por consiguiente, la presente invención incluye anticuerpos que se unen específicamente a polipéptidos específicos de la presente invención y permite la exclusión del mismo.

Los anticuerpos adecuados para el uso en la presente invención también se pueden describir o especificar en términos de su reactividad cruzada. Los anticuerpos que no se unen específicamente a algún otro análogo, ortólogo u homólogo de los polipéptidos de la presente invención están incluidos. Los anticuerpos que no se unen a los polipéptidos con menos de 95%, menos de 90%, menos de 55%, menos de 80%, menos de 75%, menos de 70%, menos de 65%, menos de 60%, menos de 55%, y menos de 50% de identidad (tal como se calcula con los métodos conocidos en la técnica y se describen en la presente memoria) con el polipéptido de la presente invención también están incluidos en la presente invención. También son adecuados para el uso en la presente invención los anticuerpos que sólo se unen a polipéptidos codificados por polinucleótidos que hibridizan a un polinucleótido de la presente invención en condiciones de hibridación rigurosas (como se describe en la presente memoria). Los anticuerpos adecuados para el uso en la presente invención también se pueden describir o especificar en términos de su afinidad de unión. Las afinidades de unión preferidas incluyen a aquellas con constantes de disociación o K_d de menos de $5 \times 10^{-6}M$, $10^{-6}M$, $5 \times 10^{-7}M$, $10^{-7}M$, $5 \times 10^{-8}M$, $10^{-8}M$, $5 \times 10^{-9}M$, $10^{-9}M$, $5 \times 10^{-10}M$, $10^{-10}M$, $5 \times 10^{-11}M$, $10^{-11}M$, $5 \times 10^{-12}M$, $10^{-12}M$, $5 \times 10^{-13}M$, $10^{-13}M$, $5 \times 10^{-14}M$, $10^{-14}M$, $5 \times 10^{-15}M$ y $10^{-15}M$.

Los anticuerpos adecuados para el uso en la presente invención tienen usos que incluyen, pero sin limitaciones a, métodos conocidos en la técnica para purificar, detectar y seleccionar los polipéptidos de la presente invención que incluyen métodos diagnósticos y terapéuticos *in vitro* e *in vivo*. Por ejemplo, los anticuerpos tienen uso en inmunoensayos para medir en forma cualitativa o cuantitativa los niveles de los polipéptidos de la presente invención en muestras biológicas. Ver, por ej., Harlow *et al.*, ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988).

Los anticuerpos adecuados para el uso en la presente invención se pueden usar solos o en combinación con otras composiciones. Los anticuerpos se pueden fusionar en forma recombinante a un polipéptido heterólogo en el extremo N- o C-terminal o conjugarse químicamente (que incluye las conjugaciones covalentes y no covalentes) a los polipéptidos u otras composiciones. Por ejemplo, los anticuerpos adecuados para el uso en la presente invención se pueden fusionar en forma recombinante o conjugar con las moléculas útiles como marcadores en los ensayos de detección y moléculas efectoras tales como polipéptidos heterólogos, fármacos o toxinas. Ver, por ej., WO 92/08495; WO 91/14438; WO 89/12624; Patente Estadounidense 5.314.995; y EP 0396 387.

Los anticuerpos adecuados para el uso en la presente invención se pueden preparar por cualquiera de los métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, un polipéptido de la presente invención o un fragmento antigénico del mismo se puede administrar a un animal para inducir la producción de un suero que contiene anticuerpos policlonales. El término "anticuerpo monoclonal" no se limita a anticuerpos producidos por la tecnología del hibridoma. El término "anticuerpo" se refiere a un polipéptido o un grupo de polipéptidos que comprenden por lo menos un dominio de unión, donde se forma un dominio de unión a partir del plegado de los dominios variables de una molécula de anticuerpo para formar espacios de unión tridimensionales con una forma de superficie interna y distribución de carga complementaria a los rasgos de un determinante de un antígeno, que permite una reacción inmunológica con el antígeno. El término "anticuerpo monoclonal" se refiere a un anticuerpo que se deriva de un clon único, que incluye un clon eucariota, procariota o fago y no el método por el cual se produce. Los anticuerpos monoclonales se pueden preparar mediante una amplia variedad de métodos conocidos en la técnica que incluyen el uso de la tecnología del hibridoma, recombinante, y el despliegue en fagos.

Las técnicas del hibridoma incluyen a las conocidas en la técnica (ver, por ej., Harlow *et al.* (1998); Hammerling, *et al.* (1981). Los fragmentos Fab y F(ab')₂ se pueden producir, por ejemplo, a partir de anticuerpos producidos en el hibridoma por escisión proteolítica empujando enzimas tales como papaína (para producir fragmentos de Fab) o pepsina (para producir fragmentos de F(ab')₂).

Alternativamente, los anticuerpos adecuados para el uso en la presente invención se pueden producir mediante la aplicación de tecnología de ADN recombinante o mediante la síntesis química usando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los anticuerpos adecuados para el uso en la presente invención se pueden preparar mediante diversos métodos de despliegue de fagos conocidos en la técnica. En los métodos de despliegue de fagos, los dominios funcionales de los anticuerpos se despliegan en la superficie de una partícula de fago, que lleva secuencias de polinucleótido que los codifican. Se seleccionan fagos con una propiedad de unión deseada a partir de un repertorio o genoteca combinatoria de anticuerpos (por ej. humano o murino) por medio de la selección en forma directa con el antígeno, típicamente antígeno unido o capturado en una superficie o microesfera sólida. Los fagos que se usan en estos métodos son típicamente fagos filamentosos que incluyen los dominios de anticuerpo fd y M13 con Fab, Fv o Fv estabilizado con puente disulfuro fusionado en forma recombinante al gen III del fago o a la proteína del gen VIII. Los ejemplos de métodos de despliegue de fagos que se pueden usar para preparar anticuerpos de la presente invención incluyen a los descriptos en Brinkman, *et al.* (1995); Ames, *et al.* (1995); Kettleborough, *et al.* (1994); Persic, *et al.* (1997); Burton, *et al.* (1994); PCT/GB91/01134; WO 90/02809; WO 91/10737; WO 92/01047; WO 92/118619;

WO 93/11236; WO 95/15982; WO 95/20401; y las Patentes Estadounidenses Nos. 5.698.426, 5.223.409, 5.403.484; 5.580.717, 5.427.908, 5.750.753, 5.821.047, 5.571.698, 5.427.908, 5.516.637, 5.780.225, 5.658.727 y 5.733.743.

Como se describió en las referencias anteriores, después de la selección del fago, las regiones codificadoras del anticuerpo del fago se pueden aislar y usar para generar anticuerpos totales, que incluyen anticuerpos humanos o cualquier otro fragmento de unión al antígeno deseado y expresado en cualquier huésped deseado que incluyen células mamíferas, células de insectos, células de plantas, levaduras y bacterias. Por ejemplo, las técnicas para producir en forma recombinante los fragmentos Fab, Fab' F(ab')₂ y F(ab')₂ se puede emplear también mediante métodos conocidos en la técnica tales como los descritos en WO 92/22324; Mullinax, *et al.* (1992); y Sawai, *et al.* (1995); y Better, *et al.* (1988).

Los ejemplos de las técnicas que se pueden usar para producir los anticuerpos y Fv de cadena simple incluyen a los que se describen en las Patentes Estadounidenses 4.946.778 y 5.258.498; Huston *et al.* (1991); Shu, *et al.* (1993); y Skerra, *et al.* (1988). Para algunos usos, que incluyen el uso de anticuerpos *in vivo* en seres humanos y en ensayos de detección *in vitro*, puede ser preferible usar anticuerpos quiméricos, humanizados o humanos. Los métodos para producir anticuerpos quiméricos son conocidos en la técnica. Ver por ej., Morrison (1985); Oi *et al.*, (1986); Gillies, S.D. *et al.* (1989); y la Patente Estadounidense 5.807.715. Los anticuerpos pueden ser humanizados mediante una variedad de técnicas que incluyen trasplante de CDR (EP 0 239 400; WO 91/09967; Patente Estadounidense 5.530.101; y 5.585.089), revestimiento o reconstrucción superficial (en el original en inglés, resurfacing) (EP 0 592106; EP 0 519 596; Padlan E.A., (1991); Studnicka G.M. *et al.* (1994); Roguska M.A. *et al.* (1994), y transposición de cadenas (Patente Estadounidense 5.565.332). Los anticuerpos humanos se pueden preparar mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica que incluyen el despliegue de fagos descrito anteriormente. Ver también, Patentes Estadounidenses 4.444.887, 4.716.111, 5.545.806, y 5.814.318; WO 98/46645; WO 98/50433; WO 98/24893; WO 96/34096; WO 96/33735; y WO 91/10741.

También son adecuados para el uso en la presente invención los anticuerpos fusionados en forma recombinante o conjugado químicamente (que incluyen tanto las conjugaciones covalentes como no covalentes) a un polipéptido de la presente invención. Los anticuerpos pueden ser específicos para los antígenos diferentes de los polipéptidos de la presente invención. Por ejemplo, los anticuerpos se pueden usar para seleccionar los polipéptidos de la presente invención para los tipos celulares particulares, tanto *in vitro* como *in vivo*, por fusión o conjugación de los polipéptidos de la presente invención con anticuerpos específicos para los receptores de la superficie celular particular. Los anticuerpos fusionados o conjugados a los polipéptidos de la presente invención se pueden usar también en inmunoensayos *in vitro* y métodos de purificación que usan métodos conocidos en la técnica. Ver por ej., Harbor *et al. supra* y WO 93/21232; EP 0 439 095; Naramura, M. *et al.* (1994); Patente Estadounidense 5.474.981; Gillies, S.O. *et al.* (1992); Fell, H.P. *et al.* (1991).

También son adecuadas para usar en la invención las composiciones que comprenden los polipéptidos de la presente invención fusionados o conjugados a los dominios del anticuerpo diferentes de las regiones variables. Por ejemplo, los polipéptidos adecuados para el uso en la presente invención se pueden fusionar o conjugar a una región Fc del anticuerpo o porción del mismo. La porción del anticuerpo fusionado a un polipéptido adecuado para el uso en la presente invención puede comprender la región bisagra, dominio CH1, dominio CH2 y dominio CH3 o cualquier combinación de todos los dominios o porciones del mismo. Los polipéptidos adecuados para el uso en la presente invención se pueden fusionar o conjugar a las porciones anteriormente mencionadas para aumentar la vida media *in vivo* de los polipéptidos para usar en inmunoensayos mediante métodos conocidos en la técnica. Los polipéptidos también se pueden fusionar o conjugar a las porciones de anticuerpos anteriores para formar multímeros. Por ejemplo, las porciones de Fc fusionadas a los polipéptidos de la presente invención pueden formar dímeros a través de puentes disulfuro entre las porciones Fc. Las formas multiméricas superiores se pueden preparar por fusión de los polipéptidos a las porciones de IgA e IgM. Los métodos para fusionar o conjugar los polipéptidos de la presente invención a las porciones de anticuerpo son conocidos en la técnica. Ver por ej., Patentes Estadounidenses 5.336.603, 5.622.929, 5.359.046, 5.349.053, 5.447.851, 5.112.946; EP 0307434, EP 0367166; WO96/04388, WO 91/06570; Ashkenazi, A. *et al.* (1991); Zheng, X.X. *et al.* (1995); y Vil, H. *et al.* (1992). Los anticuerpos que actúan como agonistas o antagonistas de los polipéptidos descritos en la presente memoria son adecuados para usar en la presente invención.

Por ejemplo, son adecuados para usar en la invención los anticuerpos que alteran las interacciones receptor/ligando con los polipéptidos descritos en la presente memoria tanto en forma parcial o completa. Se incluyen los anticuerpos tanto específicos de receptor como específicos de ligandos. Se incluyen los anticuerpos específicos de receptores, que no impiden la unión al ligando pero impiden la activación del receptor. La activación del receptor (es decir, señalización) se puede determinar por técnicas descritas en la presente memoria o por lo demás conocidas en la técnica. También se incluyen los anticuerpos específicos de receptores que impiden la unión al ligando y la activación del receptor. Asimismo, se incluyen los anticuerpos neutralizantes que se unen al ligando e impiden la unión del ligando al receptor, además de los anticuerpos que se unen al ligando, de este modo se impide la activación del receptor, pero no impide que el ligando se una al receptor. Además se incluye a los anticuerpos que activan el receptor. Estos anticuerpos pueden actuar como agonistas para el total o menos de todas las actividades biológicas afectadas por la activación del receptor mediado por el ligando. Los anticuerpos pueden ser especificados como agonistas o antagonistas para las actividades biológicas que comprenden actividades específicas descritas en la presente memoria. Los agonistas de los anticuerpos anteriores se pueden preparar por métodos conocidos en la técnica. Ver por ej., WO 96/40281; Patente Estadounidense 5.811.097; Deng, B. *et al.* (1998); Chen, Z. *et al.* (1998); Harrop, J.A. *et al.* (1998);

Zhu, Z. *et al.* (1998); Yoon, D.Y. *et al.* (1998); Prat, M. *et al.* (1998); Pltard, V. *et al.* (1997); Llautard, J. *et al.* (1997); Carlson, NO. *et al.* (1997); Taryman, R.E. *et al.* (1995); Muller, Y.A. *et al.* (1998); Bartunek, P. *et al.* (1996).

Como se describió anteriormente, los anticuerpos de los polipéptidos adecuados para usar en la invención pueden, a su vez utilizarse para generar anticuerpos anti-idiotípicos que “simulan” a los polipéptidos adecuados para usar en la invención empleando técnicas bien conocidas por los expertos en la técnica. Ver, por ej. Greenspan and Bona, (1989); Nissinoff, (1991). Por ejemplo, los anticuerpos que se unen e inhiben competitivamente la multimerización del polipéptido o la unión de un polipéptido de la invención al ligando se pueden usar para genera anti-idiotípicos que “simulan” multimerización del polipéptido o la unión al dominio y como consecuencia, se unen y neutralizan al polipéptido o su ligando. Tales anticuerpos anti-idiotípicos de neutralización se pueden usar para unirse al polipéptido de la invención o se unen a sus ligandos/receptores, y de este modo, bloquean su actividad biológica.

Marcadores bialélicos relacionados con CanIon

Ventajas de los marcadores bialélicos de la presente invención

Los marcadores bialélicos relacionados con CanIon adecuados para el uso en la presente invención ofrecen varias ventajas importantes sobre otros marcadores genéticos tales como los marcadores de RFLP (Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción) y VNTR (número variable de repeticiones en tándem).

La primera generación de marcadores, fueron los RFLP, que son variaciones que modifican la longitud de un fragmento de restricción. Pero los métodos usados para identificar y tipificar a los RFLP son relativamente costosos de materiales, esfuerzos y tiempo. La segunda generación de marcadores genéticos fueron los VNTR, que se pueden clasificar como minisatélites o microsatélites. Los minisatélites son secuencias de ADN repetidas en tandem presentes en unidades de 5-50 repeticiones que se distribuyen a lo largo de las regiones de los cromosomas humanos que varían de 0,1 a 20 kilobases de longitud. Debido a que ellos presentan muchos alelos posibles, su contenido informativo es muy alto. Los minisatélites se clasifican por a realización de transferencias Southern para identificar el número de repeticiones en tándem presentes en una muestra de ácido nucleico del individuo que se esta ensayando. Sin embargo, hay solo 10^4 VNTR potenciales que se pueden tipificar por transferencias Southern. Además, los marcadores RFLP y VNTR son costosos y requieren mucho tiempo para el desarrollo y ensayo de en grandes cantidades.

El polimorfismo de nucleótido único o los marcadores bialélicos se pueden usar de la misma manera que los RFLP y VNTR pero ofrecen varias ventajas. Los SNP están espaciados densamente en el genoma humano y representan el tipo más frecuente de variación. Un número estimado de más de 10^7 sitios se esparcen a lo largo de los 3×10^9 pares de bases del genoma humano. En consecuencia, el SNP se produce a mayor frecuencia y con mayor uniformidad que los marcadores RFLP o VNTR, lo que significa que existe una mayor probabilidad de que tal marcador se hallará en proximidad íntima con el locus genético de interés. Los SNP son menos variables que los marcadores VNTR pero son más estables desde el punto de vistas de las mutaciones.

También, las diferentes formas de polimorfismo de nucleótido único caracterizado, tal como los marcadores bialélicos de la presente invención, con frecuencia son más fáciles de distinguir y pueden en consecuencia tipificarse fácilmente en forma rutinaria. Los marcadores bialélicos presentan alelos basados en un nucleótido único y tienen solo dos alelos comunes, que permiten la detección altamente paralela y la clasificación automatizada. Los marcadores bialélicos adecuados para el uso en la presente invención brindan la posibilidad de la genotipificación rápida de alto rendimiento de un gran número de individuos.

Los marcadores bialélicos están densamente espaciados en el genoma, son suficientemente informativos y se pueden ensayar en grandes cantidades. Los efectos combinados de estas ventajas producen marcadores bialélicos extremadamente valiosos para los estudios genéticos. Los marcadores bialélicos se pueden usar en estudios de ligación familiar, e métodos de alelos compartidos, estudios de desequilibrio de conexión en poblaciones, en estudios de asociación de poblaciones de casos y controles o poblaciones de rasgos positivos y rasgos negativos. Un aspecto importante de la presente invención es que los marcadores bialélicos permiten los estudios de asociación realizados para identificar genes involucradas en rasgos de complejos. Los estudios de asociación examinan la frecuencia de los marcadores alélicos en poblaciones de casos no relacionados y controles y se emplean generalmente para la detección de rasgos poligénicos o esporádicos. Los estudios de asociación se pueden realizar en la población general y no están limitados a estudios realizados en individuos relacionados en familias afectadas (estudios de ligación). Los marcadores bialélicos de diferentes genes se pueden detectar en paralelo para asociación directa con la enfermedad o respuesta a un tratamiento. Este método de gen múltiple es una poderosa herramienta para una variedad de estudios genéticos humanos ya que este proporciona la fuerza estadística necesaria para examinar el efecto sinérgico de los múltiples factores genéticos múltiple sobre un fenotipo particular, respuesta a los fármacos, rasgo esporádico o estado de enfermedad con una etiología genética compleja.

Gen candidato de la presente invención

Se pueden emplear diferentes métodos para realizar estudios de asociación: estudios de asociación de genoma amplio, estudios de asociación de región candidata y estudios de asociación de gen candidato. Los estudios de asociación del genoma amplio dependen de la detección de los marcadores genéticos uniformemente espaciados y que cubren el genoma completo. El método del gen candidato se basa en el estudio de los marcadores genéticos localizados es-

pecíficamente en los genes potencialmente involucrados en una vía biológica relacionada con el rasgo de interés. En la presente invención, el CanIon es el gen candidato. El análisis del gen candidato proporciona claramente un enfoque de rápida realización para la identificación de genes y polimorfismos del gen relacionado con un rasgo particular cuando alguna información acerca de biología del rasgo está disponible. Sin embargo se debe advertir que todos los marcadores bialélicos descritos en la presente solicitud se pueden emplear como parte de los estudios de asociación de genoma amplio o como parte de los estudios de asociación de la región candidata y tales usos están específicamente contemplados en la presente invención y las reivindicaciones.

Marcadores bialélicos relacionados con CanIon y polinucleótidos relacionados con los mismos

Son adecuados para usar en la invención los marcadores bialélicos relacionados con CanIon. Como se usa en la presente memoria el término “marcador bialélico relacionado con CanIon” se relaciona con un conjunto de marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el gen de CanIon. El término marcador bialélico relacionado con CanIon incluye los marcadores bialélicos designados A1 a A17.

Una porción de los marcadores bialélicos adecuados para el uso en la presente invención se describen en la Tabla 2. Estos también se describen como un polimorfismo de base única de los rasgos relacionados con las SEC ID Nos 1 a 4 y 6. Los pares de cebadores que permiten la amplificación de un ácido nucleico que contiene la base polimórfica de un marcador bialélico CanIon se listan en la Tabla 1 del Ejemplo 2.

Los marcadores bialélicos relacionados con CanIon, A1 a A17, se localizan en la secuencia genómica de CanIon. Los marcadores bialélicos A12 y A16 se localizan en los exones CanIon. El marcador bialélico A18 es el que flanquea el gen de CanIon.

Es adecuada para usar en la invención una secuencia de nucleótidos purificada y/o aislada que comprende una base polimórfica de un marcador bialélico relacionado con CanIon. En realizaciones preferidas, el marcador bialélico se selecciona del grupo que consiste en A1 a A18, y los complementos del mismo. La secuencia presenta entre 8 y 1000 nucleótidos de longitud y con preferencia comprende por lo menos 8, 10, 12, 15, 18, 20, 25, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 100, 250, 500 o 1000 contiguos o nucleótidos de una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID Nos 1 a 4 y 6 o una variante de la misma o una secuencia complementaria de la misma. Estas secuencias de nucleótidos comprenden la base polimórfica del alelo 1 o alelo 2 del marcador bialélico. Opcionalmente, dicho marcador bialélico puede estar dentro tener de 6, 5, 4, 3, 2, o 1 nucleótidos del centro de dicho polinucleótido o en el centro de dicho polinucleótido. Opcionalmente, el extremo 3' de dicho espacio contiguo puede estar presente en el extremo 3' de dicho polinucleótido. Opcionalmente, el marcador bialélico puede estar presente en el extremo 3' de dicho polinucleótido. Opcionalmente, dicho polinucleótido puede comprender adicionalmente una marca. Opcionalmente, dicho polinucleótido se puede unir a un soporte sólido. En una realización adicional, los polinucleótidos definidos anteriormente se pueden usar solos o en alguna combinación.

Es adecuada para usar en la invención una secuencia de nucleótidos purificada y/o aislada que comprende entre 8 y 1000 nucleótidos contiguos, y/o con preferencia por lo menos 8, 10, 12, 15, 18, 20, 25, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 100, 250, 500 o 1000 nucleótidos contiguos de una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID Nos 1 a 4 o una variante de la misma o una secuencia complementaria de la misma. Opcionalmente, el extremo 3' de dicho polinucleótido puede estar localizado dentro o por lo menos 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 20, 25, 50, 100, 250, 500, o 1000 nucleótidos corriente arriba de un marcador bialélico relacionado con CanIon en dicha secuencia. Opcionalmente, dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A17; Opcionalmente, el extremo 3' de dicho polinucleótido puede estar localizado dentro o por lo menos 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 20, 25, 50, 100, 250, 500, o 1000 nucleótidos corriente arriba de un marcador bialélico relacionado con CanIon en dicha secuencia. Opcionalmente, el extremo 3' de dicho polinucleótido puede estar localizado 1 nucleótido corriente arriba de un marcador bialélico relacionado con CanIon en dicha secuencia. Opcionalmente, dicho polinucleótido puede comprender adicionalmente una marca. Opcionalmente, dicho polinucleótido puede estar unido a un soporte sólido. En una realización adicional, los polinucleótidos definidos anteriormente se puede usar solo o en ninguna combinación.

En una realización preferida, las secuencias que comprenden una base polimórfica de uno de los marcadores bialélicos listados en la Tabla 2 se seleccionan del grupo que consiste en las secuencias de nucleótidos que tiene un espacio contiguo de, que consiste en, que están comprendidos en, o que comprenden de un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en los ácidos nucleicos de las secuencias expuestas como los amplicones listados en la Tabla 1 o una variante de la misma o una secuencia complementaria de la misma.

Es adecuado para usar en la invención un ácido nucleico que codifica la proteína de CanIon, donde dicho ácido nucleico comprende una base polimórfica de un marcador bialélico seleccionado del grupo que consiste en A12 y A16 y los complementos del mismo.

Son adecuados para usar en la invención cualquier polinucleótido para, o cualquier polinucleótido para uso en, la determinación de la identidad de uno o más nucleótidos en un marcador bialélico relacionado con CanIon. Además, los polinucleótidos adecuados para usar en la invención para usar en la determinación de la identidad de uno más nucleótidos en el marcador bialélico relacionado con CanIon abarca polinucleótidos con alguna limitación adicional descrita en esta revelación o los siguientes, especificado solo o en alguna combinación. Opcionalmente, dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A18, y los complementos de los

mismos u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A11 y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A12 y A16, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, dicho polinucleótido puede comprender una secuencia descrita en la presente memoria descriptiva; opcionalmente, dicho polinucleótido puede consistir en o consiste esencialmente en cualquier polinucleótido descrito en la presente memoria descriptiva; opcionalmente, dicha determinación se puede realizar en un ensayo de hibridación, ensayo de secuenciación, ensayo de microsecuenciación o un ensayo de detección de apareamiento erróneo basado en enzimas; opcionalmente, dicho polinucleótido se puede unir a un soporte sólido, matriz o matriz dirigida; opcionalmente, dicho polinucleótido puede estar marcado. Un polinucleótido preferido se puede usar en un ensayo de hibridación para determinar la identidad del nucleótido en un marcador bialélico relacionado con CanIon. Otra polinucleótido preferido se puede usar en un ensayo de secuenciación o microsecuenciación para determinar la identidad del nucleótido en el marcador bialélico relacionado con CanIon. Un tercer polinucleótido preferido se puede usar en un ensayo de detección de apareamiento erróneo basado en enzima para determinar la identidad del nucleótido en el marcador bialélico relacionado con CanIon. Un cuarto polinucleótido preferido se puede usar en la amplificación de un segmento de polinucleótidos que comprende un marcador bialélico relacionado con CanIon. Opcionalmente, cualquiera de los polinucleótidos descritos anteriormente se puede unir a un soporte sólido, matriz o matriz dirigida; opcionalmente, dicho polinucleótido puede estar marcado.

Adicionalmente, es adecuado para usar en la invención cualquier polinucleótido para, o cualquier polinucleótido para uso en, la amplificación del segmento de nucleótidos que comprende un marcador bialélico relacionado con CanIon. Además, los polinucleótidos adecuados para usar en la invención para usar en la la amplificación del segmento de nucleótidos que comprende un marcador bialélico relacionado con CanIon abarca polinucleótidos con alguna limitación adicional descrita en esta revelación, o las siguientes, especificadas solas o en alguna combinación: opcionalmente, dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A18, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A18, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A12 y A16, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, dicho polinucleótido puede comprender una secuencia descrita en la presente memoria descriptiva; opcionalmente, dicho polinucleótido puede consistir en, o consistir esencialmente en algún polinucleótido descrito en la presente memoria descriptiva; opcionalmente, dicha amplificación se puede llevar a cabo por PCR o LCR. Opcionalmente, dicho polinucleótido puede estar unido a un soporte sólido, matriz o matriz dirigida. Opcionalmente, dicho polinucleótido puede estar marcado.

Los cebadores para amplificación o reacción de secuenciación de un polinucleótido que comprende un marcador bialélico adecuado para usar en la invención se pueden diseñar a partir de la secuencias descriptas por cualquier de los métodos conocidos en la técnica. Un conjunto de cebadores preferidos se crea para que el extremo 3' del espacio contiguo de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID Nos 1 a 4 y 6 o una secuencia complementaria de la misma o una variante de la misma está presente en el extremo 3' del cebador. Tal configuración permite que el extremo 3' del cebador se hibridiza a una secuencia de ácido nucleico seleccionada y aumenta en forma espectacular la eficiencia del cebador para las reacciones de amplificación o secuenciación. Los cebadores específicos de alelo se pueden diseñar para que una base polimórfica de un marcador bialélico está en el extremo 3' del espacio contiguo y el espacio contiguo está presente en el extremo 3' del cebador. Tales cebadores específicos de alelo tienden a ceban selectivamente la reacción de amplificación o secuenciación siempre que ellas se usan con una muestra de ácido nucleico que contiene uno de los alelos presentes en un marcador bialélico. El extremo 3' del cebador adecuado para usar en la invención puede estar localizado dentro o por lo menos 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 20, 25, 50, 100, 250, 500, o 1000 nucleótidos corriente arriba de un marcador bialélico relacionado con CanIon en dicha secuencia o en cualquier localización que fuera apropiada para su uso previsto para la secuenciación, amplificación o la localización de nuevas secuencias o marcadores. De este modo, otro conjunto de cebadores amplificadores preferidos comprenden un polinucleótido aislado que consiste esencialmente en un espacio contiguo de 8 a 50 nucleótidos en una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID Nos 1 a 4 y 6 o una secuencia complementaria de la misma o una variante de la misma, donde el extremo 3' de dicho espacio contiguo está localizado en el extremo 3' de dicho polinucleótido, y donde el extremo 3' de dicho polinucleótido está localizado corriente arriba de un marcador bialélico relacionado con CanIon en dicha secuencia. Con preferencia, estos cebadores de amplificación comprenden una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las secuencias 61 a B17 y C1 a C17. Los cebadores con sus extremos 3' localizados 1 nucleótido corriente arriba de un marcador bialélico relacionado con CanIon tiene una utilidad especial como ensayos de microsecuenciación. Los cebadores de microsecuenciación preferidos se describen en la Tabla 4. Opcionalmente, dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A18, y los complementos del mismo u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A17, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A12 y A16, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, los cebadores de microsecuenciación se seleccionan del grupo que consiste en las secuencias de nucleótidos D1 a D18 y E1 a E18.

Las sondas adecuadas para el uso en la presente invención se pueden diseñar a partir de las secuencias reveladas por cualquiera de los métodos conocidos en la técnica, en particular métodos que permiten examinar si un marcador revelado en la presente memoria está presente. Un conjunto preferido de sondas se puede diseñar para el uso en ensayos de hibridación de la invención de una manera conocida en la técnica de modo que estos se unan selectivamente a un alelo de un marcador bialélico, pero no al otro en el conjunto particular en condiciones de ensayo. Las sondas de hibridación preferidas comprenden la base polimórfica del alelo 1 o alelo 2 del marcador bialélico considerado. Opcionalmente, dicho marcador bialélico puede estar dentro de 6, 5, 4, 3, 2, o 1 nucleótido(s) del centro de la sonda de hibridación o el centro de dicha sonda. En una realización preferida, las sondas se seleccionan del grupo que consiste en cada una de las secuencias P1 a P18 y cada una de las secuencias complementarias de las mismas.

Se debe advertir que los polinucleótidos adecuados para el uso en la presente invención no está limitados a tener las secuencias flanqueantes exactas que rodean las bases polimórficas que se enumeran en el Listado de secuencias. Más bien, se apreciará que secuencias flanqueantes que rodean los marcadores bialélicos se pueden prolongar o acortar hasta un punto compatible con su uso previsto y la presente invención contempla en forma específica a tales secuencias. Las regiones flanqueantes exteriores del espacio contiguo no necesitan ser homólogas a las secuencias flanqueantes nativas que aparecen realmente en los sujetos humanos. La adición de cualquier secuencia de nucleótidos que es compatible con los nucleótidos destinados al uso está específicamente contemplada.

Las sondas y cebadores pueden estar marcados o inmovilizados en un soporte sólido como se describe en "Sondas y cebadores oligonucleotídicos".

Los polinucleótidos adecuados para usar en la invención que se unen a un soporte sólido abarcan los polinucleótidos con alguna limitación adicional descripta en esta revelación, o las siguientes especificadas sola o una cualquier combinación: Opcionalmente, dichos polinucleótidos pueden estar especificados como unidos en forma individual o en grupos de por lo menos 2, 5, 8, 10, 12, 15, 20, o 25 polinucleótidos distintos de la invención a un soporte sólido único. Opcionalmente, los polinucleótidos diferentes que los adecuados para usar en la invención pueden unir al mismo soporte sólido como polinucleótidos de la invención. Opcionalmente, cuando los polinucleótidos se unen a un soporte sólido se pueden unir en localizaciones al azar o en una matriz ordenada. Opcionalmente, dicha matriz ordenada puede ser una matriz dirigible.

La presente invención también abarca kits diagnósticos que comprenden uno o más polinucleótidos de la invención con una porción o el total de los reactivos e instrucciones necesarios para la genotipificación de un sujeto de ensayo para la determinación de la identidad de un nucleótido en un marcador bialélico relacionado con CanIon. Los polinucleótidos de un kit puede estar unido opcionalmente a un soporte sólido, o ser parte de una matriz o matriz dirigida de polinucleótidos. El kit puede proporcionar la determinación de la identidad del nucleótido en la posición del marcador por cualquiera de los métodos conocidos en la técnica que incluyen, pero sin limitación, un método de ensayo de secuenciación, un método de microsecuenciación, un método de ensayo de hibridación o un método de detección de error de apareamiento basado en enzimas.

Métodos para identificación de novo de marcadores bialélicos

Se puede usar cualquiera de una variedad de métodos para seleccionar un fragmento genómico por los polimorfismos de nucleótido único tales como hibridación diferencial con sondas de oligonucleótidos, detección de cambios de movilidad mediada en electroforesis en gel o secuenciación directa del ácido nucleico amplificado. Un método preferido para identificar marcadores bialélicos incluye la secuenciación comparativa de los fragmentos de ADN genómicos a partir de un número apropiado de individuos no relacionados.

En una primera realización, las muestras de ADN de individuos no relacionados se mezclan juntas, después de lo cual se amplifica y secuencia el ADN genómico de interés. Las secuencias de nucleótidos así obtenidas luego se analizan para identificar polimorfismos significativos. Una de las principales ventajas de este método reside en el hecho que la mezcla de las muestras de ADN reducen sustancialmente el número de las reacciones de amplificación de ADN y las reacciones de secuenciación, que se pueden llevara cabo. Además este método es suficientemente sensible de manera que un marcador bialélico obtenido de este modo, usualmente demuestra que una frecuencia suficiente de su alelo menos común es útil para realizar los estudios de asociación.

En una segunda realización, las muestras de ADN no se mezclan y en consecuencia se amplifican y secuencia en forma individual. Este método es usualmente preferido cuando los marcadores bialélicos necesitan ser identificados para realizar estudios de asociación en los genes candidatos. Con preferencia, las regiones génicas relevantes tales como las regiones promotoras o regiones exónicas se pueden seleccionar para los marcadores bialélicos. Un marcador bialélico obtenido mediante este método puede mostrar un grado menor de contenido de información para realizar estudios de asociación, por ej. si la frecuencia de su alelo menos frecuente puede ser menos de aproximadamente 10%. Tal marcador bialélico será, sin embargo, lo suficientemente informativo para realizar estudios de asociación y además se apreciará que la inclusión de marcadores bialélicos menos informativos en los estudios de análisis genéticos de la presente invención, puede permitir en algunos casos, la identificación directa de las mutaciones causales, las que pueden ser, dependiendo de su penetrancia, mutaciones raras.

La siguiente es una descripción de los diversos parámetros de un método preferido usado por los inventores para la identificación de los marcadores bialélicos adecuados para el uso en la presente invención.

Muestras de ADN genómico

Las muestras de ADN genómico de las cuales se generan los marcadores bialélicos de la presente invención se obtienen con preferencia de individuos no relacionados que corresponden a una población heterogénea de antecedentes étnicos conocidos. El número de individuos de los cuales se obtienen las muestras de ADN puede variar sustancialmente, con preferencia de aproximadamente 10 a aproximadamente 1000, con preferencia de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 individuos. Usualmente se prefiere recoger muestras de ADN de por lo menos aproximadamente 100 individuos para tener suficiente diversidad polimórfica en una población dada para identificar tantos marcadores como posibles y generar resultados estadísticamente significativos.

En lo que respecta a la fuente del ADN genómico que se someterá a análisis, cualquier muestra de ensayo puede ser prevista sin ninguna limitación particular. Estas muestras de ensayo incluyen muestras biológicas, que se pueden ensayar por los métodos de la presente invención descritos en la presente memoria e incluyen líquidos corporales humanos y animales tales como sangre entera, suero, plasma, líquido cerebroespinal, orina, líquidos linfáticos y diversas secreciones externas de los aparatos respiratorio, intestinal y genitourinario, lágrimas, saliva, leche, leucocitos, mielomas y similares; líquidos biológicos tales como sobrenadantes de cultivos celulares; especímenes de tejidos fijados que incluyen tejidos tumorales y no tumorales y tejidos de ganglios linfáticos; aspirados de médula ósea y especímenes de células fijas. La fuente preferida de ADN genómico usada en la presente invención proviene de sangre venosa periférica de cada donante. Las técnicas para preparar ADN genómico de muestras biológicas son bien conocidas por los técnicos expertos. Los detalles de una realización preferida se proporcionan en el Ejemplo 1. El experto en la técnica puede elegir amplificar muestras de ADN combinadas o no combinadas.

Amplificación de ADN

La identificación de los marcadores bialélicos en una muestra de ADN genómico se puede facilitar mediante el uso de métodos de amplificación ADN. Las muestras de ADN se pueden combinar o no combinar para el paso de amplificación. Las técnicas de amplificación de ADN son bien conocidas por los expertos en la técnica.

Las técnicas de amplificación de ADN que se pueden usar en el contexto de la presente invención incluyen, pero sin limitación, la reacción en cadena de ligasa (LCR) descrita en EP-A-320 308, WO 9320227 y EP-A-439 182, la reacción en cadena de polimerasa (PCR, RT-PCR) y técnicas tales como amplificación basada en la secuencia de ácido nucleico (NASBA) descrita en Guatelli J.C., *et al.* (1990) y en Compton J. (1991), amplificación Q-beta como se describe en la solicitud de la Patente Europea No 4544610, amplificación del desplazamiento de cadena como se describe en Walker *et al.* (1996) y EP A 684 315 y amplificación mediada por blanco como se describe en la Publicación PCT Publication WO 9322461.

Las LCR y Gap LCR son técnicas de amplificación exponencial, que dependen de la ADN ligasa para unir los cebadores adyacentes apareados a una molécula de ADN. En la reacción en cadena de ligasa (LCR), se usan pares de sondas que incluyen dos sondas primarias (primera y segunda) y dos secundarias (tercera y cuarta), las cuales se emplean en exceso molar con el blanco. La primera sonda hibridiza a un primer segmento de la cadena blanco y la segunda hibridiza a un segundo segmento de la cadena blanco, el primer y segundo segmentos están contiguos de modo que las sondas primarias colindan entre sí en relación con 5' fosfato-3' hidroxilo, y de modo que una ligasa se puede fusionar o ligar en forma covalente a las dos sondas en un producto fusionado. Además, una tercera sonda (secundaria) se puede hibridizar a una porción de la primera sonda y una cuarta sonda (secundaria) puede hibridizar a una porción de la segunda sonda en un modo adyacente. Por supuesto, si el blanco es inicialmente de doble cadena, las sondas secundarias también hibridizan al complemento blanco en primera instancia. Una vez que la cadena ligada de las sondas primarias se separa de la cadena blanco, esta se hibridizará con la tercera y cuarta sondas, que se puede ligar para formar un producto ligado secundario complementario. Es importante para lograr que los productos ligados sean funcionalmente equivalentes tanto a el blanco como a su complemento. Mediante ciclos repetidos de hibridación y ligación, se logra la amplificación de la secuencia blanco. Un método para la LCR múltiplex también ha sido descrito (WO 9320227). La LCR Gap (GLCR) es una versión de LCR en la que las sondas no son adyacentes sino que están separadas por 2 a 3 bases.

Para la amplificación de los ARNm está dentro del alcance de la presente invención transcribir en forma reversa ARNm en ADNc seguido por la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR); o, usar una enzima única en ambos pasos como se describe en la Patente Estadounidense No. 5.322.770 o usar LCR Gap asimétrica (RT-AGLCR) como se describe en Marshall *et al.* (1994). AGLCR es una modificación de GLCR que permite la amplificación del ARN.

La tecnología PCR es la técnica de amplificación preferida usada en la presente invención. Una variedad de técnicas PCR son familiares para el experto en la técnica. Para una revisión de la tecnología de PCR, ver White (1997) y la publicación titulada "Métodos y aplicaciones de PCR" (1991, Cold Spring Harbor Laboratory Press). En cada uno de estos procedimientos de PCR, los cebadores PCR en cualquier lado de la secuencia de ácido nucleico que se amplifica se agregan a la muestra de ácido nucleico preparada adecuadamente junto con los dNTP y una polimerasa termoestable tal como la polimerasa Taq, polimerasa Pfu o polimerasa Vent. El ácido nucleico de la muestra está desnaturalizado y los cebadores de PCR se hibridizan específicamente a secuencias de ácido nucleico complementarias de la muestra. Los cebadores hibridizados se extienden. A partir de aquí, se inicia otro ciclo de desnaturalización, hibridación y extensión. Los ciclos se repiten múltiples veces para producir un fragmento amplificado que contiene la secuencia del

ácido nucleico entre los sitios del cebador. La PCR se ha descrito adicionalmente en varias patentes que incluyen las Patentes Estadounidenses 4.683.195; 4.683.202; y 4.965.188.

La tecnología PCR es la técnica de amplificación preferida usada para identificar nuevos marcadores bialélicos. Un ejemplo típico de una reacción de PCR adecuada para los propósitos de la presente invención se proporciona en el Ejemplo 2.

Es adecuado para el uso en la presente invención un método para la amplificación del gen de CanIon humano, en particular de un fragmento de la secuencia genómica de las SEC ID No 1 a 3 o de la secuencia de ADNc de la SEC ID No 4, o un fragmento o variante del mismo en una muestra de ensayo, con preferencia mediante PCR. Este método comprende los pasos de:

a) poner en contacto una muestra de ensayo con los reactivos de la reacción de amplificación que comprende un par de cebadores de amplificación como se describió anteriormente, y se localizan en cualquier lado de la región del polinucleótido que se amplificará y

b) opcionalmente, detectar los productos de amplificación.

La invención también trata de un kit para la amplificación de una secuencia del gen de CanIon, particularmente de una porción de la secuencia genómica de la SEC ID No 1 a 3 o la secuencia de ADNc de la SEC ID No 4, o una variante de la misma en una muestra de ensayo, donde dicho kit comprende:

a) un par de cebadores de oligonucleótido localizados en cualquier lado de la región de CanIon que se amplifica;

b) opcionalmente, los reactivos necesarios para realizar la reacción amplificación.

En una realización del anterior método y kit de amplificación, el producto de amplificación se detecta por hibridación con una sonda marcada que tiene una secuencia que es complementaria con la región amplificada. En otra realización del método y kit de amplificación, los cebadores comprenden una secuencia que se selecciona del grupo que consiste en las secuencias de nucleótidos de B1 a B17, C1 a C17, D1 a D18, y E1 a E18.

En una primera realización adecuada para usar en la presente invención, se identifican los marcadores bialélicos mediante la información de la secuencia genómica generada por los inventores. Los fragmentos de ADN genómico secuenciados se usan para diseñar cebadores para la amplificación de fragmentos de 500 pb. Estos fragmentos de 500 pb se amplifican del ADN genómico y se barren para buscar marcadores bialélicos. Los cebadores se pueden diseñar mediante el programa de computación OSP (Hillier L. and Green P., 1991). Todos los cebadores pueden contener, corriente arriba de las bases blanco específicas, una cola de oligonucleótidos comunes que actúa como un cebador de secuenciación. Estos expertos en la técnica esta familiarizados con las extensiones del cebador, que se pueden usar para estos propósitos.

Los cebadores preferidos, útiles para la amplificación de las secuencias genómicas que codifican el gen de CanIon, se centran en los promotores, exones y sitios de empalme de los genes. Un marcador bialélico presenta una mayor probabilidad de ser una mutación causal final si se localiza en estas regiones funcionales del gen. Los cebadores de amplificación preferidos de la invención incluyen las secuencias de nucleótidos B1 a B17 y C1 a C17, que se detallan adicionalmente en el Ejemplo 2, Tabla 1.

Secuenciación del ADN genómico amplificado e identificación de polimorfismos de nucleótido único

Los productos de amplificación generados como se describió anteriormente, luego se secuencian mediante cualquiera de los métodos conocidos y disponibles para los técnicos expertos. Los métodos de secuenciación del ADN que emplean el método mediado con dideoxi (método de Sanger) o el método de Maxam-Gilbert son ampliamente conocidos por los expertos en la técnica. Tales métodos se describen por ejemplo en Sambrook *et al.* (1989). Los métodos alternativos incluyen matrices de sonda de ADN e alta densidad como los que se describen en Chee *et al.* (1996).

Con preferencia, el ADN amplificado se somete a reacciones de secuenciación automatizadas con el terminador dideoxi empleando un protocolo de secuenciación del ciclo cebador-colorante. Los productos de las reacciones de secuenciación se corren en geles de secuenciación y las secuencias se determinan mediante el análisis de las imágenes del gel. La búsqueda de polimorfismo se basa en la presencia de picos superpuestos en el patrón de electroforesis que resultan de las diferentes bases que aparecen en la misma posición. Debido a que cada terminador dideoxi está marcado con una molécula fluorescente diferente, los dos picos que corresponden a un sitio bialélico presentan colores distintos que corresponden a dos nucleótidos diferentes en la misma posición de la secuencia. Sin embargo, la presencia de dos picos puede ser un artefacto debido al ruido de fondo. Para excluir tal artefacto, las dos cadenas de DN se secuencian y se lleva a cabo una comparación entre los picos. Para ser registrada como una secuencia polimórfica, el polimorfismo se debe detectar en ambas cadenas.

El procedimiento anterior permite que estos productos de amplificación, que contienen los marcadores bialélicos sean identificados. El límite de detección para la frecuencia de los polimorfismos bialélicos detectados por las mezclas

de secuenciación de 100 individuos es aproximadamente 0,1 para el alelo menor, como se verifica por las mezclas de secuenciación de frecuencias alélicas conocidas. Sin embargo, más del 90% de los polimorfismos bialélicos detectados por el método de mezclado presente una frecuencia para el alelo menor superior a 0,25. En consecuencia, los marcadores bialélicos seleccionados por este método presentan una frecuencia de por lo menos 0,1 para el alelo menor y menos de 0,9 para el alelo mayor. Con preferencia, por lo menos 0,2 para el alelo menor y menos de 0,8 para el alelo mayor, con más preferencia por lo menos 0,3 para el alelo menor y menos de 0,7 para el alelo mayor, de este modo una tasa de heterocigosidad mayor de 0,18, con preferencia mayor de 0,32, con más preferencia mayor de 0,42.

En otra realización, los marcadores bialélicos se detectan por la secuenciación de muestras de ADN individual, la frecuencia del alelo menor de tal marcador bialélico puede ser de menos de 0,1.

Validación de los marcadores bialélicos de la presente invención

Se evalúan los polimorfismos para determinar su utilidad como marcadores genéticos por medio de la validación de que ambos alelos están presentes en una población. La validación de los marcadores bialélicos se obtiene por la genotipificación de un grupo de individuos por un método de la invención y la demostración de que ambos alelos están presentes. La microsecuenciación es un método preferido genotipificación de alelos. La validación del paso de genotipificación se puede realizar en muestras de individuos derivados de cada individuo del grupo o por genotipificación de una muestra combinada derivada de más de un individuo. El grupo puede ser tal pequeño como un individuo si ese individuo es heterócigo para el alelo en cuestión. Con preferencia el grupo contiene por lo menos tres individuos, con más preferencia el grupo contiene cinco o seis individuos, de manera que un ensayo de validación único será más probable que produzca la validación de más de los marcadores bialélicos que se están ensayando. Se debe advertir, sin embargo, que cuando el ensayo de validación se realiza con un grupo pequeño, este puede producir un resultado falsos negativos si como resultado del error de muestreo ninguno de los individuos ensayados lleva uno de los dos alelos. De este modo, el proceso de validación es menos útil para demostrar que un resultado inicial particular es un artefacto, que para demostrar que hay un marcador bialélico de buen fe en una posición particular de una secuencia. Todos los métodos de genotipificación, haplotipificación, estudios de asociación e interacción de la invención se pueden realizar opcionalmente únicamente con marcadores bialélicos validados.

Evaluación de la frecuencia de los marcadores bialélicos de la presente invención

Los marcadores bialélicos se evalúan adicionalmente en cuanto a su utilidad como marcadores genéticos por la determinación de la frecuencia del alelo menos común en el sitio del marcador bialélico. A mayor frecuencia del menos común de los alelos, mayor es la utilidad del marcador bialélico en los estudios de asociación e interacción. La determinación del menos común del alelo se obtiene por la genotipificación de un grupo de individuos por un método de la invención y la demostración de que ambos alelos están presentes. Esta determinación de la frecuencia por el paso de genotipificación se puede realizar en muestras de individuos derivados de cada individuo del grupo o por genotipificación de una muestra combinada derivada de más de un individuo. El grupo puede ser lo suficientemente grande para ser representativo de la población como total. Con preferencia el grupo contiene por lo menos 20 individuos, con más preferencia el grupo contiene por lo menos 50 individuos, con mayor preferencia el grupo contiene por lo menos 100 individuos. Por supuesto a mayor grupo, mayor precisión de la determinación de frecuencia debida a la reducción del error de muestreo. Un marcador bialélico en el que la frecuencia del alelo menos común es 30% o más se denomina un "marcador bialélico de alta calidad". Todos los métodos de genotipificación, haplotipificación, estudios de asociación e interacción de la invención se pueden realizar opcionalmente únicamente con marcadores bialélicos de alta calidad.

Métodos para la genotipificación de un individuo en lo que respecta a los marcadores bialélicos

Se proporcionan métodos para genotipificar una muestra biológica en lo que respecta a uno o más de los marcadores bialélicos de la presente invención, todos los cuales se pueden realizar *in vitro*. Tales métodos de genotipificación, comprenden la determinación de la identidad de un nucleótido en un sitio marcador bialélico de CanIon por medio de cualquier método conocido en la técnica. Estos métodos se usan para genotipificar poblaciones de casos y controles en estudios de asociación además de individuos en el contexto de la detección de los alelos de los marcadores bialélicos que se sabe que están asociados con un rasgo dado, en cuyo caso se determinan ambas copias del marcador bialélico presente en el genoma de los individuos de modo que un individuo se pueda clasificar como homócigo o heterócigo para un alelo particular.

Estos métodos de genotipificación se pueden realizar en muestras de ácido nucleico derivadas de muestras de ADN de un individuo o combinadas únicas.

La genotipificación se puede realizar mediante métodos similares a los que se describieron anteriormente para la identificación de los marcadores bialélicos o mediante otros métodos de genotipificación tales como los que se describen adicionalmente más adelante. En realizaciones preferidas, la comparación de secuencias de los fragmentos genómicos amplificados de diferentes individuos se usa para identificar nuevos marcadores bialélicos mientras que la microsecuenciación se usa para la genotipificación de marcadores bialélicos conocidos para aplicaciones en diagnóstico y estudios de asociación.

Son adecuados para usar en la invención los métodos de genotipificación que comprenden la determinación de la identidad de un nucleótido en marcador bialélico relacionado con CanIon o el complemento del mismo en una muestra

biológica; opcionalmente, donde dicho marcador relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A18, y los complementos del mismo o opcionalmente, los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, donde dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A17, y los complementos del mismo u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, donde dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A12 y A16, y los complementos del mismo u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, donde dicha muestra biológica deriva de un sujeto único; opcionalmente, donde la identidad de los nucleótidos en dicho marcador bialélico se determina para ambas copias de dicho marcador bialélico presente en dicho genoma del individuo; opcionalmente, donde dicha muestra biológica deriva de múltiples sujetos; opcionalmente, los métodos de genotipificación adecuados para usar en la invención abarcan métodos con alguna limitación descrita en esta revelación, o en las siguientes, especificadas solas o en cualquier combinación; opcionalmente, dicho método se realiza *in vitro*; opcionalmente, además comprende amplificar una porción de dicha secuencia que comprende el marcador bialélico antes de dicho paso de determinación; opcionalmente, donde dicha amplificación se realiza por PCR, LCR, o replicación de un vector recombinante que comprende un origen de replicación y dicho fragmento en una célula hospedante, opcionalmente, donde dicha determinación se realiza por un ensayo de hibridación, un ensayo de secuenciación, un ensayo de microsecuenciación o un ensayo de detección de apareamientos erróneos basados en una enzima.

Fuente de ácidos nucleicos para genotipificación

Cualquier fuente de ácidos nucleicos, en forma purificada o no purificada se puede utilizar como ácido nucleico de partida, siempre que este contenga o se sospeche que contiene la secuencia deseada de ácido nucleico específico. El ADN o ARN se puede extraer de células, tejidos, líquidos corporales y similares como se describió anteriormente. Aunque los ácidos nucleicos para usar en los métodos de genotipificación adecuados para usar en la invención se pueden derivar de cualquier fuente de mamíferos, generalmente se entiende que los sujetos e individuos de ensayo de los cuales se toman las muestras de ácido nucleico son seres humanos.

Amplificación de los fragmentos de ADN que comprenden marcadores bialélicos

Los métodos y polinucleótidos proporcionados para amplificar un segmento de nucleótidos que comprenden uno o más marcadores bialélicos adecuados para usar en la presente invención. Se apreciará que la amplificación de fragmentos de ADN que comprende marcadores bialélicos se puede usar en diversos métodos y para diversos propósitos y no está restringida a la genotipificación. No obstante, muchos métodos de genotipificación, si bien no todos, requieren la amplificación previa de la región del ADN que lleva el marcador bialélico de interés. Tales métodos aumentan específicamente la concentración o el número total de secuencias de que abarcan el marcador bialélico o incluyen ese sitio y las secuencias localizadas en forma distal o proximal a ellas. Los ensayos diagnósticos también pueden depender de la amplificación de los segmentos de ADN que llevan un marcador bialélico de la presente invención. La amplificación del ADN se puede obtener por cualquier método conocido en la técnica. Las técnicas de amplificación se describieron anteriormente en la sección titulada "amplificación de ADN".

Algunos de estos métodos de amplificación son particularmente adecuados para la detección de polimorfismos de nucleótido único y permiten la amplificación simultánea de una secuencia blanco y la identificación del nucleótido polimórfico como se describe adicionalmente más adelante.

La identificación de los marcadores bialélicos que se describieron anteriormente permite el diseño de oligonucleótidos apropiados, que se pueden usar como cebadores para amplificar fragmentos de ADN que comprenden los marcadores bialélicos de la presente invención. La amplificación se puede realizar mediante los cebadores usados inicialmente para descubrir nuevos marcadores descriptos en la presente memoria o algún conjunto de cebadores que permiten la amplificación de un fragmento de ADN que comprende un marcador bialélico de la presente invención.

Son adecuados para el uso en la presente invención los cebadores para amplificar un fragmento de ADN que contiene uno o más marcadores bialélicos de la presente invención. Los cebadores de amplificación preferidos se listan en el Ejemplo 2. Se apreciará que los cebadores listados son simplemente ejemplos y que cualquier otro conjunto de cebadores que producen productos de amplificación que contienen uno o más marcadores bialélicos de la presente invención también es útil.

El espaciado de los cebadores determina la longitud del segmento que se amplifica. En el contexto de la presente invención, los segmentos amplificados que portan marcadores bialélicos pueden variar en tamaño de por lo menos aproximadamente 25 pb a 35 pb. Los fragmentos de amplificación de 25-3000 pb son típicos, los fragmentos de 50-1000 son preferidos y los fragmentos de 100-600 pb son los más preferidos. Se apreciará que los cebadores de amplificación para los marcadores bialélicos pueden ser de cualquier secuencia que permita la amplificación específica de algún fragmento de ADN que lleva los marcadores. Los cebadores de amplificación pueden estar marcados o inmovilizados en un soporte sólido como se describió en "Sondas y cebadores oligonucleotídicos".

Métodos de genotipificación de muestras de ADN para marcadores bialélicos

Cualquiera de los métodos conocidos en la técnica se puede usar para identificar el nucleótido presente en un sitio del marcador bialélico. Ya que el alelo del marcador bialélico detectado se ha identificado y especificado en la

presente invención, la detección será simple para un experto en la técnica por el empleo de alguna de las técnicas. Muchos estudios de genotipificación requieren la amplificación previa de la región del ADN que lleva el marcador bialélico de interés. Si bien en la actualidad con frecuencia se prefiere la amplificación de un blanco o señal, los métodos de detección ultrasensibles que no requieren amplificación están también comprendidos por los presentes métodos de genotipificación. Los métodos bien conocidos por los expertos en la técnica que se pueden usar para detectar polimorfismos bialélicos incluyen métodos tales como, análisis de transferencia de mancha convencionales, análisis de polimorfismo conformacional de cadena simple (SSCP) descrito por Orita *et al.* (1989), electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante (DGGE), análisis de heteroduplex, detección de escisión de apareamiento erróneo y otras técnicas convencionales como se describen en Sheffield *et al.* (1991), White *et al.* (1992), Grompe *et al.* (1989 y 1993). Otro método para determinar la identidad del nucleótido presente en un sitio polimórfico particular emplea un derivado de nucleótido resistente a exonucleasa especializado como se describe en la Patente Estadounidense 4.656.127.

Los métodos preferidos incluyen directamente la determinación de la identidad del nucleótido presente en un sitio del marcador bialélico por un ensayo de secuenciación, ensayo de detección apareamiento erróneo basado en enzimas o un ensayo de hibridación. La siguiente es una descripción de algunos métodos preferidos. Un método altamente preferido es la técnica de microsecuenciación. El término “secuenciación” se usa generalmente en la presente memoria para referirse la extensión de la polimerasa de los complejos de molde/cebador dúplex e incluye a la secuenciación y la microsecuenciación.

1) Ensayos de secuenciación

El nucleótido presente en un sitio polimórfico se puede determinar por métodos de secuenciación. En una realización preferida, las muestras de ADN se someten a la amplificación PCR antes de la secuenciación como se describió anteriormente. Los métodos de secuenciación de ADN se describen en “Secuenciación de ADN genómico amplificado e identificación de polimorfismos de nucleótido único”.

Con preferencia, el ADN amplificado se somete a reacciones de secuenciación del terminador dideoxi automatizadas que usan un protocolo de secuenciación del ciclo cebado-colorante. El análisis de secuencia permite la identificación de la base presente en el sitio del marcador bialélico.

2) Ensayos de microsecuenciación

En los métodos de microsecuenciación, el nucleótido del sitio polimórfico de un ADN blanco se detecta por una reacción de extensión del cebador de nucleótido único. Este método incluye los cebadores de microsecuenciación apropiados que, hibridizan exactamente corriente arriba de la base polimórfica de interés del ácido nucleico blanco. Se usa una polimerasa para extender en forma específica el extremo 3' del cebador con un ddNTP único (terminador de cadena) complementario con el nucleótido en el sitio polimórfico. Luego se determina la identidad del nucleótido incorporado de cualquier manera adecuada.

Típicamente, las reacciones de microsecuenciación se llevan a cabo mediante ddNTP fluorescentes y los cebadores de microsecuenciación extendidos se analizan por electroforesis en máquinas de secuenciación ABI 377 para determinar la identidad del nucleótido incorporado descrito en EP 412 883, cuya revelación está incorporada en su totalidad en la presente memoria como referencia. Alternativamente se puede usar la electroforesis capilar para procesar un mayor número de ensayos simultáneamente. Un ejemplo de un procedimiento microsecuenciación que es adecuado para el uso en la presente invención se proporciona en el Ejemplo 4.

Se pueden usar diferentes enfoques para la marcación y detección de los ddNTP. Un método de detección de fase homogénea se basa en la transferencia de energía de resonancia por fluorescencia ha sido descrito por Chen y Kwok (1997) y Chen *et al.* (1997). En este método, los fragmentos de ADN genómico amplificado que contienen sitios polimórficos se incuban en un cebador marcado con 5'-fluoresceína en presencia de trifosfatos de didesoxirribonucleósido alélicos marcados con colorante y una Taq polimerasa modificada. El cebador marcado con colorante se extiende una base por el terminador con colorante específico para el alelo presente en el molde. En el fin de la reacción de genotipificación, se analizan directamente las intensidades de fluorescencia de los dos colorantes de la mezcla de reacción sin separación o purificación. Todos estos pasos se pueden realizar en el mismo tubo y se pueden controlar los cambios de fluorescencia en tiempo real. Alternativamente, el cebador extendido se puede analizar por espectrometría de masas MALDITOF. La base del sitio polimórfico se identifica por la masa agregada en el cebador de microsecuenciación (ver Haff and Smirnov, 1997).

La microsecuenciación se puede obtener por el método establecido de microsecuenciación o por desarrollos o derivados del mismo. Los métodos alternativos incluyen varias técnicas de microsecuenciación en fase sólida. El protocolo de microsecuenciación básico es el mismo descrito previamente, excepto que el método se realiza como un ensayo de fase heterogénea, en la cual el cebador o la molécula blanco está inmovilizado o captura en un soporte sólido. Para simplificar la separación del cebador y el análisis de adición del nucleótido terminal, los oligonucleótidos están unidos a soportes sólidos o están modificados de manera tal que la separación de afinidad además de la extensión de polimerasa. Los extremos 5' y los nucleótidos internos de los oligonucleótidos sintéticos se pueden modificar en varias formas diferentes para permitir los métodos de separación de afinidad, por ej., biotilación. Si un grupo de afinidad único se usa en los oligonucleótidos, los oligonucleótidos se pueden separar del reactivo terminador incorporado. Este elimina

la necesidad de separación física o por tamaño. Más de un oligonucleótido se puede separar del reactivo terminador y analizar simultáneamente si se usa más de un grupo de afinidad. Esto permite el análisis varias especies de ácido nucleico o más información de secuencia de ácido nucleico por extensión de la reacción. El grupo de afinidad no necesita el cebado del oligonucleótido pero alternativamente podría estar presente en el molde. Por ejemplo, la inmovilización se puede realizar por medio de una interacción entre ADN biotinilado y los pocillos de micro-titulación recubierto con estreptavidina o partículas de poliestireno recubiertas con avidina. De la misma manera, los oligonucleótidos o moldes pueden estar unidos a un soporte sólido en un formato de alta densidad. En tales las reacciones de microsecuenciación en fase sólida, los ddNTP incorporados pueden estar radiomarcados (Syvanen, 1994) o unidos a fluoresceína (Livak and Hainer, 1994). La detección de los ddNTP radiomarcados se puede lograr mediante técnicas de centelleo. La detección de ddNTP unidos a fluoresceína se puede basar en la unión del anticuerpo de anti fluoresceína conjugado con fosfatasa alcalina, seguido por la incubación con un sustrato cromogénico (tal como fosfato de p-nitrofenilo). Otros pares de detección-indicador posible incluyen: ddNTP unido a dinitrofenilo (DNP) y el conjugado de fosfatasa alcalina anti-DNP (Harju *et al.*, 1993) o ddNTP biotinilado y estreptavidina conjugada con peroxidasa de rábano picante con o-fenilendiamina como sustrato (WO 92/15712). Como procedimiento inclusive alternativo de microsecuenciación en fase sólida, Nyren *et al.* (1993) se describe un método que depende de la detección de la actividad ADN polimerasa por un ensayo de detección de pirofosfato inorgánico luminométrico enzimático (ELIDA).

Pastinen *et al.* (1997) describe un método de detección multiplex de polimorfismo de nucleótido único en el cual el principio de minisecuenciación en fase sólida se aplica a un de formato de matriz de oligonucleótido. Las matrices de alta densidad de sondas de ADN unidas a un soporte sólido (chips de ADN) se detallan adicionalmente a continuación.

Son adecuados para el uso en la presente invención los polinucleótidos y métodos para genotipificar uno o más marcadores bialélicos de la presente invención por la realización de un ensayo de una microsecuenciación. Los cebadores de microsecuenciación preferidos incluir las secuencias de nucleótidos D1 a D18 y E1 a E18. Será apreciado que los cebadores de microsecuenciación listados en el Ejemplo 4 son simplemente ejemplos y que se puede usar cualquier cebador que tiene un extremo 3' inmediatamente adyacente al nucleótido polimórfico. De forma similar, se apreciará que el análisis de microsecuenciación se puede realizar para cualquier marcador bialélico o cualquiera de la combinación de marcadores bialélicos de la presente invención. Es adecuado para el uso en la presente invención un soporte sólido que incluye uno o más de los cebadores de microsecuenciación listados en el Ejemplo 4 o fragmentos que comprenden por lo menos 8, 12, 15, 20, 25, 30, 40, o 50 nucleótidos consecutivos del mismo, al punto que tales longitudes son compatibles con el cebador descrito y que tiene un término 3' inmediatamente corriente arriba del marcador bialélico correspondiente, para la determinación de la identidad de un nucleótido en un sitio del marcador bialélico.

3) Ensayos de detección de apareamientos erróneos basados en polimerasas y ligasas

Son adecuados para el uso en la presente invención los polinucleótidos y métodos para determinar el alelo de uno o más marcadores bialélicos de la presente invención en una muestra biológica, por medio de ensayos de detección de apareamientos erróneos basados en polimerasas y/o ligasas. Estos ensayos se basan en la especificidad de las polimerasas y ligasas. Las reacciones de polimerización tienen requerimientos particularmente rigurosos para el apareamiento de bases correcto del extremo 3' del cebador de amplificación y la unión de dos oligonucleótidos hibridizados a una secuencia de ADN blanco es relativamente sensible a los apareamientos erróneos cercanos al sitio de ligación, especialmente en el extremo 3'. Los métodos, cebadores y varios de los parámetros para amplificar fragmentos de ADN que comprenden marcadores bialélicos adecuados para el uso en la presente invención se describieron anteriormente en "Amplificación de los fragmentos de ADN que comprenden marcadores bialélicos".

Cebadores de amplificación específica de alelos

La discriminación entre los dos alelos de un marcador bialélico se puede lograr también por la amplificación específica del alelo, una estrategia selectiva por la cual uno de los alelos se amplifica sin la amplificación del otro alelo. Para la amplificación específica del alelo, por lo menos un miembro del par de cebadores es suficientemente complementario con una región de un gen de CanIon que comprende la base polimórfica de un marcador bialélico de la presente invención para hibridizar con el mismo y así iniciar la amplificación. Tales cebadores pueden discriminar entre los dos alelos de un marcador bialélico.

Esto se obtiene al colocar la base polimórfica en el extremo 3' de uno de los cebadores de amplificación. Debido a que las formas de extensión del extremo 3' del cebador, un apareamiento erróneo en o cerca de esta posición tiene un efecto inhibitorio sobre la amplificación. En consecuencia, en condiciones de amplificación apropiadas, estos cebadores sólo dirigen la amplificación de su alelo complementario. La determinación de la localización precisa del apareamiento erróneo y las correspondientes condiciones de ensayo están dentro de la experiencia ordinaria de la técnica.

Métodos basados en ligación/amplificación

El "ensayo de ligación de oligonucleótidos" (OLA) emplea dos oligonucleótidos diseñados para poder hibridizar a secuencias adyacentes de una cadena simple de las moléculas blanco. Uno de los oligonucleótidos está biotinilado y el otro está marcado en forma detectable. Si la secuencia complementaria precisa se halla en la molécula blanco, los oligonucleótidos se hibridizarán de modo que sus terminales colinden y creen un sustrato de ligación que pue-

da ser capturado y detectado. El OLA es capaz de detectar polimorfismos de nucleótido único y se puede combinar ventajosamente con PCR como se describen Nickerson *et al.* (1990). En este método, se usa la PCR para obtener la amplificación exponencial del ADN blanco, que luego se detecta por OLA.

Otros métodos de amplificación particularmente adecuados para la detección de polimorfismo de nucleótido único incluye a LCR (reacción en cadena de ligasa), Gap LCR (GLCR) que se describieron anteriormente en "Amplificación de ADN". La LCR usa dos pares de sondas para amplificar en forma exponencial un blanco específico. Las secuencias de cada par de oligonucleótidos, se selecciona para permitir que el par hibridice a secuencias adyacentes de la misma cadena del blanco. Tal hibridación forma un sustrato de una ligasa dependiente del molde. La LCR se puede realizar con oligonucleótidos que tienen las secuencias proximales y distales de la misma cadena de un sitio del marcador bialélico. En una realización, se diseñará cada oligonucleótido para que incluya el sitio del marcador bialélico. En tal realización, las condiciones de reacción se seleccionan para que los oligonucleótidos se puedan ligar juntos solo si cada una de las moléculas blanco contiene o carece del nucleótido específico que es complementario con el marcador bialélico del oligonucleótido. En una realización alternativa, los oligonucleótidos incluirán el marcador bialélico, de modo que cuando estos se hibridizan con la molécula blanco, se crea una "brecha" como se describe en WO 90/01069. Esta brecha luego se llena con los dNTP complementarios (mediados por ADN polimerasa), o por un par de oligonucleótidos adicional. De esta manera al fin de cada ciclo, cada cadena simple presenta un complemento que puede actuar como blanco durante el próximo ciclo y se obtiene la amplificación específica de alelo exponencial de la secuencia deseada.

Ligase/Polymerase-mediated Genetic Bit Analysis™ es otro método para determinar la identidad de un nucleótido en un sitio pre-seleccionado de una molécula de ácido nucleico (WO 95/21271). Este método incluye la incorporación de un trifosfato de nucleósido que es complementario con el nucleótido presente en el sitio pre-seleccionado en el extremo de una molécula de cebador y su ligación posterior a un segundo oligonucleótido. La reacción se monitorea por la detección de una marca específica unida a la fase sólida de la reacción o por detección en solución.

4) Métodos de ensayo de hibridación

Un método preferido para determinar la identidad del nucleótido presente en un sitio del marcador bialélico incluye la hibridación del ácido nucleico. Las sondas de hibridación, que se pueden usar en forma conveniente en tales reacciones, con preferencia incluyen las sondas definidas en la presente memoria. Se puede usar cualquier ensayo de hibridación que incluye a hibridación Southern, hibridación Northern, hibridación sobre mancha e hibridación en fase sólida (ver Sambrook *et al.*, 1989).

La hibridación se refiere a la formación de una estructura bicatenaria por medio de dos ácidos nucleicos de cadena simple debida al apareamiento de bases complementarias. La hibridación se puede producir entre cadenas de ácido nucleico exactamente complementarias o entre cadena de ácido nucleico que contienen menos regiones de apareamientos erróneos. Se pueden diseñar sondas específicas que hibridizan a una forma del marcador bialélico y no a la otra y por consiguiente pueden discriminar entre formas alélicas diferentes. Las sondas específicas de alelo con frecuencia se usan de a pares, un miembro de un par que presenta un apareamiento perfecto con una secuencia blanco que contiene el alelo original y otra que presenta un apareamiento perfecto con una secuencia blanco que contiene el alelo alternativo. Las condiciones de hibridación deberán ser lo suficientemente rigurosas para que haya una diferencia significativa en la intensidad de hibridación entre los alelos, y con preferencia una respuesta esencialmente binaria, por la cual una sonda hibridiza a solo uno de los alelos. Las condiciones de rigurosidad de la hibridación específica de secuencia, en las cuales una sonda hibridizará sólo la secuencia blanco exactamente complementaria son bien conocidas en la técnica (Sambrook *et al.*, 1989). Las condiciones de rigurosidad dependen de las secuencias y serán diferentes en circunstancias diferentes. Generalmente, las condiciones de rigurosidad se seleccionan para que sean aproximadamente 5°C más bajo que el punto de fusión térmico (Tm) para la secuencia específica a una fuerza iónica y pH definidos. Si bien tal hibridación se puede realizar en solución, se prefiere emplear un ensayo de hibridación en fase sólida. El ADN blanco que comprende un marcador bialélico adecuado para el uso en la presente invención se puede amplificar antes de la reacción de hibridación. La presencia de un alelo específico en la muestra se determina por la detección de la presencia o ausencia de duplex híbridos estables formados entre la sonda y el ADN blanco. La detección de duplex híbridos se puede realizar por varios métodos. Varios formatos de ensayo de detección son bien conocidos que usan marcadores detectables unidos a cualquier blanco o la sonda que permite la detección de los duplex híbridos. Típicamente, los duplex de hibridación se separan de los ácidos nucleicos no hibridizados y luego se detectan los marcadores unidos a los duplex. Los expertos en la técnica reconocerán que los pasos de lavado se pueden emplear para lavar el exceso del ADN o sonda blanco además del conjugado no unido. Además, los formatos de ensayo heterogéneos estándares son adecuados para detectar los híbridos mediante las marcas presentes en los cebadores y sondas.

Dos ensayos desarrollados recientemente permiten la discriminación de la hibridación basado en alelos sin necesidad de separaciones o lavados (ver Landegren U. *et al.*, 1998). El ensayo TaqMan toma ventaja de la actividad nucleasa 5' de la Taq ADN polimerasa para digerir una sonda de ADN apareada en forma específica al producto de amplificación acumulados. Las sondas de TaqMan están marcadas con un par de dador-aceptor de colorante que interactúa por medio de la transferencia de energía de fluorescencia. La escisión de la sonda TaqMan por el avance de la polimerasa durante la amplificación disocia el colorante del dador del colorante aceptor de inactivación, mayormente aumenta la fluorescencia del dador. Todos los reactivos necesarios para detectar dos variantes alélicas se puede ensamblar en el comienzo de la reacción y los resultados se monitorean en tiempo real (ver Livak *et al.*, 1995). En un procedimiento basado en la hibridación homogénea alternativa, se usan balizas moleculares para las discriminaciones de los alelos. Las

balizas moleculares son sondas de oligonucleótidos de forma de horquilla que indican la presencia de ácidos nucleicos específicos en soluciones homogéneas. Cuando éstas se unen a sus blancos sufren una reorganización conformacional que restaura la fluorescencia de un fluoróforo inactivado en forma interna (Tyagi *et al.*, 1998).

Los polinucleótidos proporcionados en la presente memoria se pueden usar para producir sondas que se puede usar en ensayos de hibridación para la detección de los alelos del marcador bialélico en muestras biológicas. Estas sondas se caracterizan en que ellas con preferencia comprenden entre 8 y 50 nucleótidos, y en que ellas son suficientemente complementarias con la secuencia que comprende un marcador bialélico adecuado para el uso en la presente invención para hibridizar con la misma y con preferencia suficientemente específica para poder discriminar la secuencia seleccionada para solo una variación del nucleótido. Una sonda preferida particularmente de 25 nucleótidos de longitud. Con preferencia el marcador bialélico está dentro de 4 nucleótidos del centro de la sonda de polinucleótido. En particular sondas preferida, el marcador bialélico está en el centro de dicho polinucleótido. Las sondas preferidas comprenden una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en los amplicones listados en la Tabla 1 y las secuencias complementarias de la misma o un fragmento del mismo, dicho fragmento que comprende por lo menos aproximadamente 8 nucleótidos consecutivos, con preferencia 10, 15, 20, con más preferencia 25, 30, 40, 47, o 50 nucleótidos consecutivos y que contienen una base polimórfica. Las sondas preferidas comprenden una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en P1 a P18 y las secuencias complementarias de las mismas. En realizaciones preferidas las bases(s) polimórfica(s) son 5, 4, 3, 2, 1, nucleótidos del centro de dicho polinucleótido, con más preferencia en el centro de dicho polinucleótido.

Con preferencia las sondas adecuadas para el uso en la presente invención están marcadas o inmovilizadas en un soporte sólido. Las marcas y los soportes sólidos se describen adicionalmente en "Sondas y cebadores oligonucleotídicos". las ondas pueden ser no extendibles tal como se describe en "Sondas y cebadores oligonucleotídicos".

Por el ensayo de hibridación con una sonda específica de alelo, se puede detectar la presencia o ausencia de un alelo del marcador bialélico de una muestra dada. La hibridación paralela de alto rendimiento en formato de matriz está comprendida específicamente dentro de los "ensayos de hibridación" y se describen a continuación.

5) Hibridación a matrices dirigibles de oligonucleótidos

Los ensayos de hibridación basados en matrices de oligonucleótidos dependen de las diferencias de estabilidad de hibridación de los oligonucleótidos cortos a las variantes de secuencia blanco perfectamente apareadas y apareadas con errores. El acceso eficiente a la información del polimorfismo se obtiene mediante un a estructura básica que comprende matrices de alta densidad de sondas de oligonucleótidos unidas a un soporte sólido (por ej., el chip) en posiciones seleccionadas. Cada chip de ADN puede contener miles de millones de sondas de ADN sintético individuales dispuestas en un patrón tipo cuadrícula y miniaturizado al tamaño de una moneda de diez centavos.

La tecnología del chip ya ha sido aplicada con éxito en numerosos casos. Por ejemplo, la selección de mutaciones ha sido llevada a cabo en el gen BRCA1, en cepas mutantes de *S. cerevisiae*, y en el gen de la proteasa del virus HIV-1 (Hacia *et al.*, 1996; Shoemaker *et al.*, 1996; Kozal *et al.*, 1996). Los chips de varios formatos para usar en la detección de polimorfismos bialélicos se pueden producir sobre una base especializada de Affymetrix (GeneChip[®]), Hyseq (HyChip and HyG-nostics), y Protogene Laboratories.

En general, estos métodos emplean matrices de sondas de oligonucleótidos que son complementarias con lo segmentos de la a secuencia del ácido nucleico blanco de un individuo cuyas secuencias blanco incluyen un marcador polimórfico. EP 785280 describe una estrategia de embaldosado genético (en el original, en inglés tiling) para la detección de polimorfismos de nucleótido único. Brevemente, las matrices generalmente se pueden "embaldosar" para dar un gran número de polimorfismos específicos. Por "embaldosado" generalmente se entiende a la síntesis de un conjunto definido de sondas de oligonucleótido que se componen de una secuencia complementaria con la secuencia blanco de interés, además de las variaciones preseleccionadas de esta secuencia, por ej., sustitución de una o más posiciones dadas con uno o más miembros del conjunto base de nucleótidos. Las estrategias de embaldosado se describen adicionalmente en la solicitud PCT No. WO 95/11995. En un aspecto particular, las matrices se embaldosan para varias secuencias específicas del marcador bialélico identificadas. En particular, la matriz se embaldosó para incluir el número de bloques de detección, cada bloque de detección es específico para un marcador bialélico específico o un conjunto de marcadores bialélicos. Por ejemplo, un bloque de detección se puede embaldosar para incluir varias sondas, que abarcan el segmento de secuencia que incluye un polimorfismo específico. Para asegurar que las sondas son complementarias con cada alelo, las sondas se sintetizan en pares que difieren en el marcador bialélico. Además de las sondas que difieren en la base polimórfica, las sondas monosustituidas generalmente también se embaldosaron dentro del bloque de detección. Estas sondas monosustituidas presentan bases en y más de cierto número de bases en cada dirección del polimorfismo, sustituidas con los nucleótidos restantes (seleccionados de A, T, G, C y U). Típicamente las sondas en un bloque de detección embaldosado incluirá sustituciones de las posiciones de la secuencia de hasta y que incluyen a las que tienen 5 fuera del marcador bialélico. Las sondas monosustituidas proporcionan controles internos para la matriz embaldosada para distinguir la hibridación real de la hibridación cruzada de tipo artefacto. Después de completar la hibridación con la secuencia blanco y lavado de la matriz, se realiza un barrido de la matriz para determinar la posición de la matriz en la cual se hibridiza la secuencia blanco. Los datos de hibridación de la matriz barrida luego se analiza para identificar que alelo o alelos de los marcadores bialélicos están presentes en la muestra. La hibridación y barrido se puede llevar a cabo como se describe en la solicitud PCT No. WO 92/10092 y WO 95/11995 y la Patente Estadounidense No. 5.424.186.

De este modo en algunas realizaciones, los chips pueden comprender una matriz de secuencias de ácido nucleico de los fragmento de aproximadamente 15 nucleótidos de longitud. En realizaciones adicionales, el chip puede comprender una matriz que incluye por lo menos una de las secuencias seleccionadas del grupo que consiste en los amplicones listados en la Tabla 1 y las secuencias complementarias de las mismas, o un fragmento del mismo, dicho fragmento que comprende por lo menos aproximadamente 8 nucleótidos consecutivos, con preferencia 10, 15, 20, con más preferencia 25, 30, 40, 47 o 50 nucleótidos consecutivos y que contienen una base polimórfica. En realizaciones preferidas la base polimórfica es de 5, 4, 3, 2, 1, nucleótidos del centro de dicho polinucleótido, con más preferencia en el centro de dicho polinucleótido. En algunas realizaciones, el chip puede comprender una matriz de por lo menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más de estos polinucleótidos de la invención. Los soportes sólidos y polinucleótidos adecuados para el uso en la presente invención unidos a soportes sólidos se describen adicionalmente en "Sondas y cebadores de oligonucleótidos".

6) Sistemas Integrados

Otra técnica, que se puede usar para analizar polimorfismos, incluye a los sistemas integrados con multicomponentes, que miniaturizan y dividen en diferentes categorías a los procesos tales como reacciones de PCR y electroforesis capilar en un dispositivo funcional simple. Un ejemplo de tal técnica se revela en la Patente Estadounidense 5.589.136, que describe la integración de la amplificación por PCR y la electroforesis capilar en chips.

Los sistemas integrados se pueden considerar principalmente cuando se usan sistemas microfluídicos. Estos sistemas comprenden un patrón de microcanales diseñado en obleas de vidrio, silicio, cuarzo o plástico incluidas en un microchip. Los movimientos de las muestras están controlados por fuerzas eléctricas, electroosmóticas o hidrostáticas aplicadas a diferentes áreas del microchip para crear válvulas y bombas microscópicas funcionales sin partes móviles.

Para la genotipificación de los marcadores bialélicos, el sistema microfluídico puede integrar la amplificación, microsecuenciación, electroforesis capilar y un método de detección de ácido nucleico tal como detección de fluorescencia inducida por láser.

Métodos de análisis genético que utilizan los marcadores bialélicos de la presente invención

Están disponibles diferentes métodos para el análisis genético de los rasgos complejos (ver Lander and Schork, 1994). La búsqueda para determinar los genes sensibles a la enfermedad se realiza mediante dos métodos principales: el método del ligación en el cual se busca la evidencia de la cosegregación entre un locus y un locus del rasgo putativo mediante estudios familiares, y el método de asociación en el cual se busca la evidencia de la asociación estadísticamente significativa entre un alelo y un rasgo o un alelo que causa un rasgo (Khoury *et al.*, 1993). En general, los marcadores bialélicos de la presente invención se usan en cualquiera de los métodos conocidos en la técnica para demostrar una correlación estadísticamente significativa entre un genotipo y un fenotipo. Los marcadores bialélicos se pueden usar en métodos de ligación paramétricos y no paramétricos. Con preferencia, los marcadores bialélicos de la presente invención se usan para identificar a los genes asociados con rasgos detectables mediante estudios de asociación, un método que no requiere el uso de familias afectadas y que permite la identificación de genes asociados con rasgos complejos y esporádicos.

El análisis genético mediante los marcadores bialélicos adecuados para el uso en la presente invención se puede realizar en cualquier escala. Se puede usar el conjunto completo de marcadores bialélicos adecuados para el uso en la presente invención o cualquier subconjunto de los marcadores bialélicos adecuados para el uso en la presente invención correspondiente al gen candidato. Además, se puede usar cualquier conjunto de marcadores genéticos que incluyen un marcador bialélico adecuado para el uso en la presente invención. Un conjunto de polimorfismos bialélicos que podían usar como marcadores genéticos en combinación con los marcadores bialélicos de la presente invención ha sido descrito en WO 98/20165. Como se mencionó anteriormente, se debe advertir que los marcadores bialélicos adecuados para el uso en la presente invención se pueden incluir en cualquier mapa genético completo o parcial del genoma humano. Estos usos diferentes están contemplados en la presente invención y reivindicaciones.

Análisis de conexión

El análisis de conexión se basa en el establecimiento de una correlación entre la transmisión de los marcadores genéticos y la de un rasgo específico a lo largo de las generaciones de una familia. De este modo, el propósito del análisis de conexión es para detectar los locus del marcador que presentan cosegregación con un rasgo de interés en los linajes.

Métodos paramétricos

Cuando los datos de generaciones sucesivas están disponibles hay una oportunidad para estudiar el grado de conexión entre los pares de loci. Los estimados de la fracción de recombinación permiten que los loci se ordenen y coloquen en un mapa genético. Con los loci que son marcadores genéticos, se puede establecer un mapa genético y luego se puede calcular la intensidad de ligación entre marcadores y rasgos y también se usa para indicar las posiciones relativas de los marcadores y genes que afectan a estos rasgos (Weir, 1996). El método clásico para el análisis de conexión es el logaritmo del método de puntuación de probabilidades (lod) (ver Morton, 1955; Ott, 1991). El cálculo de las puntuaciones lod requiere la especificación del modo de herencia para la enfermedad (método paramétrico). Generalmente, la longitud de la región candidata identificada mediante análisis del conexión está entre 2 y 20 Mb. Una

vez que se identifica una región candidata como se describió anteriormente, el análisis de individuos recombinantes mediante marcadores adicionales permite la delineación adicional de la región candidata. Los estudios del análisis de conexión generalmente han dependido del uso de un máximo de 5.000 marcadores microsatélite, de este modo se limita la resolución alcanzable teórica máxima del análisis de conexión a aproximadamente 600 kb en promedio.

El análisis del ligación se ha aplicado en forma exitosa a los rasgos genéticos simples de un mapa que muestran patrones de herencia Mendeliana clara y que tienen una alta penetrancia (es decir, la proporción entre el número de vehículos de rasgos positivos de un alelo y el número total de un vehículo en la población). Sin embargo, el análisis del ligación paramétrico sufre de una variedad de inconvenientes. Primero, está limitado por su dependencia de la elección de un modelo genético adecuado para cada rasgo estudiado. Además, como ya se mencionó, la resolución alcanzable mediante el análisis de conexión está limitada y se requieren estudios complementarios para refinar el análisis de las regiones típicas de 2 Mb a 20 Mb identificadas inicialmente por medio del análisis de conexión. Además, se ha comprobado que los métodos del análisis de conexión paramétrico son difíciles cuando se aplican a rasgos genéticos complejos, tal como los debidos a la acción combinada de los genes múltiples y/o factores ambientales. Es muy difícil basar estos factores adecuadamente en el análisis de puntuación lod. En tales casos, se necesitan demasiado esfuerzo y costo para reclutar el número adecuado de familias afectadas que se requiere para aplicar el análisis de conexión en estas situaciones, como recientemente fue descrito por Risch and Merikangas (1996).

Métodos no paramétricos

La ventaja de los llamados métodos no paramétricos para el análisis de conexión es que estos no requieren especificación del modo de herencia para la enfermedad, estos tienden a ser más útiles para el análisis de rasgos complejos. En los métodos no paramétricos, se trata de comprobar que el patrón de herencia de una región cromosómica no es compatible con la segregación mendeliana al azar mediante la demostración de que los parientes afectados heredan copias idénticas de la región con más frecuencia que la esperada por casualidad. Los parientes afectados deberán mostrar exceso de "alelo compartido" incluso en presencia de penetrancia incompleta y herencia poligénica. En el análisis de conexión no paramétrico, se puede medir el grado de acuerdo con un locus del marcador en dos individuos por el número de alelos de estado idéntico (IBS) o por el número de alelos por ascendencia (BD). El análisis del par de hermanos afectados es un caso especial bien conocido y es la forma más simple de estos métodos.

Los marcadores bialélicos adecuados para el uso en la presente invención se pueden usar para el análisis de conexión tanto paramétrico como no paramétrico. Con preferencia, los marcadores bialélicos se pueden usar en métodos no paramétricos que permiten el mapeo de los genes involucrados en los rasgos complejos. Los marcadores bialélicos adecuados para el uso en la presente invención se pueden usar en métodos BD- e IBS- para mapear genes que afectan un rasgo complejo. En tales estudios, se aprovecha la alta densidad de los marcadores bialélicos, varios loci de marcadores bialélicos adyacentes se mezclan para lograr la eficiencia alcanzada por los marcadores multialélicos (Zhao *et al.*, 1998).

Estudios de asociación de población

La presente invención comprende métodos para identificar si el gen de CanIon está asociado con un rasgo detectable que emplea los marcadores bialélicos de la presente invención. En una realización la presente invención comprende el método para detectar una asociación entre un alelo del marcador bialélico o un haplotipo del marcador bialélico y un rasgo. Además, la invención comprende métodos para identificar un rasgo que causa alelo es desequilibrio de unión con cualquier alelo del marcador bialélico de la presente invención.

Como se describió anteriormente, se pueden emplear métodos alternativos para realizar estudios de asociación: estudios de asociación del genoma amplio, estudios de asociación de la región candidata y estudios de asociación del gen candidato. En una realización preferida, los marcadores bialélicos adecuados para el uso en la presente invención se usan para realizar estudios de asociación del gen candidato. El análisis del gen candidato proporciona claramente un método "de atajo" para la identificación de genes y polimorfismos de genes relacionados con un rasgo particular cuando se dispone de algo de información concerniente a la biología del rasgo. Además, los marcadores bialélicos adecuados para el uso en la presente invención se pueden incorporar en cualquier mapa de marcadores genéticos del genoma humano con el fin de realizar estudios de asociación de genoma amplio. Los métodos para generar un mapa de alta densidad de marcadores bialélicos ha sido descrito en la solicitud de Patente Estadounidense Provisional serie número 60/082,614. Los marcadores bialélicos adecuados para el uso en la presente invención puede estar además incorporado en un algún mapa de una región candidata específica del genoma (un cromosoma específico o un segmento cromosómico específico, por ejemplo).

Como se mencionó anteriormente, los estudios de asociación se pueden realizar en la población general y no están limitados a los estudios realizados en individuos relacionados en las familias afectadas. Los estudios de asociación son extremadamente valiosos ya que ellos permiten el análisis de rasgos esporádicos o multifactoriales. Además, los estudios de asociación constituyen un poderoso método de mapeo de pequeña escala que permite un mapeo mucho más detallado de los rasgos que causan alelos que los estudios de ligación. Los estudios basados en linajes con frecuencia solo estrechan la localización del rasgo que origina el alelo. Los estudios de asociación que usan los marcadores bialélicos de la presente invención por consiguiente se pueden usar para refinar la localización de un rasgo que origina el alelo en una región candidata identificada por los métodos de análisis de ligación. Además, una vez que se ha identificado el segmento del cromosoma de interés, la presencia de un gen candidato tal como un gen candidato de la

presente invención, en la región de interés puede proporcionar un “atajo” para la identificación del rasgo que origina el alelo. Los marcadores bialélicos adecuados para el uso en la presente invención se pueden usar para demostrar que un gen candidato está asociado con un rasgo. Tales usos están específicamente contemplados en la presente invención.

5 *Determinación de la frecuencia de un marcador bialélico o de un haplotipo de un marcador bialélico de una población*

Los estudios de asociación exploran las relaciones entre las frecuencias para los conjuntos de alelos entre locus.

10 *Determinación de la frecuencia de un alelo de una población*

Las frecuencias alélicas de los marcadores bialélicos de las poblaciones se pueden determinar mediante uno de los métodos descriptos anteriormente bajo el título “Métodos para la genotipificación de un individuo para marcadores bialélicos”, o cualquier procedimiento adecuado de genotipificación destinado a este propósito. La genotipificación de las muestras combinadas o las muestras individuales puede determinar la frecuencia de un alelo de un marcador bialélico de una población. Una forma de reducir el número de genotipificaciones requeridas es usar muestras combinadas. El principal obstáculo de usar mezclas combinadas está en términos de precisión y reproducibilidad para determinar las concentraciones exactas de ADN para la preparación de las mezclas. La genotipificación de las muestras individuales proporciona mayor sensibilidad, reproducibilidad y precisión y; es el método preferido usado en la presente invención. Con preferencia, cada individuo se genotipifica en forma separada y se aplica el recuento de genes únicos para determinar la frecuencia de un alelo de un marcador bialélico o un genotipo de una población dada.

Son adecuados para usar en la invención los métodos de estimación de la frecuencia de un alelo de una población que comprende:

25 a) genotipificar a los individuos de dicha población para dicho marcador bialélico de acuerdo con el método de la presente invención;

b) determinar la representación proporcional de dicho marcador bialélico en dicha población. Además, los métodos de estimación de la frecuencia de un alelo en una población de la invención abarca métodos con alguna limitación descrito en esta revelación o las especificadas solas o en alguna combinación; opcionalmente, donde dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A18, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, donde dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A17, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, donde dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A12 y A16, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; Opcionalmente, determinar la frecuencia de un alelo del marcador bialélico en una población se puede lograr por la determinación de la identidad de los nucleótidos para ambas copias de dicho marcador bialélico presente en el genoma de cada individuo en dicha población y el cálculo de la representación proporcional de dicho nucleótido en dicho marcador bialélico relacionado con CanIon para la población; opcionalmente, determinar la representación proporcional se puede lograr mediante la realización de un método de genotipificación de la invención de una muestra biológica combinada derivada de un número representativo de individuos, o cada individuo, en dicha población y el cálculo de una cantidad proporcional de dicho nucleótido comparado con el total.

45 *Determinación de la frecuencia de un haplotipo en una población*

Se desconoce la fase gamética de los haplotipos cuando los individuos diploides son heterocigos en más de un locus. Mediante la información genealógica algunas veces se puede inferir la fase gamética de las familias (Perlin *et al.*, 1994). Cuando la información genealógica no está disponible se pueden usar diferentes estrategias. Una posibilidad es que los diploides heterocigos de sitios múltiples se puede eliminar del análisis, manteniendo sólo los individuos homocigotas y los heterocigotas de sitio único, pero este método podría conducir a un posible sesgo de la composición de la muestra y a la subestimación de los haplotipos de baja frecuencia. Otra posibilidad es que los cromosomas únicos se pueden estudiar en forma independiente, por ejemplo, por amplificación de PCR asimétrica (ver Newton *et al.*, 1989; Wu *et al.*, 1989) o por aislamiento de los cromosomas únicos por dilución límite seguida por amplificación PCR (ver Roane *et al.*, 1990). Además, una muestra se puede tipificar en haplotipos para obtener marcadores bialélicos suficientemente cercanos por la amplificación doble por PCR de los alelos específicos (Sarkar, G. y Sommer S. S., 1991). Estos métodos no son plenamente satisfactorios debido a su complejidad técnica, el costo adicional que suponen, su falta de generalización a gran escala o los posibles sesgos que ellos introducen. Para superar estas dificultades, se puede usar un algoritmo para inferir la fase de los genotipos de ADN amplificados por PCR introducido por Clark, A.G. (1990). En breves palabras, el principio es comenzar a llenar en forma preliminar una lista de haplotipos presentes en la muestra por medio del examen de individuos inequívocos, o sea, homocigotas completos y heterocigotas de sitio único. Luego se seleccionaron otros individuos de la misma muestra para hallar la posible aparición de haplotipos previamente reconocidos. Para cada identificación positiva, se agrega el haplotipo complementario a la lista de haplotipos reconocidos hasta que fase de información para todos los individuos sea resuelta o identificada como no resuelta. Este método asigna un haplotipo único a cada multiheterocigota, mientras que varios haplotipos sean posibles cuando hay más de un sitio heterocigota. Alternativamente, se pueden usar métodos que estiman las frecuencias de haplotipos en una población sin asignación de haplotipos a cada individuo. Con preferencia, se usa un método basado en un algorit-

mo de expectativa-maximización (EM) (Dempster *et al.*, 1977) que conduce a los estimados de probabilidad máxima de las frecuencias de haplotipos bajo la suposición de las proporciones de Hardy-Weinberg (apareamiento al azar) (ver Excoffier L. y Slatkin M., 1995). El algoritmo EM es un método de probabilidad máxima iterativa generalizada para la estimación que es útil cuando los datos son ambiguos y/o incompletos. El algoritmo EM se usa para resolver heterocigotas en haplotipos. Las estimaciones de haplotipos se describen adicionalmente bajo le título “Métodos estadísticos” Se puede usar cualquiera de los otros métodos conocidos en la técnica para determinar o estimar la frecuencia de un haplotipo en una población.

La estimación de la frecuencia de un haplotipo para un conjunto de marcadores bialélicos en una población, comprende los pasos de: a) genotipificar por lo menos un marcador bialélico relacionado con CanIon de acuerdo con el material de acuerdo de la invención para cada individuo en población; b) genotipificar un segundo marcador bialélico por la determinación de la identidad de los nucleótidos en dicho segundo marcador bialélico para ambas copias de dicho segundo marcador bialélico presente en el genoma de cada individuo de dicha población; y c) aplicar un método de determinación de haplotipos para las identidades de los nucleótidos determinados en los pasos a) y b) para obtener un estimado de dicha frecuencia. Además, los métodos de estimación de la frecuencia de un haplotipo de la invención comprenden métodos con alguna limitación descriptos en esta revelación, o los siguientes especificado solos o en alguna combinación: opcionalmente, donde dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A18, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, donde dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A17, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, donde dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A12 y A16, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, dicho método de determinación de haplotipo se realiza por amplificación por PCR asimétrica, amplificación por PCR doble de alelos específicos, el algoritmo de Clark o un algoritmo de expectativa-maximización.

Análisis del desequilibrio de conexión

El desequilibrio de conexión es la asociación no aleatoria de los alelos en dos o más locus y representa una poderosa herramienta para el mapeo de genes involucrados de los rasgos de enfermedad (ver Ajioka R.S. *et al.*, 1997). Los marcadores bialélicos, debido a que están son densamente espaciados en el genoma humano y se pueden genotipificar en números mayores que otros tipos de marcadores genéticos (tales como marcadores RFLP o VNTR), son particularmente útiles en los análisis genéticos basados en el desequilibrio de conexión.

Cuando una mutación de la enfermedad se introduce primero en una población (por una mutación nueva o la inmigración de un vehículo de mutación), estas necesariamente reside en un cromosoma único y de este modo un haplotipo único “antecedente” o “ancestral” de los marcadores conectados. Por consiguiente, el desequilibrio completo es simple entre estos marcadores y la mutación de la enfermedad: se halla la mutación de la enfermedad solo en presencia de un conjunto específico de alelos marcadores. A través de sucesivas generaciones se producen los eventos de recombinación entre la mutación de enfermedad y estos polimorfismos marcadores, y el desequilibrio se disipa gradualmente. El ritmo de esta disipación es una función de la frecuencia de recombinación, de modo que los marcadores más cercanos al gen de la enfermedad manifestarán niveles superiores de desequilibrio que los que están más lejos. Cuando no se alteran por la recombinación, los haplotipos “ancestrales” y el desequilibrio de conexión entre los alelos marcadores en diferentes locus se puede seguir el rastro no solo a través de los linajes sino también a través de poblaciones. El desequilibrio de conexiones usualmente se considera como una asociación entre un alelo específico en un locus y otro alelo específico en un segundo locus.

Se espera que el patrón o curva de desequilibrio entre la mutación de la enfermedad y locus del marcador presenten un máximo que se produce en el locus de la enfermedad. Por consiguiente, la proporción de desequilibrio de conexión entre un alelo de la enfermedad y los marcadores genéticos estrechamente ligados puede producir información valiosa con respecto al localización del gen de la enfermedad. Para el mapeo de pequeña escala de un locus de la enfermedad, es útil tener algún conocimiento de los patrones de desequilibrio de conexión que existe entre los marcadores en la región estudiada. Como se mencionó anteriormente la resolución del mapeo obtenida mediante el análisis del desequilibrio de conexión es mucho mayor que la de los estudios de conexión. La alta densidad de los marcadores bialélicos combinada con el análisis de desequilibrio de conexión proporciona herramientas poderosas para el mapeo de pequeña escala. Diferentes métodos para calcular el desequilibrio de conexión se describen más adelante bajo el título “Métodos estadísticos”.

Estudios de control de casos basados en la población de asociaciones de marcadores de rasgos

Como se mencionó anteriormente, la aparición de pares de alelos específicos en diferentes locus en el mismo cromosoma no es al azar y la desviación respecto del azar se llama desequilibrio de conexión. Los estudios de asociación se centran en las frecuencias de la población y dependen del fenómeno del desequilibrio de conexión. Si un alelo específico en un gen dado está directamente involucrado en el origen de rasgo particular, su frecuencia aumentará en forma estadística en una población afectada (rasgo positivo), cuando se compara con la frecuencia en una población con rasgo negativo o en una población control aleatoria. Como consecuencia de la existencia del desequilibrio de conexión, la frecuencia de todos los otros alelos presentes en el haplotipo que porta el alelo causante del rasgo también aumentará en individuos con rasgo positivo en comparación con los individuos con rasgo negativo o controles aleatorios. Por

eso, la asociación entre el rasgo y algún alelo (específicamente un alelo del marcador bialélico) en el desequilibrio de conexión con el alelo causante del rasgo bastará para sugerir la presencia de un gen relacionado con el rasgo en esa región particular. Las poblaciones de casos y controles se puede genotipificar para hallar los marcadores bialélicos para identificar asociaciones que se ubican casi en el alelo causante del rasgo. Cualquier marcador en desequilibrio de conexión con un marcador dado asociado con un rasgo estará asociado con el rasgo. El desequilibrio de conexión permite analizar las frecuencias relativas en poblaciones de casos y controles de un número limitado de polimorfismos genéticos (específicamente marcadores bialélicos) como una alternativa para la detección de todos los polimorfismos funcionales posibles con el fin de hallar alelos causantes del rasgo. Los estudios de asociación comparan la frecuencia de los alelos de los marcadores en poblaciones de casos y controles no relacionados y representan herramientas poderosas para la disección de los rasgos complejos.

Poblaciones de control de casos (criterios de inclusión)

Los estudios de asociación basados en poblaciones no se ocupan de la herencia familiar pero comparan la prevalencia de un marcador genético particular, o un conjunto de marcadores, en poblaciones de control de casos. Estos son estudios de control de casos que se basan en la comparación de casos de individuos no relacionados (afectados o con rasgo positivos) e individuos control no relacionados (no afectados, con rasgo negativo o al azar). Con preferencia, el grupo control está compuesto de individuos no afectados, o con rasgo negativo. Además, el grupo control es comparativo desde el punto de vista étnico con la población del caso. Además, el grupo control con preferencia se aparean con la población de caso con respecto al principal factor de confusión conocido para el rasgo en estudio (por ejemplo apareado por edad para un rasgo dependiente de la edad). En forma ideal, los individuos de las dos muestras se aparean de modo tal que solo difieren en sus estados de enfermedad. Los términos “población con rasgo positivo”, “población del caso” y “población afectada” se usan de forma indistinta en la presente memoria.

Un paso importante en la disección de los rasgos complejos mediante los estudios de asociación es la elección de las poblaciones de control de casos (ver Lander and Schork, 1994). Un paso principal de la elección de las poblaciones de control de casos es la definición clínica de un rasgo o fenotipo dado. Cualquier rasgo genético se puede analizar por el método de asociación propuesto aquí por medio de la selección cuidadosa de los individuos que se incluirán en los grupos fenotípicos con rasgo positivo y con rasgo negativo. Con frecuencia son útiles cuatro criterios: fenotipo clínico, edad del comienzo, antecedentes familiares y gravedad. El procedimiento de selección para los rasgos continuos o cuantitativos (tales como presión sanguínea por ejemplo) incluye la selección de individuos en los extremos opuestos de la distribución fenotípica del rasgo en estudio, de modo que incluya a estas poblaciones con rasgos positivos y rasgos negativos con fenotipos no superpuestos. Con preferencia, las poblaciones de control de casos comprenden poblaciones fenotípicamente homogéneas. Las poblaciones con rasgos positivos y rasgos negativos comprenden poblaciones fenotípicamente uniformes de individuos representando cada uno entre 1 y 98%, con preferencia entre 1 y 80%, con más preferencia entre 1 y 50%, y con más preferencia entre 1 y 30%, con mayor preferencia entre 1 y 20% de la población total en estudio, y con preferencia seleccionada entre los individuos que exhiben fenotipos no superpuestos. Cuando la diferencia es más clara entre los dos rasgos fenotípicos, mayor es la probabilidad de detectar una asociación con los marcadores bialélicos. La selección de estos fenotipos extremadamente diferentes pero relativamente uniformes permite las comparaciones eficientes en los estudios de asociación y la posible detección de diferencias marcadas a nivel genético, siempre que los tamaños de las muestras de las poblaciones en estudio sean de suficiente significación.

En realizaciones preferidas, un primer grupo de entre 50 y 300 individuos con rasgo positivo, con preferencia aproximadamente 100 individuos, se reclutan de acuerdo con sus fenotipos. Se incluye un número similar de individuos control en tales estudios.

Análisis de asociación

La invención también comprende los métodos de detección de la asociación entre un genotipo y un fenotipo, que comprende los pasos de: a) determinar la frecuencia de por lo menos un marcador bialélico relacionado con Canlon en una población con rasgo positivo de acuerdo con un método de genotipificación de la invención; b) determinar la frecuencia de dicho marcador bialélico relacionado con Canlon en una población control de acuerdo con un método de genotipificación de la invención; y c) determinar si existe una asociación estadísticamente significativa entre dicho genotipo y dicho fenotipo. Además, los métodos de detección de una asociación entre un genotipo y un fenotipo de la invención abarcan los métodos con alguna limitación descritos en esta revelación o los siguientes especificados solo o en alguna combinación: opcionalmente, donde dicho marcador bialélico relacionado con Canlon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A18, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, donde dicho marcador bialélico relacionado con Canlon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A17, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, donde dicho marcador bialélico relacionado con Canlon se selecciona del grupo que consiste en A12 y A16, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, dicha población puede ser una población con rasgo negativo o una población al azar; opcionalmente, cada uno de dichos pasos de genotipificación a) y b) se pueden realizar una muestra biológica combinada derivada de cada una de dichas poblaciones; cada uno de dichos pasos de genotipificación a) y b) se pueden realizar en forma separada en muestras biológicas derivadas de cada individuo en dicha población o una submuestra del mismo.

La estrategia general para realizar los estudios de asociación mediante marcadores bialélicos derivados de una región que porta un gen candidato es para barrer dos grupos de individuos (poblaciones de control de casos) con el fin de medir y comparar estadísticamente las frecuencias de los alelos de los marcadores bialélicos de la presente invención en ambos grupos.

Si se identifica una asociación estadísticamente significativa con un rasgo para por lo menos una o más de los marcadores bialélicos analizados, se puede asumir que: el alelo asociado es directamente responsable para causar el rasgo (es decir, el alelo asociado es alelo causante del rasgo), o más probablemente el alelo asociado está en desequilibrio de conexión con el alelo causante del rasgo. Las características específicas del alelo asociado con respecto a la función del gen candidato usualmente brindan una comprensión adicional de la relación entre el alelo asociado y el rasgo (causal o en desequilibrio de conexión). Si la evidencia indica que el alelo asociado dentro del gen candidato es más probablemente no el alelo que causa el rasgo sino está en desequilibrio de conexión con el rasgo real del alelo que causa el rasgo, luego el alelo que causa el rasgo se puede hallar por secuenciación de la vecindad del marcador asociado y se realiza estudios de asociación adicional con los polimorfismos que se revelan de una manera iterativa.

Los estudios de asociación usualmente se ejecutan en dos pasos sucesivos. En una primera fase, las frecuencias de un número reducido de marcadores bialélicos del gen candidato se determinan en las poblaciones con rasgo positivo y control. En una segunda fase del análisis, la posición de los locus genéticos responsables para el rasgo dado que se refina adicionalmente mediante una densidad superior densidad de marcadores de la región relevante Sin embargo si el gen candidato en estudio es relativamente pequeño de longitud, como en el caso de CanIon, puede ser suficiente una fase única para establecer asociaciones significativas.

Análisis de haplotipos

Como se describió anteriormente, cuando un cromosoma que porta un alelo de la enfermedad primero aparece en una población como resultado de una mutación o migración, el alelo mutante necesariamente reside en un cromosoma que tiene un conjunto de marcadores ligados: el haplotipo ancestral. Este haplotipo se puede rastrear través de poblaciones y se puede analizar su asociación estadística con un rasgo dado. La complementación de los estudios de asociación de punto único (alélico) con los estudios de asociación de puntos múltiples también llamado estudios de haplotipos aumenta el poder estadístico de los estudios de asociación. De ese modo, un estudio de asociación de haplotipos permite definir la frecuencia y el tipo del haplotipo portador ancestral. Un análisis de haplotipo es importante ya que aumenta el poder estadístico de un análisis que incluye a los marcadores individuales.

En una primera etapa de un análisis de frecuencia de haplotipo, se determina la frecuencia de los posibles haplotipos sobre la base de diferentes combinaciones de los marcadores bialélicos identificados de la invención. La frecuencia de haplotipos luego se compara con las distintas poblaciones de individuos con rasgos positivos y controles. El número de individuos con rasgos positivos, que se deben someter a este análisis para obtener resultados estadísticamente significativos usualmente varía entre 30 y 300, con un número preferido de individuos que varía entre 50 y 150. Las mismas consideraciones se aplican al número de individuos no afectados (o control al azar) usado en este estudio. Los resultados de este primer análisis proporciona las frecuencias de haplotipo en las poblaciones de casos y controles, para cada frecuencia de haplotipo evaluada se calculan un valor p y una relación de probabilidades. Si se halla una asociación estadísticamente significativa se puede aproximar el riesgo relativo para un individuo que porta el haplotipo dado de un ser afectado con el rasgo en estudio.

Los métodos de detección de una asociación entre un haplotipo y un fenotipo comprende los pasos de: a) estimar la frecuencia de por lo menos un haplotipo en una población con rasgo positivo, de acuerdo con un método de la invención para estimar la frecuencia de un haplotipo; b) estimar la frecuencia de dicho haplotipo en una población control, de acuerdo con el método de la invención para estimar la frecuencia de un haplotipo y c) determinar si existe una asociación estadísticamente significativa entre dicho haplotipo y dicho fenotipo. Además, los métodos para detectar una asociación entre un haplotipo y un fenotipo de la invención abarcan los métodos con alguna limitación adicional descripta en esta revelación, o los siguientes: opcionalmente, donde dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A18, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, donde dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A1 a A17, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, donde dicho marcador bialélico relacionado con CanIon se selecciona del grupo que consiste en A12 y A16, y los complementos del mismo, u opcionalmente los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con el mismo; opcionalmente, dicha población control es una población con rasgo negativo, o una población al azar. Opcionalmente, dicho método comprende los pasos adicionales de la determinación del fenotipo en dicha población con rasgo positivo y dichas poblaciones control antes del paso c).

Análisis de interacciones

Los marcadores bialélicos adecuados para el uso en la presente invención se pueden usar también para identificar patrones de los marcadores bialélicos asociados con rasgos detectables que resultan de las interacciones poligénicas. El análisis de la interacción genética entre los alelos en loci no conectados requiere la genotipificación del individuo mediante las técnicas descriptas en la presente memoria. El análisis de la interacción alélica entre un conjunto seleccionado de marcadores bialélicos con un nivel apropiado de significación estadística se puede considerar como un

análisis de haplotipos. El análisis de la interacción comprende la estratificación de las poblaciones de casos y controles con respecto a un haplotipo dado para el primer locus y la realización del análisis de haplotipo con el segundo locus con cada subpoblación.

5 Los métodos estadísticos usados en los estudios de asociación se describen adicionalmente a continuación.

Pruebas de conexión en presencia de asociación

10 Los marcadores bialélicos adecuados para el uso en la presente invención se pueden usar adicionalmente en TDT (prueba de transmisión/desequilibrio). Las pruebas de TDT para la conexión y la asociación no están afectadas por la estratificación de la población. La TDT requiere datos para los individuos afectados y sus progenitores o datos de hermanos no afectados en vez de los progenitores (ver Spielmann S. *et al.*, 1993; Schaid D.J. *et al.*, 1996, Spielmann S. and Ewens W.J., 1998). Tales pruebas combinadas generalmente reducen los errores falsos positivos producidos por análisis separado.

15 *Métodos estadísticos*

En general, se pueden usar cualquier método conocido en la técnica para probar si un rasgo y un genotipo muestra una correlación estadísticamente significativa.

20 1) *Métodos de análisis de conexión*

Los métodos estadísticos y los programas de computación útiles para el análisis de ligación son bien conocidos por los expertos en la técnica (ver Terwilliger J.D. and Ott J., 1994; Ott J., 1991).

25 2) *Métodos para estimar las frecuencias de haplotipos en una población*

Como se describió anteriormente, cuando se clasifican los genotipos, con frecuencia no es posible distinguir heterocigotas de modo que las no se pueden inferir fácilmente las frecuencias del haplotipo. Cuando no se conoce la fase gamética, se pueden estimar las frecuencias del haplotipo a partir de los datos genotípicos del multilocus. Se puede usar cualquier método conocido por los expertos en la técnica para estimar las frecuencias del haplotipo (ver Lange K., 1997; Weir, B.S., 1996). Con preferencia, las frecuencias del haplotipo de probabilidad máxima se computan mediante un algoritmo de expectativa-maximización (EM) (ver Dempster *et al.*, 1977; Excoffier L. y Slatkin M., 1995). Este procedimiento es un proceso iterativo que se propone obtener estimados de probabilidad máxima de las frecuencias del haplotipo de los datos del genotipo del multi-locus cuando la fase gamética es desconocida. Las estimaciones del haplotipo se realizan usualmente por la aplicación de un algoritmo EM que usa por ejemplo el programa EM-HAPLO (Hawley M. E. *et al.*, 1994) o el programa Arlequin (Schneider *et al.*, 1997). El algoritmo EM es un método de estimación iterativo generalizado para calcular probabilidad máxima que se describe brevemente a continuación.

40 Se advierte que en la presente sección, "Métodos para estimar frecuencias de haplotipo en una población" los fenotipos se referirán a los genotipos de locus múltiples con una fase haplotípica desconocida. Los genotipos se referirán a los genotipos de locus múltiples con una fase haplotípica desconocida.

Suponga que se tiene una muestra de N individuos no relacionados tipificados para los marcadores K. Los datos observados son de los fenotipos del locus K de la fase desconocida que se pueden clasificar con fenotipos F diferentes. Además, suponga que tenemos haplotipos posibles H (en el caso de los marcadores bialélicos K, nosotros tenemos el número máximo de haplotipos posibles $H = 2^K$).

50 fenotipo j con c_j genotipos posibles, nosotros tenemos:

$$P_j = \sum_{i=1}^{c_j} P(\text{genotipo}(i)) = \sum_{i=1}^{c_j} P(h_k, h_l). \quad \text{Ecuación 1}$$

55 donde P_j es la probabilidad del fenotipo f^{th} y $P(h_k, h_l)$ es la probabilidad del genotipo compuesto de los haplotipos h_k y h_l . Bajo apareamiento al azar (es decir, equilibrio de Hardy-Weinberg), $P(h_k h_l)$ se expresa como:

$$\begin{aligned} P(h_k, h_l) &= P(h_k)^2 \text{ para } h_k = h_l, \\ P(h_k, h_l) &= 2P(h_k)P(h_l) \text{ para } h_k \neq h_l. \end{aligned} \quad \text{Ecuación 2}$$

60 El algoritmo EM esta compuesto de los siguientes pasos: primero, se estiman las frecuencias del genotipo a partir de un conjunto de valores iniciales de frecuencias de haplotipo. Estas frecuencias de haplotipo se indican $P_1^{(0)}, P_2^{(0)}, P_3^{(0)}, \dots, P_H^{(0)}$. Los valores iniciales para las frecuencias de haplotipo se pueden obtener a partir de un número generador aleatorio o de alguna otra manera bien conocida en la técnica. Este paso se refiere al paso de Expectativa. El próximo paso del método, llamado paso de Maximización, consiste en usar los estimados para las frecuencias de genotipos para recalcular las frecuencias de haplotipo. Los primeros estimados de la frecuencia de haplotipo por iteración se indican como $P_1^{(1)}, P_2^{(1)}, P_3^{(1)}, \dots, P_H^{(1)}$. En general, el paso de Expectativa en la n -ésima iteración consiste en el cálculo de la

probabilidad de colocar cada fenotipo en los diferentes genotipos posibles basados en las frecuencias de haplotipo de la iteración previa:

$$P(h_k, h_l)^{(s)} = \frac{n_j}{N} \left[\frac{P_j(h_k, h_l)^{(s)}}{P_j} \right], \quad \text{Ecuación 3}$$

donde n_j , es el número de individuos con el fenotipo j^{th} y $P_j(h_k, h_l)^{(s)}$ es la probabilidad del genotipo h_k, h_l en el fenotipo j . En el paso de Maximización, que es equivalente al método de recuento de genes (Smith, *Ann. Hum. Genet.*, 21:254-276, 1957), las frecuencias de haplotipo se reestiman sobre la base de los estimados del genotipo:

$$P_i^{(s+1)} = \frac{1}{2} \sum_{j=1}^F \sum_{i=1}^{c_j} \delta_{it} P_j(h_k, h_l)^{(s)}. \quad \text{Ecuación 4}$$

Aquí, δ , es una variable indicadora que calcula el número de apariciones de ese haplotipo t presente en el i -ésimo genotipo; toma los valores de 0, 1 y 2.

Las iteraciones E-M cesan cuando se la alcanzado el siguiente criterio. Empleando la teoría de estimación de probabilidad (MLE), se supone que los fenotipos j se distribuyen de forma multinomial. En cada iteración s , se puede calcular la función de probabilidad L . La convergencia se obtiene cuando la diferencia del log de la probabilidad entre dos iteraciones consecutivas es menor que algún número pequeño, con preferencia 10^{-7} .

3) Métodos para calcular desequilibrio de conexión entre marcadores

Se pueden usar varios métodos para calcular el desequilibrio de conexión entre dos posiciones genéticas, en la práctica el desequilibrio de conexión se mide por la aplicación de una prueba de asociación estadística para los datos del haplotipo tomados de una población.

El desequilibrio de conexión entre cualquier par de marcadores bialélicos que comprenden por lo menos uno de los marcadores bialélicos de la presente invención (M_i, M_j) que presenta los alelos (a_i/b_i) en el marcador M_i y alelos (a_j/b_j) en el marcador M_j se pueden calcular para cada combinación de alelos ($a_i a_i; a_i b_i; b_i a_j$ y $b_i b_j$), de acuerdo con la fórmula de Piazza:

$$\Delta_{aij} = \sqrt{\theta 4} - \sqrt{(\theta 4 + \theta 3)(\theta 4 + \theta 2)}, \text{ donde:}$$

$\theta 4 = --$ = frecuencia de genotipos que no tienen alelos a_i en M_i , y no tienen alelo a_i en M_j

$\theta 3 = -+$ = frecuencia de genotipos que no tienen alelos a_i en M_i y tienen alelos a_i en M_j

$\theta 2 = ++$ = frecuencia de genotipos que tienen alelos a_i en M_i y no tienen alelos a_i en M_j

El desequilibrio de conexión (LD) entre pares de marcadores bialélicos (M_i, M_j) también se puede calcular para cada combinación de alelos ($a_i a_i; a_i b_i; b_i a_j$ y $b_i b_j$), de acuerdo con el estimado de probabilidad máxima (MLE) para delta (el coeficiente de desequilibrio genotípico del compuesto), como se describe en Weir (Weir B. S., 1998). El MLE para el desequilibrio de conexión del compuesto es:

$$D_{aij} = (2n_1 + n_2 + n_3 + n_4/2)/N - 2(pr(a_i) \cdot pr(a_j))$$

Donde $n_1 = \Sigma$ de fenotipo ($a_i/a_i, a_j/a_j$), $n_2 = \Sigma$ de fenotipo ($a_i/a_i, a_j/b_j$), $n_3 = \Sigma$ de fenotipo ($a_j/a_i, a_j/a_j$), $n_4 = \Sigma$ de fenotipo ($a_j/b_i, a_j/b_j$) y N es el número de individuos de la muestra.

Esta fórmula permite el desequilibrio de conexión entre los alelos estimados cuando sólo están disponibles los datos del genotipo y no del haplotipo.

Otro medio de calcular el desequilibrio de conexión entre marcadores es el siguiente. Para una cupla de marcadores bialélicos, $M_i (a/b)$ y $M_j (a_j/b_j)$, se ajustada al equilibrio de Hardy-Weinberg, se puede estimar las cuatro frecuencias de haplotipo posibles en un población dada de acuerdo con el método descripto anteriormente.

La estimación del desequilibrio gamético entre a_i y a_j es simplemente

$$D_{aij} = pr(\text{haplotipo}(a_i, a_j)) - pr(a_i) \cdot pr(a_j).$$

Donde $pr(a_i)$ es la probabilidad del alelo a_i y $pr(a_j)$ es la probabilidad del alelo a_j y donde $pr(\text{haplotipo}(a_i, a_j))$ se estima como en la Ecuación 3 anterior.

Para una cupla de marcadores bialélicos solo es necesaria una medida del desequilibrio para describir la asociación entre M_i y M_j

Luego el valor normalizado de los anteriores se calcula con las siguientes fórmulas:

$$D'_{aij} = D_{aij} / \max(-\text{pr}(a_i) \cdot \text{pr}(a_j), -\text{pr}(b_i) \cdot \text{pr}(b_j)) \quad \text{con } D_{aij} < 0$$

$$D'_{aij} = D_{aij} / \max(\text{pr}(b_i) \cdot \text{pr}(a_j), \text{pr}(a_i) \cdot \text{pr}(b_j)) \quad \text{con } D_{aij} > 0$$

Los expertos apreciarán fácilmente que se pueden usar otros métodos de cálculo de desequilibrio de conexión.

El desequilibrio de conexión entre un conjunto de marcadores bialélicos que tienen una tasa de heterocigosidad adecuada se puede determinar por genotipificación entre 50 y 1000 individuos no relacionados, con preferencia entre 75 y 200, con más preferencia alrededor de 100.

4) Pruebas de asociación

Los métodos para establecer la significación estadística de una correlación entre un fenotipo y un genotipo, en este caso un alelo de un marcador bialélico o un haplotipo compuesto de tales alelos, se pueden determinar por alguna de las pruebas estadísticas conocidas en la técnica y con cualquier umbral aceptado de significación estadística requerida. La aplicación de métodos y umbrales de significación particulares son bien conocidos por los que tiene experiencia ordinaria en la técnica.

La prueba de asociación se realiza por la determinación de la frecuencia de un alelo del marcador bialélico de poblaciones de casos y controles y se comparan estas frecuencias con una prueba estadística para determinar si una diferencia estadísticamente significativa de la frecuencia indicaría una correlación entre el rasgo y el alelo del marcador bialélico en estudio. De forma similar, se realiza un análisis de haplotipo por estimación de las frecuencias de todos los posibles haplotipos para un conjunto de marcadores bialélicos dados en poblaciones de control de casos, y la comparación de estas frecuencias con una prueba estadística para determinar si esta es correlación estadísticamente significativa entre el haplotipo y el fenotipo (rasgo) en estudio. Se puede usar cualquier herramienta estadística útil para probar la asociación estadísticamente significativa entre un genotipo y un fenotipo. Con preferencia la prueba estadística empleada es la prueba de chi cuadrado con un grado de libertad. Se calcula el valor P (el valor P es la probabilidad estadística grande o más grande que la observada podría ocurrir por casualidad).

Significación estadística

En realizaciones preferidas, la significación para propósitos diagnósticos, tanto como una base posible para pruebas diagnósticas adicionales o como punto de partida preliminar para la terapia preventiva precoz, el valor p relacionado con una asociación del marcador bialélico es con preferencia aproximadamente 1×10^{-2} o menor, con más preferencia aproximadamente 1×10^{-4} o menos, para un análisis marcador bialélico único y aproximadamente 1×10^{-3} o menor, aun con más preferencia 1×10^{-6} o menor y con mayor preferencia de aproximadamente 1×10^{-8} o menor, para un análisis de haplotipos que incluye dos o más marcadores. Se considera que estos valores son aplicables a cualquier estudio de asociación que involucra combinaciones de marcadores simples y múltiples.

El experto puede usar los rangos de valores expuestos anteriormente como punto de partida con el fin de llevar a cabo los estudios de asociación con marcadores bialélicos de la presente invención. Continuando con esto, las asociaciones significativas entre los marcadores bialélicos de la presente invención y un rasgo se pueden revelar y usar con propósitos de diagnóstico e identificación de fármacos.

Permutación fenotípica

Con el fin de confirmar la significación estadística de la primer etapa del análisis de haplotipo descrita anteriormente, sería adecuado realizar análisis adicionales en los cuales los datos de genotipificación de los individuos de los casos y controles se mezclan y aleatorizan con respecto al rasgo fenotípico. Cada dato de genotipificación individual se destina aleatoriamente a dos grupos, que contienen el mismo número de individuos como las poblaciones de casos y controles usadas para compilar los datos obtenidos en la primer etapa. Una segunda etapa del análisis de haplotipo se ejecuta con preferencia en estos grupos artificiales, con preferencia para los marcadores incluidos en el haplotipo de la primera etapa del análisis que muestra mayor coeficiente de riesgo relativo. Este experimento se reitera con preferencia por lo menos entre 100 y 10000 veces. Las iteraciones repetidas permiten la determinación de la probabilidad para obtener el haplotipo ensayado por casualidad.

Evaluación de la asociación estadística

Para tratar el problema de los falsos positivos se puede realizar análisis similar con las mismas poblaciones de casos y controles en regiones genómicas aleatorias. Los resultados de las regiones aleatorias y la región candidata se comparan como se describe en una solicitud de Patente Estadounidense Provisional titulada "Métodos, programas

de computación y aparatos para la identificación de regiones genómicas que albergan un gen asociado con un rasgo detectable”, U.S. Serie Número 60/107,986, presentada el 10 de noviembre de 1998.

5) Evaluación de factores de riesgo

La asociación entre un factor de riesgo (en epidemiología genética el factor de riesgo es la presencia o ausencia de un determinado alelo o haplotipo en el locus del marcador del locus) y una enfermedad se evalúa por la relación de probabilidad (OR) y por el riesgo relativo (RR). Si $P(R^+)$ es la probabilidad de desarrollo de la enfermedad en individuos con R y $P(R^-)$ es la probabilidad para los individuos sin el factor de riesgo, luego el riesgo relativo es simplemente la relación de las dos probabilidades, o sea:

$$RR = P(R^+)/P(R^-)$$

En los estudios de control de casos, no se pueden obtener medidas directas del riesgo relativo debido al diseño del muestreo. Sin embargo, la relación de probabilidad permite una buena aproximación del riesgo relativo para las enfermedades de baja incidencia y se puede calcular:

$$OR = \left[\frac{F^+}{1 - F^+} \right] / \left[\frac{F^-}{1 - F^-} \right]$$

$$OR = (F^+ / (1 - F^+)) / (F^- / (1 - F^-))$$

F^+ es la frecuencia de la exposición al factor de riesgo en los casos y F^- es la frecuencia de la de la exposición al factor de riesgo en los controles. F^+ y F^- se calculan mediante las frecuencias alélicas o de haplotipo del estudio y depende adicionalmente del modelo genético subyacente (dominante, recesivo, aditivo...).

Se puede estimar adicionalmente el riesgo atribuible (AR) que describe la proporción de individuos de una población que presentan un rasgo debido a un factor de riesgo dado. Esta medida es importante para cuantificar el papel de un factor específico en la etiología de la enfermedad y en términos de salud pública el impacto de un factor de riesgo. La importancia para la salud pública de esta medida reside en la estimación de la proporción de los casos de enfermedad en la población que puede ser prevenida si la exposición de interés estuviera ausente. AR se determina como sigue:

$$AR = P_E(RR - 1) / (P_E(RR - 1) + 1)$$

AR es el riesgo atribuible a un alelo del marcador bialélico o un haplotipo del marcador bialélico. P_E es la frecuencia de exposición de un alelo o un haplotipo en la población general; y RR es el riesgo relativo que, está aproximado con la relación de probabilidad cuando el rasgo en estudio presenta una incidencia relativamente baja en la población general.

Identificación de los marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con los marcadores bialélicos de la invención

Una vez que se ha identificado un primer marcador bialélico en una región genómica de interés, el profesional experto en la técnica, empleando las enseñanzas de la presente invención, puede identificar fácilmente marcadores bialélicos en desequilibrio de conexión con este primer marcador. Como se mencionó antes cualquier marcador en desequilibrio de conexión con un primer marcador asociado con un rasgo estará asociado con el rasgo. Por eso, una vez que se ha demostrado una asociación entre un marcador bialélico dado y un rasgo, el descubrimiento de los marcadores bialélicos asociados con este rasgo es de gran interés con el fin de aumentar la densidad de marcadores bialélicos en esta región particular. El gen o mutación causal se hallará en la vecindad del marcador o conjunto de marcadores que muestran la mayor correlación con el rasgo.

La identificación de marcadores adicionales en desequilibrio de conexión con un marcador dado incluye:

(a) amplificar le el fragmento genómico que comprende un primer marcador bialélico a partir de una pluralidad de individuos;

(b) identificar el segundo de los marcadores bialélicos en la región genómica que alberga dicho primer marcador bialélico;

(c) realizar un análisis en desequilibrio de conexión entre dicho primer marcador bialélico y segundo marcador bialélico; y

(d) seleccionar dichos segundos marcadores bialélicos que están en desequilibrio de conexión con dicho primer marcador. Las subcombinaciones comprenden los pasos (b) y (c) también están contempladas.

Los métodos para identificar marcadores bialélicos y realizar el análisis de desequilibrio de conexión se describen en la presente memoria y pueden ser llevados a cabo por los expertos sin excesiva experimentación. La presente invención también trata de los marcadores bialélicos que está en desequilibrio de conexión con los marcadores bialélicos A1 a A18 y de los que se espera que presenten características similares en términos de asociación respectiva con un rasgo dado.

Identificación de mutaciones funcionales

Las mutaciones del gen de CanIon que son responsables de un fenotipo o rasgo detectable se pueden identificar por la comparación de las secuencias del gen de CanIon de los individuos con rasgo positivo y control. Una vez que se confirma una asociación positiva con un marcador bialélico de la presente invención, se puede realizar un barrido del locus identificado para buscar mutaciones. En una realización preferida, las regiones funcionales tales como exones y sitios de empalme, promotores y otras regiones regulatorias del gen de CanIon se barren en busca de mutaciones. En una realización preferida la secuencia del gen de CanIon se compara en individuos con rasgo positivo y controles. Con preferencia, los individuos con rasgo positivo llevan el haplotipo que se ha demostrado que está asociado con el rasgo y los individuos con rasgo negativo no portan el haplotipo o alelo asociado con el rasgo. El rasgo o fenotipo detectable puede comprender una variedad de manifestaciones de la función de CanIon alterada.

El procedimiento de detección de la mutación esencialmente similar al que se usa para la identificación del marcador bialélico. El método usado para detectar tales mutaciones generalmente comprende los siguientes pasos:

- amplificación de la región del gen de CanIon que comprende un marcador bialélico o un grupos de marcadores bialélicos asociados con el rasgo de las muestras de ADN de los pacientes con rasgo positivo y los controles del rasgo negativo;
- secuenciación de la región amplificada;
- comparación de las secuencias de ADN de los individuos con rasgo positivo y los controles;
- determinación de las mutaciones específicas a los pacientes con rasgo positivo.

En una realización, dicho marcador bialélico se selecciona del grupo que consiste en A1 a A18, y los complementos del mismo. Se prefiere que los polimorfismos candidatos luego se verifiquen por la identificación de una población mayor de casos y controles por medio de cualquier procedimiento de genotipificación tal como los que se describen en la presente memoria, con preferencia mediante una técnica de microsecuenciación en un formato de ensayo individual. Los polimorfismos se consideran como mutaciones candidatas cuando están presentes en los casos y controles en frecuencias compatibles con los resultados de asociación esperados. Los polimorfismos se consideran como mutaciones candidatas "causantes del rasgo" cuando exhiben una correlación estadísticamente significativa con el fenotipo detectable.

Marcadores bialélicos de la invención en métodos de diagnósticos genéticos

La secuencia del ácido nucleico del canal iónico y los marcadores bialélicos adecuados para el uso en la presente invención también se pueden usar para desarrollar pruebas diagnósticas que permiten identificar individuos que expresan un rasgo detectable como resultado de un genotipo específico o individuos cuyos genotipos los ponen en riesgo de desarrollar un rasgo detectable con posterioridad en el tiempo. Tal diagnóstico puede ser útil en la estadificación, control, pronósticos y/o terapia profiláctica o curativa de numerosas enfermedades o afecciones que incluyen esquizofrenia, trastorno bipolar y otros trastornos del SNC tales como epilepsia y trastornos del dolor, afecciones cardiovasculares tales como enfermedad cardíaca, hipertensión, arritmias, y numerosas enfermedades y afecciones.

Las técnicas diagnósticas de la presente invención pueden emplear una variedad de metodologías para determinar si un sujeto de ensayo tiene un patrón del marcador bialélico asociado con un riesgo aumentado de desarrollo de un rasgo detectable o si el individuo sufre de un rasgo detectable como resultado de una mutación particular, e incluyen a los métodos que permiten el análisis de los cromosomas individuales para tipificar en haplotipos, tales como estudios familiares, análisis del ADN de esperma o híbridos somáticos.

La presente invención proporciona métodos diagnósticos para determinar si un individuo está en riesgo de desarrollar una enfermedad o sufre de esa enfermedad como resultado de una mutación o un polimorfismo del gen del canal iónico. La presente invención también proporciona métodos para determinar si un individuo tiene susceptibilidad a la esquizofrenia y trastorno bipolar o a cualquiera de las otras afecciones relacionadas con los canales de calcio conocidas en la técnica o descrita en la presente memoria.

Estos métodos incluyen obtener una muestra de ácido nucleico del individuo y determinar si la muestra de ácido nucleico contiene por lo menos un alelo o por lo menos un haplotipo del marcador bialélico, indicador de un riesgo del desarrollo del rasgo o que indica que el individuo expresa el rasgo como resultado de la posesión de un polimorfismo o mutación del canal iónico particular (alelo que causa el rasgo).

Con preferencia, en tales métodos diagnósticos, se obtiene una muestra de ácido nucleico del individuo y esta muestra se genotipifica mediante los métodos descritos anteriormente en “Métodos de genotipificación de muestras de ADN para marcadores bialélicos”. Los diagnósticos se pueden basar en un marcador bialélico único o un grupo de marcadores bialélicos.

En cada uno de estos métodos, se obtiene una muestra de ácido nucleico del sujeto de ensayo y se determina el patrón del marcador bialélico de uno o más de los marcadores bialélicos A1 a A18.

En una realización, se realiza una amplificación PCR en la muestra de ácido nucleico para amplificar regiones en las cuales se han identificado polimorfismos asociados con un fenotipo detectable. Los productos de amplificación se secuencian para determinar si el individuo posee uno o más polimorfismos asociados con un fenotipo detectable. Los cebadores usados para generar los productos de amplificación pueden comprender los cebadores listados en la Tabla 1. Alternativamente, la muestra de ácido nucleico se somete a las reacciones de microsecuenciación descritas anteriormente para determinar si el individuo posee uno o más polimorfismos del canal iónico asociados con un fenotipo detectable que resulta de una mutación o un polimorfismo del gen del canal iónico. Los cebadores usados en las reacciones de microsecuenciación pueden incluir los cebadores listados en la Tabla 4. En otra realización, la muestra de ácido nucleico se pone en contacto con una o más sondas de oligonucleótido específicas que específicamente hibridiza a uno o más alelos del canal asociados con un fenotipo detectable. Las sondas usadas en el ensayo de hibridación puede incluir las sondas listadas en la Tabla 3. En otra realización, la muestra de ácido nucleico se pone en contacto con un segundo oligonucleótido del canal iónico capaz de producir un producto de amplificación cuando se usa con el oligonucleótido específico del alelo en una reacción de amplificación. La presencia de un producto de amplificación en la reacción de amplificación indica que el individuo posee uno o más alelos del canal iónico asociados con un fenotipo detectable.

En una realización preferida se determina la identidad del nucleótido presente en por lo menos un, marcador bialélico seleccionado del grupo que consiste en A1 a A18 y los complementos del mismo y los complementos del mismo, y el rasgo detectable es esquizofrenia y trastorno bipolar. Los kits de diagnóstico comprenden los polinucleótidos descritos en la presente memoria.

Estos métodos de diagnóstico son extremadamente valiosos ya que estos se pueden usar, en determinadas circunstancias para iniciar tratamientos preventivos o permitir a un individuo que porta un haplotipo significativo prever signos de advertencia tales como síntomas menores.

Los métodos diagnósticos, que analizan y predicen la respuesta a un fármaco o efectos secundarios a un fármaco, se pueden usar para determinar si un individuo se deberá tratar con un fármaco particular. Por ejemplo, si el diagnóstico indica una probabilidad que un individuo responderá en forma positiva al tratamiento con un fármaco particular, el fármaco se puede administrar al individuo. A la inversa, si el diagnóstico indica que un individuo probablemente responda en forma negativa al tratamiento con un fármaco particular, se puede prescribir un tipo de tratamiento alternativo. Una respuesta negativa se puede definir tanto como la ausencia de una respuesta eficaz como la presencia de efectos secundarios tóxicos.

Los ensayos clínicos de fármacos representan otra aplicación para los marcadores adecuados para el uso en la presente invención. Uno o más marcadores indicadores de la respuesta a un agente que actúa contra la esquizofrenia o trastorno bipolar u otra afección relacionada con los canales de calcio o a los efectos secundarios de un agente que actúa contra la esquizofrenia o trastorno bipolar u otra afección relacionada con los canales de calcio, se pueden identificar mediante los métodos descritos anteriormente. A partir de entonces, los potenciales participantes en los ensayos clínicos de tal agente se pueden seleccionar para identificar a los individuos que más probablemente responderán al fármaco y excluir a los que probablemente experimenten efectos secundarios. De esta manera, se puede evaluar efectividad del tratamiento del fármaco en individuos que responden positivamente al fármaco sin reducir la medición como resultado de la inclusión de individuos que poco probablemente respondan en forma positiva en el estudio sin el riesgo de problemas de seguridad indeseable.

En realizaciones particularmente preferidas, el rasgo analizado mediante el presente diagnóstico es esquizofrenia o trastorno bipolar. Sin embargo, la presente invención también comprende cualquier a de los métodos de prevención, diagnóstico, pronóstico y tratamiento descrito en la presente memoria mediante los marcadores bialélicos de la invención en los métodos de prevención, diagnóstico, control y tratamiento de los trastornos relacionados, en particular trastornos del SNC relacionados. A modo de ejemplo, los trastornos relacionados pueden comprender trastornos psicóticos, trastornos del estado de ánimo, autismo, dependencia de sustancias y alcoholismo, trastornos del dolor, epilepsia, retardo mental y otras enfermedades psiquiátricas que incluyen trastornos cognitivos, ansiedad, alimentación, control del impulso y de personalidad, como se define en la clasificación del Manual Diagnóstico y estadística de los trastornos mentales cuarta edición (DSM-IV). Otros trastornos incluyen trastornos cardiovasculares tales como angina, hipertensión o arritmias.

Vectores recombinantes

El término “vector” se usa en la presente memoria para designar tanto una molécula de ADN o ARN circular o lineal, que es bicatenaria o monocatenaria y que comprende por lo menos un polinucleótido de interés que se trata de transferir a una célula hospedante en un organismo hospedador unicelular o multicelular.

Es adecuado para el uso en la presente invención una familia de vectores recombinantes que comprenden un polinucleótido regulatorio derivado de la secuencia genómica de CanIon y/o polinucleótido codificador de la secuencia genómica de CanIon o la secuencia de ADNc.

Generalmente, un vector recombinante de la invención puede comprender a cualquiera de los polinucleótidos descritos en la presente memoria, que incluyen las secuencias regulatorias, secuencias codificadoras y construcciones de polinucleótidos, además de cualquier cebador o sonda de CanIon definidos anteriormente. Más particularmente, los vectores recombinantes adecuados para el uso en la presente invención pueden comprender cualquiera de los polinucleótidos descritos en la sección "Secuencias genómicas del gen de CanIon", la sección "Secuencias de ADNc de CanIon", sección "Regiones codificadoras", sección "Construcciones de polinucleótidos" y la sección "Sondas y cebadores oligonucleotídicos".

En una realización preferida, un vector recombinante adecuado para usar en la invención se usa para amplificar el polinucleótido insertado derivado de una secuencia genómica de la SEC ID No 1 a 3 o 6 o un ADNc de CanIon, por ejemplo el ADNc de la SEC ID No 4 en una célula hospedante adecuada, este polinucleótido se amplifica cada vez que el vector recombinante se replica.

Una segunda realización preferida adecuada para el uso de los vectores recombinantes de acuerdo con la invención comprende los vectores de expresión que comprenden un polinucleótido regulatorio o un ácido nucleico codificador de la invención o ambos. En ciertas realizaciones, los vectores de expresión se emplean para expresar el polipéptido de CanIon que se pueden purificar luego y por ejemplo se usan en ensayos de identificación de ligandos o como inmunógeno con el fin de originar anticuerpos específicos dirigidos contra la proteína de CanIon. En otras realizaciones, los vectores de expresión se usan para construir animales transgénicos y también para terapia génica. La expresión requiere que las señales apropiadas se proporcionen en los vectores, dichas señales incluyen diferentes elementos regulatorios, tales como potenciadores/promotores de las fuentes virales y de mamíferos que conducen la expresión de los genes de interés en las células hospedantes. Los marcadores de selección del fármaco dominante para establecer clones permanentes y estables que expresan los productos se incluyen generalmente en los vectores de expresión de la invención, ya que ellos son elementos que unen la expresión de los marcadores de selección del fármaco al expresión del polipéptido.

Más particularmente adecuados para el uso en la presente invención son los vectores de expresión que incluyen ácidos nucleicos que codifican una proteína de CanIon, con preferencia la proteína de CanIon de la secuencia de aminoácidos de la SEC ID No 5 o variantes o fragmentos de las mismas.

Es adecuado para usar en la invención un vector de expresión recombinante útil para la expresión de la secuencia codificadora de CanIon, donde dicho vector comprende un ácido nucleico de la SEC ID No 4.

Los vectores recombinantes que comprenden un ácido nucleico que contiene un marcador bialélico relacionado con CanIon es también parte de la invención. En una realización preferida, dicho marcador bialélico se selecciona del grupo que consiste en A1 a A18, y los complementos del mismo.

Algunos de los elementos que se pueden hallar en los vectores de la presente invención se describen con más detalle en las siguientes secciones.

Son adecuados para el uso en la presente invención las células hospedantes primarias, secundarias y recombinantes homológamente inmortalizadas de origen vertebrado, con preferencia origen mamífero en particular origen humano, que ha sido manipulado genéticamente a: a) polinucleótidos exógeno insertos (heterólogos) en ADN cromosómico endógeno de un gen blanco, b) suprimir el ADN cromosómico endógeno y/o c) reemplazar el ADN cromosómico endógeno con los polinucleótidos exógenos. Las inserciones, supresiones y/o reemplazos de las secuencias de polinucleótidos pueden ser las secuencias codificadoras del gen blanco y/o las regiones regulatorias, tales como las secuencias del promotor y potenciador, operativamente asociados con el gen blanco.

Es adecuado para el uso en la presente invención un método de preparación de una célula hospedante recombinada homológamente *in vitro* o *in vivo*, donde la expresión de un gen blanco que no se expresa normalmente en la célula está alterada. Con preferencia la alteración causa la expresión del gen blanco en condiciones normales o en condiciones adecuadas para producir el polipéptido codificado por el gen blanco. El método comprende los pasos de: (a) transfectar la célula *in vitro* o *in vivo* con una construcción del polinucleótido, la construcción del polinucleótido que comprende: (i) una secuencia seleccionada; (U) a secuencia regulatoria y/o una secuencia codificadora; y (iii) un sitio dador de empalme no apareado, si fuera necesario, de este modo se produce una célula transfectada; y (b) mantener la célula transfectada *in vitro* o *in vivo* en condiciones apropiadas para la recombinación homóloga.

Es adecuado para el uso en la presente invención un método para alterar la expresión de un gen blanco en una célula *in vitro* o *in vivo* donde el gen no está expresado normalmente en la célula, que comprende los pasos de: (a) transfectar la célula *in vitro* o *in vivo* con una construcción del polinucleótido, la construcción del polinucleótido que comprende: (i) una secuencia seleccionada; (ii) una secuencia regulatoria y/o una secuencia codificadora; y (iii) un sitio dador de empalme no apareado, si fuera necesario, de este modo se produce una célula transfectada; y (b) mantener la célula transfectada *in vitro* o *in vivo* en condiciones apropiadas para la recombinación homóloga, de este modo se produce una célula recombinada en forma homóloga; y (c) mantener la célula recombinada en forma homóloga *in vitro* o *in vivo* en condiciones apropiadas para la expresión del gen.

Es adecuado para el uso en la presente invención un método para preparar un polipéptido de la presente invención por alteración de la expresión de un gen endógeno blanco en una célula *in vitro* o *in vivo* donde el gen no esta expresado normalmente en la célula, que comprende los pasos de: (a) transfectar la célula *in vitro* o *in vivo* en con una construcción del polinucleótido, la construcción del polinucleótido que comprende: (i) una secuencia seleccionada; (ii) una secuencia regulatoria y/o una secuencia codificadora; y (iii) un sitio dador de empalme no apareado, si fuera necesario, de este modo se produce una célula transfectada; y (b) mantener la célula transfectada *in vitro* o *in vivo* en condiciones apropiadas para la recombinación homóloga, de este modo se produce una célula recombinada en forma homóloga; y (c) mantener la célula recombinada en forma homóloga *in vitro* o *in vivo* en condiciones apropiadas para la expresión del gen, de este modo se prepara el polipéptido.

Es adecuado para el uso en la presente invención es una construcción del polinucleótido que altera la expresión de un gen blanco en un tipo celular en el cual el gen no se expresa normalmente. Esto se produce cuando la construcción del polinucleótido se inserta en el ADN cromosómico de la célula blanco, donde la construcción del polinucleótido comprende: a) (i) una secuencia seleccionada; (ii) a secuencia regulatoria y/o una secuencia codificadora; y (iii) un sitio dador de empalme no apareado, si fuera necesario. Además se incluyen las construcciones de polinucleótidos, como se describió anteriormente, donde la construcción además comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido y está en marco con el gen endógeno blanco después de la recombinación homóloga con ADN cromosómico.

Las composiciones se pueden producir, y los métodos realizar por técnicas conocidas en la técnica, tales como los descriptos en las Patentes Estadounidenses Nos: 6.054.288; 6.046.729; 6.048.724; 6.048.524; 5.994.127; 5.968.502; 5.965.125; 5.869.239; 5.817.789; 5.783.385; 5.733.761; 5.641.670; 5.580.734; Publicación Internacional Nos: WO96/29411, WO 94/12650; y los artículos científicos que incluyen Koller *et al.*, PNAS 86:8932-8935 (1989).

1. Características generales de los vectores de expresión de la invención

Un vector recombinante adecuado para usar en la invención comprende, pero sin limitación, un YAC (cromosoma de levadura artificial), un BAC (cromosoma bacteriano artificial), un fago, un fagémido, un cósmido], un plásmido o incluso una molécula de ADN lineal que puede comprender un ADN cromosómico, no cromosómico, semi-sintético y sintético. Tal vector recombinante puede comprender una unidad transcripcional que comprende un ensamblaje de:

(1) un elemento o elementos genéticos que tiene un papel regulatorio de la expresión génica, por ejemplo promotores o potenciadores. Los potenciadores son elementos de ADN que actúan en cis, usualmente de aproximadamente 10 a 300 pb de longitud que actúa sobre el promotor para aumentar la transcripción.

(2) una secuencia estructural o codificadora que se transcribe en el ARNm y finalmente se traduce en un polipéptido, dicha secuencia estructural o codificadora está operativamente unida a los elementos regulatorios descriptos en (1); y

(3) las secuencias de iniciación y terminación de transcripción apropiadas. Las unidades estructurales que se usan en los sistemas de expresión de levaduras o eucariotas con preferencia incluyen una secuencia líder que permite la secreción extracelular de la proteína traducida por una célula hospedante. Alternativamente, cuando se expresa una proteína recombinante sin una secuencia líder o de transporte, esta puede incluir un residuo N-terminal. Este residuo se puede o no escindir posteriormente de la proteína recombinante expresada para proporcionar un producto final.

Generalmente, los vectores de expresión recombinante incluirán orígenes de replicación, marcadores seleccionables que permiten la transformación de célula hospedante y un promotor derivado de un gen altamente expresado para dirigir la transcripción de una secuencia estructural corriente abajo. La secuencia estructural heteróloga se ensambla en una fase apropiada con las secuencias de iniciación y terminación de traducción y con preferencia una secuencia líder capaz de dirigir la secreción de la proteína traducida en el espacio periplásmico o el medio extracelular. En una realización específica donde el vector se adapta para la transfección y expresión de las secuencias deseadas en las células hospedantes de mamíferos, los vectores preferidos comprenderán un origen de replicación en el huésped deseado, un promotor y potenciador adecuado y también cualquiera de los sitios de unión al ribosoma necesarios, señales de poliadenilación, sitios dadores y aceptores, secuencias de terminación transcripcional y secuencias flanqueantes 5' no transcritas. Las secuencias de ADN derivan del genoma viral de SV40, por ejemplo el origen de SV40, promotor temprano, potenciador, señales de empalme y poliadenilación se pueden usar para proporcionar los elementos genéticos no transcritos requeridos.

La expresión *in vivo* de un polipéptido de CanIon de la SEC ID No 5 o fragmentos o variantes de los mismos pueden ser útiles para corregir un defecto genético relacionado con la expresión del gen nativo en un organismo hospedador o la producción de una proteína de CanIon biológicamente inactiva.

Por consiguiente son adecuados para el uso en la presente invención los vectores de expresión recombinante diseñados principalmente para la producción *in vivo* del polipéptido de CanIon de la SEC ID No 5 o fragmentos o variantes de las mismas por la introducción del material genético apropiado en el organismo del paciente tratado. Este material genético se puede introducir *in vitro* en una célula que ha sido previamente extraída del organismo, la célula modificada posteriormente se reintroduce en dicho organismo, directamente *in vivo* en el tejido apropiado.

2. Elementos regulatorios

Promotores

5 Las regiones promotoras adecuadas que se usan en los vectores de expresión adecuadas para el uso en la presente invención se eligen tomando en cuenta la célula hospedante en la cual se expresa el gen heterólogo. El promotor particular empleado para controlar la expresión de una secuencia de ácido nucleico de interés no se considera que es importante, mientras que esta sea capaz de dirigir la expresión del ácido nucleico en la célula blanco. De este modo, cuando se identifica una célula humana, es preferible para ubicar la región codificadora del ácido nucleico adyacente y bajo el control de un promotor que es capaz de expresarse en una célula humana, tal como por ejemplo, un promotor humano o viral.

15 Un promotor adecuado puede ser heterólogo con al ácido nucleico para el cual este controla la expresión o alternativamente puede ser endógeno del polinucleótido nativo que contiene la secuencia codificadora expresada. Adicionalmente, el promotor generalmente es heterólogo con respecto a las secuencias del vector recombinante dentro del cual se ha insertado la construcción del promotor/secuencia codificadora.

20 Las regiones promotoras se pueden seleccionar a partir de cualquier gen deseado mediante, por ejemplo, vectores CAT(cloranfenicol transferasa) y con más preferencia los vectores pKK232-8 y pCM7.

25 Los promotores bacterianos preferidos son LacI, LacZ, los promotores de ARN polimerasa del bacteriófago T3 o T7, el gpt, y los promotores lambda PR, PL y trp (EP 0036776), el promotor polihedrina o el promotor de la proteína p10 del baculovirus (Kit Novagen) (Smith *et al.*, 1983; O'Reilly *et al.*, 1992), el promotor lambda PR o también el promotor trc.

30 Los promotores eucariotas incluyen a CMV temprano inmediato, HSV timidina quinasa, SV40 temprano y tardío, LTRS del retrovirus y metalotioneína-L de ratón. La selección de un vector y promotor conveniente es bien conocido dentro de la experiencia de ordinaria de la técnica.

35 La elección de un promotor está dentro de la capacidad de un experto en el campo de la ingeniería genética. Por ejemplo, se puede referir a Sambrook *et al.* (1989) o también a los procedimientos descriptos por Fuller *et al.* (1996).

Otros elementos regulatorios

40 Cuando se emplea un ADNc, se deseará generalmente incluir una señal de poliadenilación para efectuar una poliadenilación apropiada del transcrito del gen. La naturaleza de la señal de poliadenilación no se considera crucial para la práctica exitosa de la invención y cualquiera de tales secuencias se puede emplear como la hormona de crecimiento humana y las señales de poliadenilación de SV40. También está contemplado como un elemento del casete de expresión un terminador. Estos elementos pueden actuar para aumentar el nivel de mensaje y minimizar la ultralectura del casete en otras secuencias.

3. Marcadores seleccionables

45 Tales marcadores conferirían un cambio identificable a la célula que permite la identificación fácil de las células que contienen la construcción de expresión. Los genes del marcador seleccionable para la selección de las células hospedantes transformadas son con preferencia dihidrofolato reductasa o resistencia a neomicina para el cultivo de la célula eucariota, TRP1 para *S. cerevisiae* o tetraciclina, resistencia a rifampicina o ampicilina en *E. coli*, o levansacarasa para micobacterias, esta última es un marcador de selección negativo.

4. Vectores preferidos

Vectores bacterianos

55 Como un ejemplo representativo pero no limitante, los vectores de expresión útiles para uso en bacterias puede comprender un marcador seleccionable y un origen de replicación derivado de plásmidos disponibles en el comercio que comprenden elementos genéticos de pBR322 (ATCC 37017). Tales vectores comerciales incluyen, por ejemplo, pKK223-3 (Pharmacia, Uppsala, Sweden), y GEM1 (Promega Biotec, Madison, WI, USA).

60 Gran número de otros vectores adecuados son conocidos por los expertos en la técnica y están disponibles en el comercio, tales como los siguientes vectores bacterianos: pQE70, pQE60, pQE-9 (Qiagen), pbs, pD10, phagescript, psiX174, pbluescript SK, pbsks, pNHBA, pNH16A, pNH18A, pNH46A (Stratagene); ptrc99a, pKK223-3, pKK233-3, pDR540, pRIT5 (Pharmacia); pWLNEO, pSV2CAT, pOG44, pXT1, pSG (Stratagene); pSVK3, pBPV, pMSG, pSVL (Pharmacia); pQE-30 (QIAexpress).

Vectores de bacteriófago

65 El vector del bacteriófago P1 puede contener insertos más grandes que varían de aproximadamente 80 a aproximadamente 100 kb.

La construcción de los vectores del bacteriófago P1 tales como los vectores p158 o p158/neo8 se describen en forma notable en Sternberg (1992, 1994). Los clones recombinantes P1 que comprenden secuencias de nucleótidos de CanIon se pueden diseñar por la inserción de polinucleótidos grandes de más de 40 kb (Linton *et al.*, 1993). Para generar el ADN de P1 para los experimentos transgénicos, un protocolo preferido es el descrito por McCormick *et al.* (1994). Brevemente, *E. coli* (con preferencia la cepa NS3529) que alberga el plásmido P1 se incubó toda la noche en un medio del caldo adecuado que contiene 25 µg/ml de kanamicina. El ADN de P1 se prepara a partir de *E. coli* por lisis alcalina mediante el kit Qiagen Plasmid Maxi (Qiagen, Chatsworth, CA, USA), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El ADN de P1 se purifica a partir del lisado bacteriano en dos columnas Qiagen-tip 500, empleando buffers de lavado y elución contenidos en el kit. Luego se realizó una extracción con fenol/cloroformo antes de precipitar el ADN con etanol 70%. Después de solubilizar el ADN en TE (Tris-HCl 10 mM, pH 7.4, EDTA 1 mM), la concentración del ADN se mide por espectrofotometría.

Cuando la meta es expresar un clon P1 que comprende las secuencias del nucleótido de CanIon en un animal transgénico, típicamente un ratón transgénico, es deseable eliminar las secuencias del vector del fragmento del ADN de P1, por ejemplo por escisión del ADN de P1 en sitio de corte poco frecuente dentro del poli-ligador P1 (*SfiI*, *NotI* o *SalI*). El inserto P1 luego se purifica de las secuencias del vector en un gel de agarosa de cabo pulsante, mediante métodos similares a los que se informaron originalmente para el aislamiento de ADN de los YAC (Schedl *et al.*, 1993a; Peterson *et al.*, 1993). En esta etapa, el inserto de ADN purificado resultante se puede concentrar, si fuera necesario, en una unidad Millipore Ultrafree-MC Filter (Millipore, Bedford, MA, USA -peso molecular límite 30.000) y luego se dializa contra el buffer de microinyección (Tris-HCl 10 mM, pH 7.4; EDTA 250 µM) que contiene NaCl 100 mM, espermina 30 µM, spermidina 70 µM en una membrana de microdiálisis (tipo VS, 0,025 µM de Millipore). El carácter intacto del inserto de ADN P1 purificado se evalúa por electroforesis en gel de agarosa 1% de cabo pulsante (Sea Kern GTG; FMC Die-products) y tinción con bromuro de etidio.

25 *Vectores de baculovirus*

Un vector adecuado para la expresión del polipéptido de CanIon de la SEC ID No 5 o fragmentos o variantes de las mismas es un vector de baculovirus que se puede propagar en células de insectos y líneas celulares de insectos. Un sistema adecuado de vector hospedador específico es el vector de transferencia de baculovirus pVL1392/1393 (Phar-
30 mingen) que se usa para transfectar la línea celular SF9 (ATCC N° CRL 1711) que se deriva de *Spodoptera frugiperda*.

Otros vectores adecuados para la expresión del polipéptido de CanIon de la SEC ID No 5 o fragmentos o variantes de las mismas en un sistema de expresión del baculovirus incluye a los descritos por Chai *et al.* (1993), Vlasak *et al.* (1983) y Lenhard *et al.* (1996).

35 *Vectores virales*

En una realización específica, el vector deriva de un adenovirus. Los vectores de adenovirus preferidos de acuerdo con la invención son los descritos por Feldman y Steg (1996) u Ohno *et al.* (1994). Otro adenovirus recombinante preferido de acuerdo con esta realización específica de la presente invención es el adenovirus humano tipo 2 o 5 (Ad 2 o Ad 5) o un adenovirus de origen animal (ver, por ej., solicitud de patente Francesa N° FR-93.05954).

Los vectores de retrovirus son vectores de virus adeno-asociados que se considera que generalmente son sistemas de liberación de genes recombinantes de elección para la transferencia de polinucleótidos exógenos *in vivo*, particularmente a mamíferos que incluyen a los seres humanos. Estos vectores proporcionan una liberación eficiente de genes en las células y los ácidos nucleicos transferidos se integran en forma estable en el ADN cromosómico del hospedante.

Los retrovirus particularmente preferidos para la preparación o construcción de retrovirus *in vitro* o en vehículos de liberación del gen *in vitro* de la presente invención incluye retrovirus seleccionados del grupo que consiste en el virus inductor del foco de células-Mink, virus del sarcoma murino, virus de la reticuloendoteliosis y virus del sarcoma Rous. Los virus particularmente preferidos de la leucemia murina incluyen los virus 4070A y 1504A, Abelson (ATCC No VR-999), Friend (ATCC No VR-245), Gross (ATCC No VR-590), Rauscher (ATCC No VR-998) y virus de leucemia murina Moloney (ATCC No VR-190; PCT Solicitud No WO 94/24298). Los virus del sarcoma de Rous
55 virus particularmente preferidos incluyen Bryan de título alto (ATCC Nos VR-334, VR-657, VR-726, VR-659 y VR-728). Otros vectores retrovirales preferidos son los descritos en Roth *et al.* (1996), Solicitud PCT No WO 93/25234, Solicitud PCT No WO 94/06920, Roux *et al.*, 1989, Julan *et al.*, 1992 y Neda *et al.*, 1991.

Otro sistema más de vector viral adecuado para usar en la invención comprende el virus adeno-asociado (AAV). El virus adenoasociado es un virus defectuoso que se produce en forma natural que requiere otro virus, tal como un adenovirus o un virus del herpes, como un virus auxiliar para la replicación eficiente y un ciclo de vida productivo (Muzyczka *et al.*, 1992). También es uno de los pocos virus que puede integrar su ADN en células que no se dividen y exhiben una frecuencia alta de integración estable (Motto *et al.*, 1992; Samulski *et al.*, 1989; McLaughlin *et al.*, 1989). Una característica ventajosa de los AAV proviene de su reducida eficacia para transducir células primarias a células transformadas.
65

Vectores BAC

El sistema de clonación del cromosoma bacteriano artificial (BAC) (Shizuya *et al.*, 1992) ha sido desarrollado para mantener en forma estable fragmentos grandes de ADN genómico (100-300 kb) en *E. coli*. Un vector de BAC preferido comprende un vector pBclBAC11 que ha sido descrito por Kim *et al.* (1996). Las genotecas de BAC se preparan con este vector empleando ADN genómico de tamaño seleccionado que ha sido parcialmente digerido mediante enzimas que permiten la ligación en los sitios BamHI o HindIII del vector. Flanqueando estos sitios de clonación están los sitios de iniciación de transcripción de la ARN polimerasa T7 y SP6 que se pueden usar para generar sondas finales por métodos de transcripción de ARN o PCR. Después de la construcción de una genoteca BAC en *E. coli*, el ADN de BAC se purifica de la célula hospedante como un círculo superenrollado. La conversión de estas moléculas circulares en una forma lineal precede a la determinación del tamaño e introducción de los BAC en las células recipientes. El sitio de clonación está flanqueado por dos sitios NotI, que permiten que los segmentos clonados se escindan del vector por la digestión de NotI. Alternativamente, el inserto de ADN contenido en el vector pBeloBAC11 se puede linealizar por el tratamiento del vector BAC vector con la enzima lambda terminasa disponible en el comercio que produce la escisión del sitio único *cosN*, pero este método de escisión origina el clon BAC de longitud completa que contiene tanto al ADN inserto como las secuencias de BAC.

5. Administración de vectores recombinantes

Con el fin de efectuar la expresión de los polinucleótidos y las construcciones de polinucleótidos adecuados para usar en la invención, estas construcciones se deben administrar en una célula. Esta administración puede lograrse *in vitro*, como en los procedimientos de laboratorio para transformar las líneas celulares o *in vivo* o *ex vivo*, como en el tratamiento de ciertos estados de enfermedad.

Un mecanismo es la infección viral donde la construcción de expresión está encapsulada en una partícula viral infecciosa.

Varios métodos no virales para la transferencia de polinucleótidos en células de mamíferos cultivadas son adecuadas para usar en la presente invención e incluyen, sin limitaciones, la precipitación con fosfato de calcio (Graham *et al.*, 1973; Chen *et al.*, 1987;), DEAE-dextrano (copal, 1985), electroporación (Tur-Kaspa *et al.*, 1986; Potter *et al.*, 1984), microinyección directa (Harland *et al.*, 1985), liposomas cargados con ADN (Nicolau *et al.*, 1982; Fraley *et al.*, 1979), y transfección mediada por receptor (Wu and Wu, 1987; 1988). Algunas de estas técnicas se pueden adaptar con éxito para el uso *in vivo* o *ex vivo*.

Una vez que el polinucleótido de expresión se ha administrado en la célula, se puede integrar en forma estable en el genoma de la célula recipiente. Esta integración puede ser en la localización y orientación del cognado por medio de la recombinación homóloga (reemplazo génico) o se puede integrar al azar, en una localización no específica (aumento génico). En otras realizaciones adicionales, el ácido nucleico se puede mantener en forma estable en la célula como segmento separado de ADN episómico. Tales segmentos de ácido nucleico o "episomas" codifican las suficientes secuencias para permitir el mantenimiento y replicación independiente o en sincronización con el ciclo de la célula hospedante.

Una realización específica para un método para la administración de una proteína o péptido del interior de una célula de un vertebrado *in vivo* comprende el paso de introducir una preparación que comprende un vehículo aceptable para uso fisiológico y un polinucleótido desnudo operativamente unido con el polipéptido de interés en el espacio intersticial de un tejido que comprende la célula, por el cual el polinucleótido desnudo es captado en el interior de la célula y tiene un efecto fisiológico. Estos es particularmente aplicable para la transferencia *in vitro* pero además se puede aplicar *in vivo*.

Las composiciones para uso *in vitro* e *in vivo* que comprenden un polinucleótido "desnudo" como se describe en la solicitud PCT No. WO 90/11092 (Vical Inc.) y también en la Solicitud PCT No. WO 95/11307 (Institut Pasteur, INSERM, Université d'Ottawa) además de los artículos de Tacson *et al.* (1996) y de Huygen *et al.* (1996).

En otra realización aún, la transferencia de un polinucleótido desnudo adecuado para usar en la invención, que incluye una construcción del polinucleótido de la invención, en células se puede realizar con un bombardeo de partículas (biolístico), dichas partículas son microproyectiles recubiertos de ADN acelerados a una alta velocidad que les permite perforar las membranas e ingresar a las células sin destruirlas, tal como fue descrito por Klein *et al.* (1987).

En una realización adicional, el polinucleótido adecuado para usar en la invención se puede encapsular en un liposoma (Ghosh and Bacchawat, 1991; Wong *et al.*, 1980; Nicolau *et al.*, 1987).

Es adecuado para usar en la invención una composición para la producción *in vivo* de la proteína o polipéptido de Canlon descrito en la presente memoria. Esta comprende un polinucleótido desnudo operativamente unido que codifica para este polipéptido, en solución con un vehículo aceptable para uso fisiológico y adecuado para la introducción en un tejido para originar células del tejido que expresen dicha proteína o polipéptido.

La cantidad del vector que se debe inyectar en el organismo hospedante deseado varía de acuerdo con el sitio

de inyección. Como una dosis indicativa, se inyectará entre 0,1 y 100 μ g del vector en el cuerpo del animal, con preferencia un cuerpo de mamífero, por ejemplo un cuerpo de ratón.

En otra realización del vector adecuado para usar en la invención, ese se puede introducir *in vitro* en una célula hospedante, con preferencia en una célula hospedante previamente recolectada del animal que se va a tratar y con más preferencia una célula somática tal como una célula muscular. En un paso subsiguiente, la célula que se ha transformado con el vector que codifica para el polipéptido de CanIon deseado o el fragmento deseado del mismo se reintroduce en el cuerpo del animal con el fin de liberar la proteína recombinante dentro del cuerpo ya sea en forma local o sistémica.

Células hospedantes

Es adecuada para el uso en la presente invención una célula hospedante que ha sido transformada o transfectada con uno de los polinucleótidos descriptos en la presente memoria y en particular un polinucleótido que comprende un polinucleótido de CanIon regulatorio o la secuencia codificadora del polipéptido de CanIon seleccionado del grupo que consiste en las SEC ID Nos 1 a 4 o un fragmento o variante de las mismas. También son adecuadas las células hospedantes que se transforman (células procariotas) o que se transfectan (células eucariotas) con un vector recombinante tal como uno de los descriptos anteriormente. Más particularmente, las células hospedantes de la presente invención pueden comprender cualquiera de los polinucleótidos descriptos en la sección "Secuencias genómicas del gen de CanIon", la sección "Secuencias de ADNc de CanIon", la sección "Regiones codificadoras", la sección "Construcciones de polinucleótidos" y la sección "Sondas y cebadores oligonucleotídicos".

Una célula hospedante recombinante adicional de acuerdo con la invención comprende un polinucleótido que contiene un marcador bialélico seleccionado del grupo que consiste en A1 a A18 y los complementos del mismo.

Una célula hospedante recombinante adicional de acuerdo con la invención comprende a cualquiera de los vectores descriptos en la presente memoria, más particularmente cualquiera de los vectores descriptos en la sección "Vectores recombinantes".

Las células hospedantes preferidas que se usan como recipientes de los vectores de expresión adecuadas para usar en la invención son las siguientes:

a) Células hospedantes procariotas: cepas de *Escherichia coli* (I.E.DH5-cepa α), *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, y cepas de especies como *Pseudomonas*, *Streptomyces* y *Staphylococcus*.

b) Células hospedantes eucariotas: células HeLa (ATCC N° CCL2; N° CCL2.1; N° CCL2.2), células Cv 1 (ATCC N° CCL70), células COS (ATCC N° CRL1650; N° CRL1651), células Sf-9 (ATCC N° CRL1711), células C127 (ATCC N° CRL-1804), 3T3 (ATCC N° CRL-6361), CHO (ATCC N° COL-61), células de riñón humano 293. (ATCC N° 45504; N° CRL-1573) y BHK (ECACC N° 84100501; N° 84111301).

c) Otras células hospedantes de mamíferos.

La expresión del gen de CanIon de mamíferos, y típicamente en seres humanos, puede producir células defectuosas o alternativamente puede ser precedida con la inserción de una secuencia genómica o de ADNc de CanIon con el reemplazo de la contraparte del gen de CanIon en el genoma de una célula de animal por un polinucleótido de CanIon adecuado para uso en la invención. Estas alteraciones genéticas se pueden generar por eventos de recombinación homóloga mediante construcciones de ADN específicas que han sido previamente descriptas.

Una clase de células hospedantes que se pueden usar son los cigotos de mamífero, tales como los cigotos murinos. Por ejemplo, los cigotos murinos pueden experimentar la microinyección con una molécula de ADN purificado de interés, por ejemplo una molécula de ADN purificado que ha sido previamente ajustado a una concentración que varía de 1 ng/ml -para insertos de BAC- 3 ng/ μ l -para insertos del bacteriófago P1- en Tris-HCl 10 mM, pH 7,4, EDTA 250 μ M que contiene NaCl 100 mM, espermina 30 μ M, y espermidina 70 μ M. Cuando el ADN que se va a microinyectar tiene un gran tamaño, se pueden usar poliaminas y altas concentraciones de sal con el fin de evitar la alteración mecánica de este ADN, tal como fue descripto por Schedl *et al.* (1993b).

Cualquiera de los polinucleótidos adecuados para usar en la invención, que incluyen a las construcciones de ADN descriptas en la presente memoria, se pueden introducir en una línea de células troncales embrionarias (ES), con preferencia una línea celular ES de ratón. Las líneas celulares ES derivan de células indiferenciadas pluripotentes de la masa de células interiores de los blastocistos de pre-implantación. Las líneas celulares ES preferidas son las siguientes: ES-E14TG2a (ATCC n° CRL-1821), ES-D3 (ATCC n° CRL1934 y n° CRL-11632), YS001 (ATCC n° CRL-11776), 36.5 (ATCC n° CRL-11116). Para mantener las células ES en un estado indiferenciado, estas se cultivan en presencia de célula de soporte con crecimiento inhibido que proporcionan las señales apropiadas para conservar el fenotipo embrionario y actuar como matriz para la adherencia de las células ES. Las células de soporte preferidas son fibroblastos embrionarios primarios que se establecen en el tejido de los embriones del día 13- y día 14 de prácticamente cualquier cepa de ratón, que se mantiene en cultivo, tal como fue descripto por Abbondanzo *et al.* (1993) y que tiene inhibido el crecimiento por irradiación, tal como fue descripto por Robertson (1987), o por la presencia de una concentración inhibitoria de LIF, tal como fue descripto por Pease y Williams (1990).

Las construcciones de las células hospedantes se pueden usar en forma convencional para producir el producto génico codificado por la secuencia recombinante.

Después de la transformación de un huésped adecuado y el crecimiento del huésped a una apropiada densidad celular, el promotor seleccionado está inducido por medios apropiados, tales como el cambio de temperatura o inducción química y las células se cultivan durante un período inicial.

Las células generalmente se recogieron por centrifugación, se alteran por medios físicos o químicos y el extracto bruto resultante se retiene para purificación adicional.

Las células microbianas empleadas en la expresión de las proteínas pueden ser alteradas por cualquier método conveniente, que incluye el ciclo de descongelamiento-congelamiento, sonicación, alteración mecánica o uso de agentes de lisado. Tales métodos son bien conocidos por los profesionales expertos.

15 *Animales transgénicos*

Los términos “animales transgénicos” o “animales hospedantes” se usan en la presente memoria para designar a los animales que tiene en su genoma genética y artificialmente manipulado e modo de incluir uno de los ácidos nucleicos de acuerdo con la invención. Los animales preferidos son mamíferos no humanos e incluyen a los que pertenecen a un género seleccionado de *Mus* (por ej. ratones), *Rattus* (por ej. ratas) y *Oryctogalus* (por ej. conejos) que tiene en su genoma artificial y genéticamente alterado por la inserción de un ácido nucleico de acuerdo con la invención. Son adecuadas para usar en la invención los mamíferos y animales hospedadores no humanos que comprenden un vector recombinante de la invención o un gen de CanIon alterado por la recombinación homóloga con un vector *knock out*.

Los animales transgénicos adecuados para usar en la invención incluyen dentro de una pluralidad de sus células una secuencia de ADN recombinante o sintético clonado, más específicamente una de los ácidos nucleicos purificados o aislados que comprende una secuencia codificadora de CanIon, un polinucleótido regulatorio de CanIon, una construcción de polinucleótido o una secuencia de ADN que codifica un polinucleótido antisentido tal como se describe en la presente memoria descriptiva.

Generalmente, un animal transgénico adecuado para el uso en la presente invención comprende cualquiera de los polinucleótidos, los vectores recombinantes y las células hospedantes descriptas en la presente invención. Más particularmente, los animales transgénicos de la presente invención pueden comprender cualquiera de los polinucleótidos descriptos en la sección “Secuencias genómicas del gen de CanIon”, la sección “Secuencias de ADNc de CanIon”, la sección “Regiones codificadoras”, la sección “Construcciones de polinucleótidos”, la sección “Sondas y cebadores Oligonucleotídicos”, la sección “Vectores recombinantes” y la sección “Células hospedantes”.

Además los animales transgénicos adecuados para usar en la invención contienen en sus líneas somáticas y/o sus células de líneas germinales, un polinucleótido que comprende un marcador bialélico seleccionado del grupo que consiste en A1 a A18 y los complementos del mismo.

En una primera realización preferida, estos animales transgénicos pueden ser buenos modelos experimentales para estudiar las diversas patologías relacionadas con la diferenciación celular, en particular concernientes a animales transgénicos en cuyo genoma se ha insertado una o varias copias de un polinucleótido que codifica una proteína de CanIon nativa o alternativamente una proteína de CanIon mutante.

En una segunda realización preferida, estos animales transgénicos pueden expresar un polipéptido deseado de interés bajo el control de los polinucleótidos regulatorios del gen de CanIon, que producen buenos rendimientos de la síntesis de esta proteína de interés y finalmente una expresión específica de tejido de esta proteína de interés.

El diseño de los animales transgénicos adecuados para uso en la invención se puede realizar de acuerdo con las técnicas convencionales bien conocidas por los expertos en la técnica. Los detalles adicionales con respecto a la producción de estos animales transgénico y específicamente ratones transgénicos se pueden hallar, por ej., en las Patentes Estadounidenses Nos 4.873.191; 5.464.764; y 5.789.215.

Los animales transgénicos adecuados para el uso en la presente invención se producen por la aplicación de procedimientos que originan un animal con un genoma que ha incorporado material genético exógeno. El procedimiento incluye la obtención del material genético o una porción del mismo, que codifica una secuencia codificadora de CanIon, un polinucleótido regulatorio de CanIon o una secuencia de ADN que codifica un polinucleótido de CanIon antisentido tal como se describe en la presente memoria.

Un polinucleótido recombinante adecuado para usar en la invención se inserta en una línea de célula madre embrionaria o ES. La inserción con preferencia se realiza mediante la electroporación, tal como fue descripto por Thomas *et al.* (1987). Las células sometidas a electroporación se seleccionan (por ej. por selección por medio de marcadores seleccionables, por PCR o análisis de transferencia Southern) para hallar células positivas que tiene integrado el polinucleótido recombinante exógeno en su genoma, con preferencia por medio de un evento de recombinación homólogo. Se puede usar un procedimiento de selección ilustrativo positivo-negativo descripto por Mansour *et al.* (1988).

Luego, se aíslan las células positivas, se clonan e inyectan en blastocistos de 3,5 días de ratones, tal como fue descripto por Bradley (1987). Los blastocistos luego se insertan en un animal hospedante hembra y permitió cultivar a término.

Alternativamente, las células ES positivas se pone en contacto con embriones de 2,5 días en la etapa celular 8-16 (mórula) tal como fue descripto por Wood *et al.* (1993) o por Nagy *et al.* (1993), las células ES se internalizan para colonizar en forma extensiva los blastocistos, que incluyen a las células que originarán la línea germinal.

La cría de la hospedante hembra se ensaya para determinar que animales son transgénicos por ej., incluyen la secuencia de ADN exógena insertada y cuales son de tipo salvaje.

Es adecuado para usar en la invención es un animal transgénico que contienen un ácido nucleico, un vector e expresión recombinante o una célula hospedante recombinante descripta en la presente memoria.

Líneas celulares recombinantes derivadas de los animales transgénicos de la invención.

Son adecuadas para el uso en la presente invención las células hospedantes recombinantes obtenidas de un animal transgénico descripto en la presente memoria. En una realización la invención abarca las células derivadas de mamíferos y animales hospedadores no humanos que comprenden un vector recombinante de la invención o un gen de CanIon alterado por la recombinación homóloga con un vector *knock out*.

Las líneas celulares recombinantes se pueden establecer *in vitro* a partir de células obtenidas de cualquier tejido de un animal transgénico de acuerdo con la invención, por ejemplo por transfección de los cultivos celulares primarios con vectores que expresan *onc*-genes tales como antígeno T grande de SV40, como se describe en Chou (1989) y Shay *et al* (1991).

Métodos de selección de moduladores de CanIon y compuestos interactuantes

Son adecuadas para el uso en la presente invención los compuestos que interactúan con, se unen o activan o inhiben la expresión o actividad de los polipéptidos, canales y polinucleótidos de CanIon. Tales compuestos pueden ser compuestos orgánicos o inorgánicos, que incluyen, pero sin limitaciones a, polipéptidos, polinucleótidos, lípidos, carbohidratos, nucleótidos, aminoácidos, o activadores o inhibidores de pequeñas moléculas. Como se describe en otra parte de esta memoria, tales compuestos son útiles para el tratamiento o prevención de alguna de una gran número de enfermedades o afecciones. Con preferencia, los inhibidores de la actividad o expresión de CanIon se usan en el tratamiento o prevención de trastorno psiquiátrico como esquizofrenia o trastorno bipolar.

Métodos de selección para moduladores de canales CanIon

Los compuestos que se pueden unir a CanIon y los compuestos que pueden modular al función de CanIon tienen importantes aplicaciones en el tratamiento de enfermedades. Los canales iónicos dependientes del voltaje generalmente se establecen como blancos de los fármacos ya que ellos son accesibles desde el punto de vista farmacológico, codificados por una variedad de genes y usualmente operan como ensamblajes de proteínas multiméricas, que producen un alto grado de especificidad funcional y anatómica. Además, porque la apertura y cierre del canal iónico que involucra el movimiento de los aminoácidos sensibles al voltaje cargado conduce a cambios de los estados de conformación, los canales iónicos permiten el diseño de moléculas dependientes del estado que, por ejemplo, se unen solo a canales que están en estado de conducción (activado) o no conducción (inactivado).

Además, se ha demostrado que numerosos moduladores del canal de calcio son eficaces para el tratamiento o prevención de numerosas enfermedades o afecciones. Por ejemplo, se ha demostrado que los inhibidores de los canales de calcio son efectivos contra diferentes enfermedades y afecciones cardiovasculares (por ej., angina, arritmias, hipertensión), además de trastornos del SNC y neuronales (*por ej.*, migrañas, efectos neurológicos de los accidentes cerebrovasculares, manía, disquinesia tardía inducida por neurolepticos, esquizofrenia, trastorno bipolar, dolor, epilepsia y otras). Además, se ha demostrado que los agonistas de los canales de calcio son efectivos para varias aplicaciones, tales como en la reducción de la duración de la y por otra parte de la atenuación de los efectos de la anestesia local. Los antagonistas y agonistas de los canales de CanIon son de modo parecido útiles para el tratamiento o prevención de estos y otras enfermedades y afecciones. Por ejemplo, los antagonistas de CanIon son útiles en el tratamiento o prevención de la esquizofrenia y trastorno bipolar.

Debido a que los canales iónicos dependientes de voltaje no requieren la unión al agonista para la activación, los compuestos con preferencia se identifican frente a los canales de CanIon funcionales. Los ensayos pueden incluir métodos de unión funcional y por radioligandos aplicadas a las células (vesículas o membranas) que expresan canales nativos o clonados o a los ensayos de célula entera. Los ensayos de células enteras funcionales pueden usar técnicas electrofisiológicas, tales como pinzamiento zonal. Los ensayos pueden involucrar cualquier tipo de canal dependiente de voltaje, con preferencia canales tipo L, Nn y T. También se puede medir la cinética del flujo de iones a través del canal, por ej., mediante fluorescencia, radiotrazador de punto final o técnicas de viabilidad celular.

Los ensayos también pueden hacer uso de diferentes toxinas, venenos o compuestos que se unen y abren o cierran canales (Denyer *et al.*, Drug Disc. Today 3(7): 323-332 (1998). En una realización, los presentes ensayos involucran

el uso de cualquiera del gran número de agonistas y antagonistas de los canales de calcio conocidos, por ej., como controles positivos o negativos. Los ejemplos de tales antagonistas de los canales de calcio conocidos incluyen fenilalquilaminas (por ej., verapamilo), benzotiazepinas (por ej., diltiazem), y dihidropiridinas (por ej., nifedipina); los agonistas de los canales de calcio incluyen FPL-64176 y BAY K 8644; los agonistas de los canales de sodio incluyen Batrachotoxina; y los antagonistas de los canales de sodio incluyen espiradolina, mexiletina, U-54494A ((+/-)-cis-3,4-Dicloro-N-metil-N-[2-(1-pirrolidinil)-ciclohexil]-benzamida). Tales compuestos se pueden usar también como compuestos “guía”, es decir, para actuar como moléculas de partida para el diseño o descubrimiento de moléculas derivadas que se unen o modulan específicamente los canales de CanIon.

- 10 En realizaciones preferidas, los ensayos de la invención comprenden un método para la identificación de una sustancia candidata comprende los siguientes pasos:

- a) proporcionar(i) una muestra o una célula hospedante que contiene un polipéptido que comprende, consiste esencialmente en o consiste en una proteína de CanIon o un fragmento de la misma, o (ii) una célula hospedante recombinante que expresa un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende, consiste esencialmente en o consiste en una proteína de CanIon o un fragmento de la misma;
- b) obtener una sustancia candidata;
- c) poner en contacto dicha célula hospedante con dicha sustancia candidata;
- d) determinar el efecto de dicha sustancia candidata en la actividad de CanIon.

- La determinación del efecto de la sustancia candidata en la actividad de CanIon se puede lograr de acuerdo con los métodos conocidos. Con preferencia, el efecto de la sustancia candidata en la actividad de CanIon es un efecto agonista o antagonista. Generalmente, un compuesto inhibe a CanIon si la capacidad de transporte de iones (por ej., Ca^{2+} o Na^{+}) está disminuida. Un compuesto estimula a CanIon si la capacidad de transporte de iones está aumentada.

- La actividad de CanIon se puede detectar mediante cualquiera de los métodos adecuados. En ejemplos preferidos, la actividad de CanIon se detecta por la medición de un evento de señalización. Si bien un evento de señalización puede comprender cualquier cambio adecuado de una característica o parámetro molecular de la célula, los ejemplos no limitantes de un evento de señalización incluye cambios en los flujos de iones, tales como cambios en o generación de un flujo de Ca^{2+} o Na^{+} , o K^{+} o activación de la enzima.

- En un aspecto, el flujo iónico se puede monitorear por la medición de propiedades electrofisiológicas del canal de CanIon, mediante por ejemplo técnicas para medición de la corriente de la célula entera a partir de una célula única o en parches de membrana. En otros ejemplos, las marcas fluorescentes o radiactivas se pueden usar para detectar el desplazamiento de un compuesto de unión a CanIon conocido o para detectar el flujo iónico a través de una célula (por ej., Ca^{2+} o Na^{+} marcado). Se puede usar un indicador de los parámetros fisiológicos de una célula, tales como un indicador fluorescente para la viabilidad celular. En otros ejemplos, se puede detectar el cambio de la localización física de un indicador, tal como el uso de una clasificación de células activadas por fluorescencia para identificar la exclusión o captación de un indicador fisiológico.

- La muestra usada en el ensayo de la invención contiene un polipéptido o una célula hospedante que expresa un polipéptido que comprende, consiste esencialmente en o consiste en una proteína de CanIon o un fragmento del mismo, o (ii) una célula hospedante recombinante que expresa un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende, consiste esencialmente en o consiste en una proteína de CanIon o un fragmento del mismo. Con preferencia, los ensayos de CanIon de la invención involucra el uso de una célula hospedante recombinante que expresa un polipéptido de CanIon funcional. Las células hospedantes pueden expresar o comprender una subunidad funcional alfa del canal de CanIon o pueden expresar o comprender uno o más subunidades de canal iónico o un complejo del canal iónico que comprende CanIon. Con preferencia, se usa una célula hospedante que tiene baja expresión del canal iónico endógeno o tiene bajo umbral de conductancia iónico, particularmente Ca^{2+} y/o Na^{+} .

Unión a radioligando

- En un aspecto, un canal iónico se puede seleccionar por la identificación de un ligando de alta afinidad que se une a un sitio de CanIon de interés y con preferencia tiene un efecto modulador deseado y la detección de la capacidad de un compuesto de ensayo de desplazar dicho ligando marcado. Las listas de agentes toxicológicos/farmacológicos usados en los ensayos de canales dependientes del voltaje (Ca^{2+} , Na^{+} y K^{+}) se proporcionan en Denyer *et al.* (*supra*). Este método es generalmente adecuado para detectar compuestos que se unen al mismo sitio o se acoplan alostéricamente al sitio, como el ligando marcado, pero no proporciona información como las propiedades agonistas o antagonistas del compuesto.

Ensayos celulares basados en fluorescencia y radiotrazadores

- En otro ensayo, la función de CanIon se puede monitorear por la medición de cambios en la concentración intracelular del ion permeable mediante indicadores de iones fluorescentes o iones radiomarcados.

Típicamente, los canales iónicos tales como los canales de Na⁺ inactivan en milisegundos después de la estimulación del voltaje. Los canales de Ca²⁺ exhiben ningún o menor grado de inactivación y se pueden abrir por alta despolarización de K⁺. En los ensayos de células basados en fluorescencia o radiotrazador, el canal iónico se puede activar generalmente por una toxina o cualquier compuesto de ensayo, o alta despolarización de K⁺, de modo tal que el canal se abre durante periodos prolongados (hasta muchos minutos).

En ensayos basados en fluorescencia, los colorantes fluorescentes de Ca²⁺ están disponibles para el uso (por ej., Fluo-3, calcio verde -1, sondas moleculares, OR, U.S.A.). Los canales de Ca²⁺ se pueden activar por la despolarización de la membrana con una solución isotónica o los canales de Na⁺ con una toxina u otro compuesto y el movimiento transitorio resultante de la fluorescencia en la célula se puede medir durante 20 a 60 s. Los sistemas y dispositivos de medición de fluorescencia se describen adicionalmente en Denyer *et al.* (*supra*). Los radiotrazadores ²²Na⁺ y ¹⁴C guanidina se usan comúnmente para el análisis de los canales de Na⁺ y ⁴⁵Ca²⁺ para el análisis de los canales de Ca²⁺. En una realización preferida descrita en Denyer *et al.* (*supra*), se usan las microplacas Cytostar-Tscintillating (Amersham International, U.K.) para llevar a cabo los ensayos basados en células de CanIon de alto rendimiento.

En ensayos adicionales, se controla la función de Ca²⁺ de un canal iónico por la medición de un potencial de membrana con un indicador de potencial de membrana. La alta resistencia eléctrica de las membranas biológicas permiten corrientes iónicas bajas a través de las membranas plasmáticas para originar grandes cambios del potencial de membrana. Los ensayos de voltaje se pueden emplear convenientemente de este modo para detectar el flujo de iones genéricos a través de las membranas. Las líneas celulares se eligen generalmente de modo que se minimicen tales efectos de los canales iónicos endógenos. Una variedad de colorantes están disponibles como colorantes del indicador de potencial de membrana, divididos en colorantes de respuesta rápida y lenta, además de los colorantes del sensor de voltaje basados en FRET. (Aurora Biosciences, CA, USA; revisado en Gonzalez *et al.*, Drug Disc. Today 4 (9): 431:439 (1999).

Viabilidad celular

En los ensayos de viabilidad celular, la actividad del canal iónico y el flujo de iones están directamente relacionados con la viabilidad celular. Ambos sistemas de levaduras y células de mamíferos están disponibles para ensayar un blanco de canal iónico. Por ejemplo, se ha usado un sistema de levadura que emplea una línea celular de *Saccharomyces cerevisiae* deficiente en la captación de K⁺ específica de iones, en el cual un canal de K⁺ funcional de interés se expresa en la línea celular, de este modo se restaura la captación de K⁺ y la promoción de la supervivencia celular. (Anderson *et al.*, Symp. Soc. Exp. Biol. 48: 85-97 (1994)) Tales ensayos para los canales de Ca²⁺ o Na⁺ se pueden usar para identificar compuestos capaces de bloquear la función de CanIon. Los sistemas celulares de mamífero están también disponibles, tales como un ensayo del canal de Na⁺ empleando células de neuroblastoma de mamíferos con una lectura colorimétrica de viabilidad celular. Las células se tratan con un abridor del canal de Na⁺ y un inhibidor de la bomba de Na⁺/K⁺ para promover una sobrecarga de Na⁺ intracelular letal. El tratamiento con un compuesto de ensayo capaz de bloquear el canal mejorará la viabilidad celular, tales compuestos que aumentan la apertura del canal promoverán adicionalmente la muerte celular. (Manger *et al.*, Anal. Biochem. 214: 190-194 (1993).

Electrofisiología

Las técnicas de pinzamiento del voltaje electrofisiológico involucran la medición del flujo de corriente iónica a través de uno o muchos canales. Un microelectrodo simple se usa para controlar el voltaje de membrana mientras se mide el flujo de corriente a través de una célula única o parche de membrana. (Hamill, Pflugers Arch. 391, 85-100 (1981). La corriente iónica de este modo se puede medir en presencia o ausencia de un compuesto de ensayo de interés. Se ha diseñado un sistema de detección del compuesto a gran escala (Neurosearch NS, Glostrup, Denmark; Olesen *et al.*, Voltage gated/on channel modulators, 7-8 de diciembre, Philadelphia PA, USA (1995); Denyer *et al.*, *supra*).

Métodos de detección para sustancias que interactúan con un polipéptido de CanIon

Para el propósito de la presente invención, un ligando significa una molécula, tal como una proteína, un péptido, un anticuerpo o cualquier compuesto químico sintético capaz de unirse a la proteína de CanIon o uno de sus fragmentos o variantes o para modular la expresión del polinucleótido que codifica para CanIon o un fragmento o variante del mismo.

En el método de detección del ligando de acuerdo con la presente invención, una muestra biológica o una molécula definida ensayada como un ligando putativo de la proteína de CanIon se pone en contacto con la correspondiente proteína de CanIon purificada, por ejemplo la correspondiente proteína de CanIon purificada recombinante producida por una célula hospedante recombinante como se describe en la presente memoria antes, con el fin de formar un complejo entre esta proteína y la molécula del ligando putativo ensayada.

Como ejemplo ilustrativo, para estudiar la interacción de un polipéptido que comprende un polipéptido como se muestra en la EC ID No 5, con fármacos o pequeñas moléculas, tales como las moléculas generadas a través de métodos químicos combinatorios, la microdiálisis se acopla al método de HPLC descrito por Wang *et al.* (1997) o el método de electroforesis capilar afinidad descrito por Bush *et al.* (1997).

En métodos adicionales, se pueden identificar péptidos, fármacos, ácidos grasos, lipoproteínas moléculas pequeñas que interactúan con un polipéptido que comprende un polipéptido como se muestra en la SEC ID No 5, mediante ensayos tales como los siguientes. La molécula para el ensayo de unión se marca con una marca detectable, tal como una marca fluorescente, radioactiva o enzimática y se pone en contacto con el polipéptido inmovilizado en condiciones que permiten que se produzca la unión específica. Después de la eliminación de las moléculas unidas en forma no específica, se detectan las moléculas unidas empleando medios apropiados.

Otro objeto de la presente invención comprende métodos y kits para la detección de sustancias candidatas que interactúan con un polipéptido canal iónico.

La presente invención se relaciona con métodos para la detección de sustancias de interés que interactúan con la proteína de CanIon o un fragmento o variante de la misma. Por su capacidad de unirse en forma covalente o no covalente a una proteína de CanIon o a un fragmento variante de la misma, estas sustancias o moléculas se pueden usar ventajosamente tanto *in vitro* como *in vivo*.

In vitro, se pueden usar dichas moléculas interactuantes como medios de detección para identificar la presencia de un polipéptido canal iónico en una muestra, con preferencia una muestra biológica.

Un método para la detección de una sustancia candidata comprende los siguientes pasos:

- a) proporcionar un polipéptido que comprende un polipéptido como se muestra en la SEC ID No 5;
- b) obtener una sustancia candidata
- c) poner en contacto dicho polipéptido con dicha sustancia candidata;
- d) detectar los complejos formados entre dicho polipéptido y dicha sustancia candidata.

La invención también trata de un kit para la detección de una sustancia candidata que interactúa con el polipéptido canal iónico, donde dicho kit comprende:

a) un polipéptido canal iónico que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEC ID No 5 de un fragmento del péptido o una variante del mismo;

b) opcionalmente medios útiles para detectar el complejo formado entre el polipéptido canal iónico o un fragmento del péptido o una variante del mismo y la sustancia candidata.

En una realización preferida del kit descrito anteriormente, los medios de detección comprenden anticuerpos monoclonales o policlonales dirigidos a contra el polipéptido canal iónico o a un fragmento del péptido o una variante del mismo.

Se pueden ensayar varias sustancias o moléculas candidatas para determinar la interacción con un polipéptido de CanIon. Estas sustancias o moléculas incluyen, sin limitación a, compuestos orgánicos naturales o sintéticos de origen biológico tales como polipéptidos. Cuando la sustancia o molécula candidata comprende un polipéptido, este polipéptido puede ser el producto de expresión de un clon del fago perteneciente a una genoteca de péptidos aleatoria basado en fago o alternativamente el polipéptido puede ser el producto de expresión resultante de una genoteca de ADNc clonada en un vector adecuado para realizar un ensayo de detección de dos híbridos.

La invención también se relaciona con kits útiles para realizar el método de detección descrito de aquí en adelante. Con preferencia, tales kits comprenden un canal iónico o un fragmento o variante de los mismos y opcionalmente medios útiles para detectar el complejo formado entre el polipéptido de CanIon o su fragmento o variante y la sustancia candidata. En una realización preferida los medios de detección comprenden anticuerpos monoclonales o policlonales dirigidos contra el correspondiente polipéptido canal iónico o un fragmento o variante de los mismos.

A. Ligandos candidatos obtenidos a partir de genotecas de péptidos aleatorios

En una realización particular del método de detección, el ligando putativo es el producto de expresión de un inserto de ADN contenido en un vector del fago (Parmley y Smith, 1988). Específicamente, se usan las genotecas de fagos de péptidos aleatorios. Los insertos de ADN aleatorios codifican para los péptidos de 8 a 20 aminoácidos de longitud (Oldenburg K.R. *et al.*, 1992; Valadon P., *et al.*, 1996; Lucas A.H., 1994; Westerink M.A.J., 1995; Felici F. *et al.*, 1991). De acuerdo con esta realización particular, se retienen los fagos recombinantes que expresan una proteína que se une a la proteína de CanIon inmovilizada y el complejo formado entre la proteína de CanIon y el fago recombinante posteriormente se puede inmunoprecipitar por un anticuerpo policlonal o monoclonal dirigido contra la proteína de CanIon.

Una vez que se ha construido la genoteca de los fagos recombinantes, la población de fagos se pone en contacto con la proteína de CanIon inmovilizada. Luego la preparación de los complejos se lava para eliminar los fagos recombinantes unidos en forma no específica. Los fagos que se unen específicamente a la proteína de CanIon luego se eluyen

con un buffer (pH ácido) o se inmunoprecipitan con el anticuerpo monoclonal producido por le hibridoma anti-CanIon y esta población de fagos posteriormente se amplifica por una sobreinfección de la bacteria (por ejemplo *E. coli*). El paso de selección se puede repetir varias veces, con preferencia 2-4 veces, con el fin de seleccionar los clones de fagos recombinantes más específicos. El último paso comprende la caracterización del péptido producido por los clones de fagos recombinantes seleccionados ya sea por expresión in la bacteria infectada y asilamiento, expresión del fago inserto en otro sistema del vector hospedador o por secuenciación del inserto contenido en los fagos recombinantes seleccionados.

B. *Ligandos candidatos obtenidos por experimentos de competencia*

Alternativamente, los péptidos, fármacos o moléculas pequeñas se unen la polipéptido canal iónico que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEC ID No 5 o un fragmento del péptido o una variante del mismo. En tales ensayos, el polipéptido canal iónico, o un fragmento del mismo, se inmoviliza a una superficie, tal como una placa de plástico. Cantidades crecientes de los péptidos, fármacos o moléculas pequeñas se ponen en contacto con el polipéptido canal iónico inmovilizado, o un fragmento del mismo, en presencia de un ligando conocido del polipéptido canal iónico con marca detectable. Por ejemplo, el ligando del polipéptido canal iónico marcado en forma detectable con una señal fluorescente, radioactiva o enzimática. La capacidad de la molécula de ensayo de unirse al polipéptido canal iónico o un fragmento del mismo, se determina por la medición de la cantidad de ligando conocido marcado en forma detectable unido en presencia de la molécula de ensayo. Una disminución de la cantidad de ligando conocido unido al polipéptido canal iónico o un fragmento del mismo, cuando la molécula de ensayo está presente indicó que la molécula de ensayo puede unirse al polipéptido canal iónico o un fragmento del mismo.

C. *Ligandos candidatos obtenidos por cromatografía de afinidad*

Las proteínas u otras moléculas interactúan con el polipéptido canal iónico que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEC ID No 5 o un fragmento del péptido o una variante del mismo. El polipéptido canal iónico o un fragmento del mismo, se puede unir al columna mediante técnicas convencionales que incluyen acoplamiento químico a una matriz de columna adecuada tal como agarosa, Affi Gel®, u otras matrices familiares para los expertos en la técnica. En alguna realizaciones de este método, la columna de afinidad contiene proteínas quiméricas en la cual la proteína de CanIon o un fragmento de la misma se fusiona a la glutatión S transferasa (GST). Una mezcla de proteínas celulares o combinación de proteínas expresadas como se describió anteriormente se aplica a la columna de afinidad. Las proteínas u otras moléculas que interactúan con el polipéptido canal iónico o un fragmento del mismo unidas a la columna luego se pueden aislar y analizar por electroforesis en gel 2-D como se describió anteriormente en Ramunsen *et al.* (1997). Alternativamente, las proteínas retenidas en la columna de afinidad se pueden purificar por métodos basados en electroforesis y secuenciar. El mismo método se puede usar para aislar anticuerpos, para detectar productos por despliegue del fago, o detectar los anticuerpos humanos por despliegue del fago.

D. *Ligandos candidatos obtenidos por métodos con biosensor óptico*

Las proteínas que interactúan con el polipéptido canal iónico que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEC ID No 5 o un fragmento del péptido o una variante del mismo también se pueden detectar por medio de un biosensor óptico como se describe en Edwards y Leatherbarrow (1997) y también en Szabo *et al.* (1995). Esta técnica permite la detección de las interacciones entre las moléculas en tiempo real, sin necesidad de moléculas marcadas. Esta técnica se basa en el fenómeno de la resonancia del plasmón superficial (SPR). Brevemente, la molécula del ligando candidato para el ensayo se une a una superficie (tal como una matriz de carboximetil dextrano). Un rayo de luz se dirige hacia el lado de la superficie que no contiene la muestra de ensayo y es reflejada por dicha superficie. El fenómeno de SPR causa una disminución de la intensidad de la luz reflejada con una asociación específica de ángulo y longitud de onda. La unión de las moléculas del ligando candidato origina un cambio en el índice de refracción sobre la superficie, tal cambio se detecta como un cambio en la señal de SPR. para la detección de las moléculas o sustancias del ligando candidato que puede interactuar con el polipéptido canal iónico o un fragmento del mismo, el polipéptido canal iónico o un fragmento del mismo, se inmoviliza sobre una superficie. Esta superficie comprende un lado de una celda a través de la cual fluye la molécula candidata ensayada. La unión de la molécula candidata al polipéptido canal iónico o un fragmento del mismo se detecta como un cambio de la señal de SPR. Las moléculas candidatas ensayadas pueden ser proteínas, péptidos, carbohidratos, lípidos o moléculas pequeñas generadas por reacciones químicas de combinación. Esta técnica también se puede realizar por la inmovilización de células eucariotas o procariotas o vesículas lipídicas que exhiben un polipéptido canal iónico endógeno o expresado en forma recombinante en su superficie.

La principal ventaja del método es que permite la determinación de la velocidad de asociación entre el polipéptido canal iónico y las moléculas interactuantes con el polipéptido canal iónico. De este modo es posible seleccionar específicamente moléculas de ligando que interactúan con el polipéptido canal iónico o un fragmento del mismo, mediante constantes de asociación fuertes o, a la inversa, débiles.

E. *Ligandos candidatos obtenidos mediante un ensayo de detección de dos híbridos*

El sistema de ensayo de dos híbridos en levaduras está diseñado para estudiar la interacción proteína-proteína *in vivo* (fields y Song, 1989), y depende de la fusión de una proteína cebo al dominio de unión del ADN de la proteína Gal4 de la levadura. Esta técnica también se describe en las Patentes Estadounidenses Nos. US 5.667.973 5.283.173 (Fields *et al.*).

El procedimiento general de la selección de la genoteca por el ensayo de dos híbridos se puede realizar como se describe en Harper *et al.* (1993), Cho *et al.* (1998), o Fromont-Racine *et al.* (1997).

La proteína o polipéptido cebo comprende, consiste esencialmente o consiste en un polipéptido canal iónico que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEC ID No 5 o un fragmento del péptido o una variante del mismo.

Más precisamente, la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido canal iónico o un fragmento o variante del mismo se fusiona a un polinucleótido que codifica el dominio de unión al ADN de la proteína GAL4, la secuencia de nucleótidos fusionada se inserta en un vector de expresión adecuada, por ejemplo pAS2 o pM3.

Luego, una genoteca de ADNc humana se construye en un vector diseñado especialmente, de modo tal que el inserto ADNc humano se fusiona a una secuencia de nucleótidos del vector que codifica el dominio transcripcional de la proteína GAL4. Con preferencia, el vector se usa en el vector pACT vector. Los polipéptidos codificados por los insertos de nucleótidos de la genoteca de ADNc se denominan polipéptidos "presa".

Un tercer vector contiene un gen marcador detectable, tal como el gen de beta galactosidasa o gen de CAT que se coloca bajo el control de una secuencia de regulación que responde a la unión de una proteína completa Gal4 que contiene ambos dominios de activación de transcripción de y unión a ADN, por ejemplo, se puede usar el vector pG5EC.

También se usan dos cepas de levaduras diferentes. Como un ejemplo ilustrativo pero no limitante, se pueden usar las dos cepas de levadura diferentes siguientes:

- Y190, cuyo fenotipo es (*MATa, Leu2-3,112 ura3-12, trp1-901, his3-0200, ade2-101, gal4Dgal180D URA3 GAL-LacZ, LYS GAL-H/33, cyh'*)

- Y187, cuyo fenotipo es (*MATa gal4 ga/80 his3 trp1-901 ade2-101 ura3-52/eu2-3, -112 URA3 GAL-lacZmet*), el cual es el tipo de apareamiento opuesto de Y190.

Brevemente, 20 μ g de la genoteca de pAS2/CanIon y 20 μ g de pACT-ADNc se co-transforman en cepas de levaduras Y190. Los transformantes se seleccionan para el crecimiento en un medio mínimo que carece de histidina, leucina y triptofano, pero que contiene el inhibidor de la síntesis de histidina 3-AT (50 mM). Se seleccionan las colonias positivas para la beta galactosidasa por un ensayo de liberación del filtro. Las colonias dobles positivas (His., beta-gal+) luego se incubaron en placas que carecen de histidina, leucina, pero contiene triptofano y cicloheximida (10 mg/ml) para seleccionar por pérdida de los plásmidos de pAS2/CanIon por retención de los plásmidos de la genoteca de pACT-ADNc. Las cepas resultantes Y190 se aparean con las cepas Y187 que expresan las proteínas de CanIon o control no relacionadas; tales como las ciclofilinas B, lamina o SNF1, como fusiones *Gal4* como se describe en Harper *et al.* (1993) y en Bram *et al.* (Bram RJ *et al.*, 1993), y se seleccionan por beta galactosidasa por ensayo de liberación de filtro. Los clones de levaduras que son *beta gal-* después del apareamiento con las fusiones de *Gal4* control se consideran falsos positivos.

En otra realización del método de dos híbridos de acuerdo con la invención, se puede evaluar la interacción entre el CanIon o un fragmento o variante del mismo con las proteínas celulares mediante el Matchmaker Two Hybrid System 2 (Catálogo No. K1604-1, Clontech). Como se describe en el manual que acompaña el Matchmaker Two Hybrid System 2 (Catálogo No. K1604-1, Clontech), los ácidos nucleicos que codifican la proteína de CanIon o una porción de la misma, se insertan en un vector de expresión de modo tal que estos están en marco con el ADN que codifica el dominio de unión de ADN del activador GAL4 de la transcripción de levaduras. Un ADNc deseado, con preferencia el ADNc humano, se inserta en un segundo vector de expresión de modo tal que ellos están en marco con el ADN que codifica el dominio de activación de GAL4. Los dos plásmidos de expresión se transforman en levaduras y las levaduras se incuban en un medio de selección que selecciona para la expresión de marcadores seleccionables en cada uno de los vectores de expresión además de la expresión dependiente de GAL4 del gen HIS3. Los transformantes capaces de crecer en un medio carente de histidina se selecciona por la expresión de lacZ dependiente de GAL4. Estas células que son positivas en ambos ensayos de selección de histidina e lacZ contienen interacción entre CanIon y la proteína o péptido codificado por el inserto de ADNc seleccionado inicialmente.

Método de detección de sustancias que interactúan con las secuencias regulatorias del gen de CanIon

La presente invención también trata de un método para la detección de sustancias o moléculas que pueden interactuar con las secuencias regulatorias del gen de CanIon, tal como por ejemplo las secuencias del promotor o potenciador.

Los ácidos nucleicos que codifican las proteínas que pueden interactuar con las secuencias regulatorias del gen de CanIon, más particularmente una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en los polinucleótidos de la región regulatoria 5' y 3' o un fragmento o variante de la misma y con preferencia una variante que comprende uno de los marcadores bialélicos adecuados para el uso en la invención, se puede identificar mediante un sistema de un híbrido, tal como en que se describe en el cuadernillo adjunto en el kit Matchmaker One-Hybrid System de Clontech (Catalog Ref. n° K1603-1). Brevemente, la secuencia de nucleótidos blanco se clona corriente arriba de una secuencia indicadora seleccionable y la construcción del ADN resultante se integra en el genoma de la levadura (*Saccharomyces*

cerevisiae). Las células de levaduras que contienen la secuencia indicadora en su genoma luego se transforman con una genoteca que comprende moléculas de fusión entre los ADNcs que codifican proteínas candidatas para unirse en las secuencias regulatorias del gen de CanIon y secuencias que codifican el dominio del activador de un factor de transcripción de una levadura tal como GAL4. Las células recombinantes de levaduras se incuban en un caldo de cultivo para seleccionar células que expresan la secuencia indicadora. Las células recombinantes de levaduras de este modo seleccionados contienen una proteína de fusión que es capaz de unirse sobre la secuencia regulatoria blanco del gen de CanIon. Luego, los ADNcs que codifican las proteínas de fusión se secuencian y se pueden clonar en los vectores de expresión o transcripción *in vitro*. La unión de los polipéptidos codificados a las secuencias regulatorias blanco del gen de CanIon se pueden confirmar las técnicas familiares para los expertos en la técnica, tal como los ensayos de retardo en geles o ensayos de protección de ADNsa.

Los ensayos de retardo en geles también se pueden realizar en forma independiente para detectar moléculas candidatas que pueden interactuar con las secuencias regulatorias del gen de CanIon, tal como fue descrito por Fried y Crothers (1981), Garner y Revzin (1981) y Dent y Latchman (1993). Estas técnicas se basan en el principio de acuerdo con el cual el fragmento de ADN que se une a una proteína migra más lento que el mismo fragmento de ADN no unido. Brevemente, la secuencia de nucleótidos blanco está marcada. Luego la secuencia de nucleótidos blanco marcada se ponen en contacto con un extracto nuclear total de las células que contienen factores de transcripción, o con moléculas candidatas diferentes ensayadas. La interacción entre la secuencia regulatoria blanco del gen de CanIon y la molécula candidata o el factor de transcripción se detecta después de la electroforesis del gel o capilar mediante un retardo de la migración.

Método para la detección de ligandos que modulan la expresión del gen de CanIon

Es adecuado para usar en la invención un método para la detección de moléculas que modulan la expresión de la proteína de CanIon. Tal método de detección comprende los pasos de:

- a) cultivar una célula procariota o eucariota que ha sido transfectado con una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína de CanIon o una variante o un fragmento del mismo, colocada bajo el control de su propio promotor,
- b) poner en contacto la célula cultivada con una molécula de ensayo;
- c) cuantificar la expresión de la proteína de CanIon o una variante o un fragmento del mismo.

En una realización, la secuencia de nucleótidos que codifica la proteína de CanIon o una variante o un fragmento del mismo comprende un alelo de por lo menos uno de los marcadores bialélicos A12 o A16 y los complementos del mismo.

Mediante las técnicas de recombinación de ADN bien conocidos por un experto en la técnica, la proteína de CanIon que codifica la secuencia de ADN se inserta en un vector de expresión, corriente abajo de su secuencia promotora. Como un ejemplo ilustrativo, la secuencia promotora del gen de CanIon está contenida en el ácido nucleico de la región regulatoria 5'.

La cuantificación de la expresión de la proteína de CanIon se puede realizar tanto a nivel del ARNm como a nivel de la proteína. En el último caso, se pueden usar anticuerpos monoclonales o policlonales para cuantificar las cantidades de la proteína de que se ha producido, por ejemplo en un ensayo de ELISA o RIA.

En una realización preferida, la cuantificación del ARNm de CanIon se realiza por una amplificación por PCR cuantitativa del ADNc obtenido por una transcripción reversa del ARNm total de la célula hospedante cultivada de CanIon -transfectada mediante un par de cebadores específicos para CanIon.

Es adecuado para el uso en la presente invención un método para detectar sustancias o moléculas que pueden aumentar o disminuir el nivel de expresión del gen de CanIon. Tal método puede permitir a un experto en la técnica para seleccionar sustancias que ejercen un efecto regulador en el nivel de expresión del gen de CanIon y que puede ser útil como los elementos activos incluidos composiciones farmacéuticas para tratar los pacientes que sufren de cualquiera de las enfermedades descritas en la presente memoria.

De este modo, es adecuado para el uso en la presente invención un método para la detección de una sustancia o molécula candidata que modula la expresión del gen de CanIon, este método comprende los siguientes pasos:

- proporcionar una célula hospedante recombinante que contiene un ácido nucleico, donde dicho ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos de la región regulatoria 5' o un fragmento o una variante biológicamente activo del mismo localizada corriente arriba del polinucleótido que codifica una proteína detectable;
- obtener una sustancia candidata; y
- determinar la capacidad de la sustancia candidata para modular los niveles de expresión del polinucleótido que codifica la proteína detectable.

En una realización adicional, el ácido nucleico que comprende la secuencia de nucleótidos de la región regulatoria 5' o un fragmento o una variante biológicamente activo del mismo también incluye una región 5'UTR del ADNc de CanIon de la SEC ID No 4, o uno de sus fragmentos biológicamente activos o variantes del mismo.

- 5 Entre los polinucleótidos preferidos que codifican una proteína detectable, se deben citar polinucleótidos que codifican una beta galactosidasa, proteína fluorescente verde (GFP) y cloranfenicol acetil transferasa (CAT).

10 Son adecuados para el uso en la presente invención los kits útiles para realizar el método de detección descrito en la presente memoria. Con preferencia, tales kits comprenden un vector recombinante que permite la expresión de la secuencia de nucleótidos de la región regulatoria 5' o un fragmento o una variante biológicamente activo del mismo localizada corriente arriba del polinucleótido y operativamente unida a un polinucleótido de acuerdo con una proteína detectable o la proteína de CanIon o un fragmento o variante de las mismas.

15 En otro método para la detección de una sustancia o molécula candidata que modula la expresión del gen de CanIon, el método comprende los siguientes pasos:

- 20 a) proporcionar una célula hospedante recombinante que contiene un ácido nucleico, donde dicho ácido nucleico comprende una secuencia de 5'UTR del ADNc de CanIon de la SEC ID No 4, o uno de sus fragmentos biológicamente activos o variantes del mismo, la secuencia de 5'UTR o sus fragmentos o variantes biológicamente activos que están operativamente unidos a un polinucleótido que codifica una proteína detectable;
- b) obtener una sustancia candidata; y
- 25 c) determinar la capacidad de la sustancia candidata para modular los niveles de expresión del polinucleótido que codifica la proteína detectable.

30 En una realización específica del método de detección anterior, el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en la secuencia 5'UTR del ADNc de CanIon de la SEC ID No 4, o uno de sus fragmentos o variantes biológicamente activos del mismo, incluye una secuencia promotora que es endógena con respecto a la secuencia 5'UTR de CanIon.

35 En otra realización específica del método de detección anterior, el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en la secuencia de 5'UTR de del ADNc de CanIon de la SEC ID No 4, o uno de sus fragmentos o variantes biológicamente activos del mismo, incluye una secuencia del promotor que es exógena con respecto a la secuencia de 5'UTR de CanIon definida en la presente memoria.

40 En otra realización específica, el ácido nucleico que comprende una secuencia de 5'-UTR del ADNc de CanIon de la SEC ID No 4 o fragmentos biológicamente activos del mismo incluye un marcador bialélico seleccionado del grupo que consiste en A12 o A16 o los complementos del mismo.

45 Es adecuado para usar en la invención un kit para la detección de una sustancia candidata que modula la expresión del gen de CanIon, donde dicho kit comprende un vector recombinante que comprende un ácido nucleico que incluye una secuencia de 5'-UTR del ADNc de CanIon de la SEC ID No 4 o uno de sus fragmentos o variantes biológicamente activos del mismo, la secuencia de 5'UTR o su fragmento o variante biológicamente activo operativamente unida a un polinucleótido que codifica una proteína detectable.

50 Los niveles y patrones de expresión de CanIon se pueden analizar por la hibridación de la solución con sondas largas como se describe en la Solicitud de Patente Internacional No. WO 97/05277. Brevemente, el ADNc de CanIon o el ADN genómico de CanIon descrito anteriormente o fragmentos del mismo, se inserta en un sitio de clonación inmediatamente corriente abajo de un promotor de ARN polimerasa del bacteriófago (T3, T7 o SP6) para producir un ARN antisentido. Con preferencia, el inserto de CanIon comprende por lo menos 100 o más nucleótidos consecutivos de la secuencia genómica del ADN las secuencias de ADNc. El plásmido se linealiza y transcribe en presencia de ribonucleótidos que comprenden ribonucleótidos modificados (es decir, biotina-UTP y DIG-UTP). Un exceso de este ARN marcado en forma doble se hibridiza en solución con el ARNm aislado de las células o tejidos de interés. La hibridación se realiza en condiciones de rigurosidad estándar (40-50°C durante 16 horas en formamida 80%, buffer NaCl 0,4 M, pH 7-8). La sonda no hibridizada se elimina por digestión con ribonucleasas específicas para ARN de cadena simple (es decir ARNasas CL3, T1, Phy M, U2 o A). La presencia de la modificación de biotina-UTP permite la captura del híbrido en una placa de microtitulación recubierta con estreptavidina. La presencia de la modificación DIG permite que el híbrido sea detectado y cuantificado por ELISA mediante un anticuerpo anti-DIG acoplado a la fosfatasa alcalina.

65 El análisis cuantitativo de la expresión del gen de CanIon también se puede realizar mediante matrices. Como se usa en la presente memoria, el término matriz significa una disposición unidimensional, dos dimensiones o multidimensional de una pluralidad de los ácido nucleicos de longitud suficiente para permitir la detección específica de la expresión de los ARNm que pueden hibridizar a los mimos. Por ejemplo, las matrices pueden contener una pluralidad de los ácido nucleicos derivados de los genes cuyos niveles de expresión se evalúan. Las matrices pueden incluir el ADN genómico de CanIon, las secuencias del ADNc de CanIon o las secuencias complementarias de las mismas o fragmentos del mismo, particularmente estos comprenden por lo menos uno de los marcadores bialélicos de acuerdo

con la presente invención, con preferencia por lo menos uno de los marcadores bialélicos A1 a A17. Con preferencia, los fragmentos son por lo menos de 15 nucleótidos de longitud. En otras realizaciones, los fragmentos son por lo menos de 25 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, los fragmentos son por lo menos de 50 nucleótidos de longitud. Con más preferencia, los fragmentos son por lo menos de 100 nucleótidos de longitud. En otra realización preferida, los fragmentos son más de 100 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones los fragmentos pueden ser más de 500 nucleótidos de longitud.

Por ejemplo, el análisis cuantitativo de la expresión del gen de CanIon se puede realizar con una micromatriz de ADN complementario como se describe en Schena *et al.* (1995 y 1996). Los ADNc de CanIon de longitud completa o fragmentos del mismo se amplifican por PCR y se dispone en una placa de microtitulación de 96 pocillos en extendidos de microscopio sililado mediante robótica de alta velocidad. Las matrices impresas se incuban en una cámara de humedad para permitir la rehidratación de los elementos de la matriz y se enjuagan, una vez en SDS 0,2% durante 1 min, dos veces en aguadurante 1 min y una vez durante 5 min en una solución de borohidruro de sodio. Las matrices se sumergen en agua durante 2 min a 95°C, se transfieren a SDS 0,2% durante 1 min, se enjuagan dos veces con agua, secan al aire y conservan en la oscuridad a 25°C.

El ARNm de la célula o tejido se aísla o se obtiene en forma comercial y se preparan las sondas por una única ronda de transcripción reversa. Las sondas se hibridizan en micromatrices de 1 cm² bajo una cubierta de vidrio 14 x 14 mm durante 6-12 horas a 60°C. Las matrices se lavan durante 5 minutos a 25°C en un buffer de lavado de baja rigurosidad (1 x SSC/SDS 0,2%), luego durante 10 min a temperatura ambiente en un buffer de alta rigurosidad (0,1 x SSC/SDS 0,2%). Las matrices se barren en 0,1 x SSC mediante un dispositivo de barrido de fluorescencia láser ajustado a un juego de filtros comunes. Las mediciones de expresión diferencial precisas se obtienen tomando el promedio de las relaciones de dos hibridaciones independientes.

El análisis cuantitativo de la expresión del gen de CanIon también se pueden realizar con los ADNc de CanIon de longitud completo o fragmentos del mismo en las matrices de ADN complementario se describen en Pietu *et al.* (1996). El ADNc de CanIon de longitud completo o fragmentos del mismo se amplifica por PCR y se salpican las membranas. Luego, los ARNm que se originan de diferentes tejidos o células se marcan con nucleótidos radioactivos. Después de la hibridación y lavado en condiciones controladas, los ARNm hibridizados se detectan por imágenes de fósforo o autorradiografía. Se realizan los experimentos por duplicado y luego se lleva a cabo un análisis cuantitativo de ARNm expresado en forma diferencial.

Alternativamente, el análisis de la expresión mediante el ADN genómico de CanIon, el ADNc de CanIon o fragmentos del mismo se puede hacer mediante matrices de nucleótidos de alta densidad como se describe en Lockhart *et al.* (1996) y Sosnowsky *et al.* (1997). Los oligonucleótidos de 15-50 nucleótidos de las secuencias del ADN genómico de CanIon o el ADNc de CanIon, particularmente las que comprenden por lo menos uno de los marcadores bialélicos de acuerdo con la presente invención, con preferencia por lo menos un marcador bialélico seleccionado del grupo que consiste en A1 a A17, o las secuencias complementarias del mismo, se sintetizan directamente en el chip (Lockhart *et al.*, *supra*) o se sintetizan y luego se dirigen la chip (Sosnowski *et al.*, *supra*). Con preferencia, los oligonucleótidos son aproximadamente 20 nucleótidos de longitud.

Las sondas de ADNc de CanIon marcadas con un compuesto apropiado, tal como biotina, digoxigenina o colorante fluorescente se sintetizan a partir de la población de ARNm apropiada y luego se fragmentan al azar en un tamaño promedio de 50 a 100 nucleótidos. Las sondas luego se hibridizan al chip. Después del lavado como se describe en Lackhart *et al.*, *supra* y la aplicación de campos eléctricos diferentes (Sosnowsky *et al.*, 1997), los colorantes o compuestos marcados se detectan y cuantifican. Se realizan las hibridaciones por duplicado. El análisis comparativo de la intensidad de la señal que origina las sondas de ADNc en el mismo oligonucleótido blanco en muestras de ADNc diferentes indica una expresión diferencial del ARNm de CanIon.

Métodos para inhibir la expresión de un gen de CanIon

Otras composiciones terapéuticas de acuerdo con la presente invención comprenden ventajosamente un fragmento de oligonucleótido de la secuencia nucleica de CanIon como una herramienta antisentido o una herramienta triple hélice que inhibe la expresión del gen de CanIon correspondiente. Un fragmento preferido de la secuencia nucleica de CanIon comprende un alelo de por lo menos uno de los marcadores bialélicos A1 a A17.

Enfoque antisentido

Los métodos preferidos para usar polinucleótidos antisentido de acuerdo con la presente invención son los procedimientos descriptos por Sczakiel *et al.* (1995).

Con preferencia, las herramientas antisentido se eligen entre los polinucleótidos (15-200 pb de largo) que son complementarias con el extremo 5' de ARNm de CanIon ARNm. En otra realización, se usa una combinación de diferentes polinucleótidos antisentido complementarios con partes diferentes del gen blanco deseado.

Los polinucleótidos antisentido preferidos de acuerdo con la presente invención son complementarios con una secuencia de los ARNm de CanIon contienen tanto el codón de iniciación de traducción ATG o un dador de empalme o sitio aceptor.

Los ácidos nucleicos antisentido deben tener una longitud y temperatura de fusión suficiente para permitir la formación de un duplex intracelular que tiene estabilidad suficiente para inhibir la expresión del ARNm de CanIon ARNm en el duplex. Las estrategias para diseñar ácidos nucleicos antisentido adecuados para el uso en la terapia génica se revelan en Green *et al.* (1986) e Izant y Weintraub (1984).

En algunas estrategias, las moléculas antisentido se obtienen por inversión de la orientación de la región codificadora de CanIon con respecto a un promotor de modo que transcribe la cadena opuesta de la cual se transcribe normalmente en la célula. Las moléculas antisentido se pueden transcribir mediante los sistemas de transcripción *in vitro* tales como las que emplean T7 o SP6 polimerasa para generar el transcripto. Otro método incluye la transcripción de los ácidos nucleicos antisentido de CanIon *in vivo* por unión operativa al ADN que contiene la secuencia antisentido a un promotor en un vector de expresión adecuado.

Alternativamente, las estrategias antisentido adecuadas son las descritas por Rossi *et al.* (1991), en las solicitudes internacionales Nos. WO 94/23026, WO 95/04141, WO 92/18522 y la solicitud de Patente Europea No. EP 0 572 287 A2.

Una alternativa a la tecnología antisentido que se usa de acuerdo con la presente invención comprende mediante ribozimas que unirán a una secuencia blanco por medio de su cola de polinucleótido complementaria y que escindirá el ARN correspondiente por hidrólisis de su sitio blanco (a saber "ribozima cabeza de martillo"). Brevemente, el ciclo simplificado de una ribozima cabeza de martillo comprende (1) una secuencia de unión específica al ARN blanco por medio de secuencias antisentido complementarias; (2) hidrólisis sitio-específica del motivo escindible de la cadena blanco; y (3) liberación de los productos de escisión, que da origen a otro ciclo catalítico. En efecto, el uso de un polinucleótido antisentido de cadena larga (por lo menos 30 bases de largo) o de ribozimas con ramas antisentido largas es ventajoso. Un sistema de liberación preferido para la ribozima antisentido se obtiene por la unión covalente de estas ribozimas antisentido a grupos lipofílicos o al uso de liposomas como un vector conveniente. Las ribozimas antisentido preferidas de acuerdo con la presente invención se preparan como se describe en Sczakiel *et al.* (1995).

Enfoque de triple hélice

El ADN genómico de CanIon también se puede usar para inhibir la expresión del gen de CanIon basado en la formación de la triple hélice intracelular.

Los oligonucleótidos de triple hélice se usan para inhibir la transcripción a partir de un genoma. Estos son particularmente útiles para el estudio de las alteraciones de la actividad celular cuando se asocia con el gen particular.

Asimismo, una porción del ADN genómico de CanIon genomic ADN se puede usar para estudiar el efecto de inhibir la transcripción de CanIon dentro de una célula. Tradicionalmente, se consideraron que las secuencias de homopurina son las más útiles para las estrategias de la triple hélice. Sin embargo, las secuencias de homopurina también pueden inhibir la expresión génica. Tales oligonucleótidos de homopiridina se unen la principal surco de las secuencias homopurina:homopiridina. De este modo, ambos tipos de secuencias del ADN genómico de CanIon están contempladas dentro del alcance de la invención.

Para llevar a cabo las estrategias de la terapia génica mediante el método de la triple hélice, primero se barren las secuencias del ADN genómico de CanIon para identificar extensiones de homopiridina u homopurina de 10-mer a 20-mer que se podrían usar en estrategias basadas en la triple hélice por la inhibición de la expresión de CanIon. Después de la identificación de extensiones de homopiridina u homopurina candidatas, se evalúa su eficiencia para inhibir la expresión de CanIon 'por medio de la introducción de cantidades variadas de oligonucleótidos que contienen las secuencias candidatas en células de cultivos de tejidos que expresan el gen de CanIon.

Los oligonucleótidos se pueden introducir en las células empleando una variedad de métodos conocidos por los expertos en la técnica, que incluyen, pero sin limitación, la precipitación con fosfato de calcio, DEAE-Dextrano, electroporación, transfección mediada por liposomas o captación nativa.

Las células tratadas se monitorean en cuanto a la función alterada o expresión de CanIon reducida mediante técnicas tales como transferencia Northern, ensayos de protección de ARNasa o estrategias basadas en PCR para controlar los niveles de transcripción del gen de CanIon en las células que han sido tratadas con el oligonucleótido.

Los oligonucleótidos que son efectivos para inhibir la expresión génica en las células de cultivos tisulares luego se pueden introducir *in vivo* mediante las técnicas descritas anteriormente en el método antisentido con una dosis calculada basada en los resultados *in vitro*, como se describe en un método antisentido.

En algunas realizaciones, los anómeros (beta) naturales de las unidades de oligonucleótidos se pueden reemplazar con anómeros alfa para producir el oligonucleótido más resistente a las nucleasas. Además, un agente de intercalación tal como bromuro de etidio o similares, se puede unir al extremo 3' y el oligonucleótido alfa para estabilizar la triple hélice. Para la información de la generación de los oligonucleótidos adecuados para formación de la triple hélice ver Griffin *et al.* (1989).

*Composiciones y formulaciones farmacéuticas**Compuestos que modulan CanIon*

- 5 Empleando los métodos revelados en la presente memoria, se pueden identificar los compuestos agonistas o antagonistas de CanIon que modulan selectivamente la actividad de CanIon *in vitro* e *in vivo*. La invención de este modo abarca los métodos de tratamiento de la esquizofrenia, trastorno bipolar o cualquiera de los otras enfermedades o afecciones descritas en la presente memoria en un paciente que comprende la administración de una cantidad efectiva de un compuesto que modula a CanIon. Con preferencia, dicho compuesto es un compuesto en forma selectiva a CanIon.
- 10 Los compuestos identificados por el proceso de la invención incluyen, por ejemplo, anticuerpos que tienen especificidad de unión para un polipéptido de CanIon humano, también se espera que los homólogos de CanIon pueden ser útiles para modular la actividad mediada por CanIon y la afección fisiológica asociada con la esquizofrenia o trastorno bipolar. Generalmente, además se espera que los métodos de ensayo de la presente invención basados en el papel del CanIon en el trastorno del sistema nervioso central se puedan usar para identificar compuestos capaces de intervenir
- 15 en la cascada de ensayo de la invención. En una realización preferida, un paciente que sufre de esquizofrenia o trastorno bipolar se trata por la administración al paciente de una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un antagonista de CanIon.

Indicaciones

- 20 Si bien CanIon se une a la región genómica asociada con esquizofrenia y trastorno bipolar, las indicaciones que involucran a CanIon pueden incluir varios trastornos del sistema nervioso central. Se espera que los trastornos del sistema nervioso tengan bases genéticas complejas y con frecuencia comparten ciertos síntomas. En particular, como se describe en la presente memoria, las indicaciones pueden incluir esquizofrenia y otros trastornos psicóticos,
- 25 trastornos del estado de ánimo, autismo, dependencia de sustancias y alcoholismo, epilepsia, trastornos del dolor, retardo mental y otras enfermedades psiquiátricas que incluyen trastornos cognitivos, ansiedad, alimentación, control de impulsos y de personalidad, como se definen en la v clasificación del Manual de diagnóstico y estadística de los trastornos mentales cuarta edición (DSMIV). Además, también se pueden tratar numerosos trastornos cardiovasculares que incluyen a angina, hipertensión, y arritmias mediante los moduladores de CanIon, con preferencia
- 30 antagonistas.

Formulaciones farmacéuticas y vías de administración

- Los compuestos identificados mediante los métodos de la presente invención se pueden administrar a un mamífero,
- 35 que incluyen a un paciente humano, solo o en composiciones farmacéuticas donde estas se mezclan con vehículo(s) o excipiente(s) adecuados en dosis terapéuticamente efectivas para tratar o mejora los trastornos relacionados con la esquizofrenia o trastorno bipolar. Una dosis terapéuticamente efectiva además se refiere a la cantidad del compuesto suficiente para producir una mejora de los síntomas tal como se determina por los métodos descritos en la presente memoria. Con preferencia, una dosis terapéuticamente efectiva es adecuada para el uso o administración periódica.
- 40 Las técnicas para la formulación y administración de los compuestos de la presente solicitud se pueden hallar en "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Co., Easton, PA, última edición.

Vías de administración

- 45 Las vías de administración adecuadas incluyen la administración oral, rectal, transmucosa o intestinal, liberación parenteral que incluye inyecciones intramuscular, subcutánea, intramedular, además de inyecciones intratecal, intraventricular directa, intravenosa, intraperitoneal, intranasal o intraocular. Un método particularmente útil de administración de los compuestos para el tratamiento de la enfermedad del sistema nervioso central incluye la implantación quirúrgica de un dispositivo para la administración del compuesto durante un periodo de tiempo extendido. Están
- 50 particularmente contempladas las formulaciones de liberación sostenida de los medicamentos inventados.

Composición/Formulación

- Las composiciones farmacéuticas y medicamentos para el uso de acuerdo con la presente invención se pueden
- 55 formular en forma convencional empleando uno o más vehículos aceptables para uso fisiológico que comprende excipientes y auxiliares. La formulación apropiada es dependiente de la vía de administración elegida.

- Para la inyección, los agentes de la invención se pueden formular en soluciones acuosas, con preferencia en buffers fisiológicamente compatibles tales como la solución de Hanks, solución de Ringer o buffer salino fisiológico como
- 60 un buffer de fosfato o bicarbonato. Para la administración por la transmucosa, se usan agentes penetrantes apropiados para permeabilizar la membrana en la formulación. Tales agentes penetrantes son generalmente conocidos en la técnica.

- Las preparaciones farmacéuticas que se pueden usar por vía oral incluyen cápsulas duras compuestas de gelatina,
- 65 así también como blandas, cápsulas selladas compuestas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas duras puede contener los elementos activos en una mezcla con rellenos tales como lactosa, aglutinantes como almidones, y/o lubricantes tal como talco o estearato de magnesio y opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas blandas, el compuesto activo se puede disolver o suspender en líquidos adecuados, tal como aceites grasos,

parafina líquida, o polietilenglicoles líquidos. Además, se pueden agregar estabilizantes. Todas las formulaciones para la administración oral deberán ser en dosis adecuadas para tal administración.

Para la administración bucal, las composiciones pueden adoptar la forma de comprimidos o pastillas formuladas de manera convencional.

Para la administración por inhalación, los compuestos para uso de acuerdo con la presente invención se administran convenientemente en forma de una presentación de aerosol de aspersión a partir de envases presurizados o un nebulizador con el uso de un gas propelente adecuado, por ej. dióxido de carbono. En el caso de un aerosol presurizado la unidad de dosis se puede determinar por la provisión de una válvula para administrar una cantidad medida. Las cápsulas y cartuchos de, por ej., gelatina, para usar en un inhalador o insuflador, se pueden formular con una mezcla de polvo que contiene el compuesto y una base de polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

Los compuestos se pueden formular para administración parenteral por inyección, por ej., por inyección en bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección se pueden presentar de formas de unidades, por ej., en ampollas o recipientes de dosis múltiples con un conservante agregado. Las composiciones pueden adoptar tales formas como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos acuosos y pueden contener agentes de la formulación tal como agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión.

Las formulaciones farmacéuticas para la administración parenteral incluyen a soluciones acuosas de los compuestos activos en forma hidrosoluble. Las suspensiones acuosas pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tal como celulosa carboximetil sódica, sorbitol, o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también contiene agentes o estabilizantes adecuados que aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de soluciones altamente concentradas.

Alternativamente, el elemento activo puede estar en forma de polvo o de liofilizado para la constitución con un vehículo adecuado, tal como agua estéril libre de pirógenos, antes del uso.

Además de las formulaciones descritas anteriormente, los compuestos también se pueden formular como una preparación en depósito. Tales formulaciones de acción prolongada se pueden administrar por implantación (por ejemplo por vía subcutánea o intramuscular) o por inyección intramuscular. De este modo, por ejemplo, los compuestos se pueden formular materiales poliméricos o hidrofóbicos adecuados (por ejemplo como una emulsión en un aceite aceptable) o en resinas de intercambio iónico, o como derivados solubles en poca cantidad, por ejemplo, como una sal soluble en poca cantidad.

Adicionalmente, los compuestos se pueden administrar mediante un sistema de liberación sostenida, tal como matrices semipermeables de polímeros hidrofóbicos sólidos que contienen el agente terapéutico. Se han establecido varios materiales de liberación sostenida y son bien conocidos por los expertos en la técnica. Las cápsulas de liberación sostenida pueden, dependiendo de su naturaleza química, libera los compuestos durante unas pocas semanas hasta más de 100 días.

De acuerdo con su naturaleza química y estabilidad biológica del reactivo terapéutico, se pueden emplear estrategias adicionales para la estabilización de las proteínas.

Las composiciones farmacéuticas pueden comprender también vehículo o excipientes adecuados en fase sólida o en gel. Los ejemplos de tales vehículos o excipientes incluyen pero sin limitaciones a carbonato de calcio, fosfato de calcio, diferentes azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como polietilenglicoles.

Dosis efectiva

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para el uso en la presente invención incluyen composiciones donde los elementos activos están contenidos en una proporción efectiva para lograr su propósito. Más específicamente, una cantidad terapéuticamente efectiva significa una cantidad efectiva para evitar el desarrollo o aliviar los síntomas existentes del sujeto tratado. La determinación de las cantidades efectivas están dentro de las capacidades de los expertos en la técnica, especialmente a la luz de la revelación detallada proporcionada en la presente memoria.

Para cualquier compuesto usado en el método de la invención, la dosis terapéuticamente efectiva se puede estimar inicialmente de los ensayos de cultivos celulares y se puede formular una dosis en modelos animales. Tal información se puede usar para determinar más exactamente las dosis útiles en seres humanos.

Una dosis terapéuticamente efectiva se refiere a esa cantidad de compuesto que produce la mejora de los síntomas del paciente. La toxicidad y eficacia terapéutica de tales compuestos se puede determinar por procedimientos farmacéuticos estándares en cultivos celulares o animales experimentales, por ej., para la determinación de la LD50, (dosis letal para el 50% de la población de ensayo) y la ED50 (dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población). La relación de la dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y se puede expresar como la relación entre LD50 y ED50. Los compuestos que presentan índices terapéuticos altos son los preferidos.

Los datos obtenidos de estos ensayos de cultivos celulares y estudios de animales se pueden usar para formular

ES 2 271 092 T3

un rango de dosis para el uso en seres humanos. La dosis de tales compuestos está con preferencia dentro de las concentraciones circulantes que incluyen la ED50, con poca o ninguna toxicidad. La dosis puede variar dentro de este rango de acuerdo con la forma de dosis empleada y la vía de administración utilizada. La formulación exacta, la vía de administración y la dosis pueden ser elegidas por el médico individual en vista de la afección del paciente. (Ver por ej., Fingl *et al.*, 1975, in "The Pharmacological Basis of Therapeutics", Ch. 1).

Ejemplos

Ejemplo 1

Identificación de marcadores bialélicos - Extracción de ADN

Los dadores fueron no relacionados y saludables. Presentaron diversidad suficiente para ser representativos de una población francesa heterogénea. Se extrajo el ADN de 100 individuos y se ensayo para la detección de los marcadores bialélicos.

Se tomaron 30 ml de sangren venosa periférica de cada donante en presencia de EDTA. Se recogieron las células (sedimento) después de la centrifugación durante 10 minutos a 2000 rpm. Se lisaron los eritrocitos con una solución de lisis (volumen final 50 ml: Tris 10 mM pH 7,6; MgCl₂ 5 mM; NaCl 10 mM). La solución se centrifugó (10 minutos, 2000 rpm) tantas veces como fuera necesario para eliminar los eritrocitos residuales presentes en el sobrenadante, después de la resuspensión del sedimento en la solución de lisis.

El sedimento de los leucocitos se lisó durante toda la noche a 42°C con 3,7 ml de solución de lisis compuesta de:

- 3 ml de TE 10-2 (Tris-HCl 10 mM, EDTA 2 mM)/NaCl 0,4 M

- 200 µl de SDS 10%

- 500 µl de K-proteinasa (2 mg de K-proteinasa en TE 10-2 NaCl 0,4 M)

Para la extracción de las proteínas, se agregó 1 ml de NaCl saturado (6M) (1/3,5 v/v). Después de la agitación vigorosa, la solución se centrifugó durante 20 minutos a 10.000 rpm.

Para la preparación de ADN, se agregaron 2 a 3 volúmenes de etanol 100% al sobrenadante previo y la solución se centrifugó durante 30 minutos a 2000 rpm. La solución de ADN se enjuagó tres veces con etanol 70% para eliminar las sales, y se centrifugó durante 20 minutos a 2000 rpm. El sedimento se secó a 37°C, y se resuspendió en 1 ml de TE 10-1 o 1 ml de agua. La concentración de ADN se evaluó por la medición de la DO a 260 nm (1 unidad de DO = 50 µg/ml de ADN).

Para determinar la presencia de las proteínas en la solución de ADN, se determinó la relación de DO 260/DO 280. Sola las preparaciones de ADN que tienen una relación DO 260/DO 280 entre 1,8 y 2 se usaron en los ejemplos subsiguiente que se describen a continuación.

La combinación se constituyó por la mezcla de cantidades equivalentes de ADN de cada individuo.

Ejemplo 2

Identificación de marcadores bialélicos: Amplificación del ADN genómico por PCR

La amplificación de las secuencias genómicas específicas de las muestras de ADN del ejemplo 1 se llevó a cabo con una mezcla de ADN obtenida previamente. Además, se amplificaron de modo similar 50 muestras individuales.

Los ensayos de PCR se realizaron mediante el siguiente protocolo:

Volumen final	25/µl
ADN	2 ng/µl
MgCl ₂	2 mM
dNTP (cada uno)	200/µM
cebador (cada uno)	2,9 ng/µl
Arnpli Taq Gold ADN polimerasa	0,05 unidad/µl
Buffer de PCR (10x=TrisHCl 0,1M pH 8,3 KCl 0,5M) 1x	

Cada par de primeros cebadores se diseñó mediante la información de secuencia del gen de CanIon revelado la presente memoria y el programa de computación OSP (Hillier & Green, 1991). Este primer par de cebadores fue de aproximadamente 20 nucleótidos de longitud y presentó las secuencias descriptas en la Tabla 1 en las columnas marcadas PU y RP.

TABLA 1

Amplicón	Rango de posición del amplicón en la SEC ID 1		Nombre del cebador	Rango de posición del cebador de amplificación en la SEC ID No 1		Nombre del cebador	Rango de posición complementaria del cebador de amplificación en la SEC ID No 1	
99-62626	12343	12810	B1	12343	12363	C1	12793	12810
99-62632	13814	14296	B2	13814	13832	C2	14279	14296
99-62633	24863	25396	B3	24863	24881	C3	25378	25396
99-62611	69198	69650	B4	69198	69218	C4	69632	69650
99-62605	73005	73483	B5	73005	73022	C5	73466	73483
99-62635	79808	80334	B6	79808	79826	C6	80314	80334
Amplicón	Rango de posición del amplicón en la SEC ID 2		Nombre del cebador	Rango de posición del cebador de amplificación en la SEC ID No 2		Nombre del cebador	Rango de posición complementaria del cebador de amplificación en	
99-79335	51031	51559	B7	51031	51051	C7	51539	51559
99-79336	60925	61374	B8	60925	60945	C8	61354	61374
99-79338	80271	80720	B9	80271	80290	C9	80700	80720
99-79339	91037	91486	B10	91037	91056	C10	91466	91486
99-79314	100285	100784	B11	100285	100305	C11	100764	100784
99-79316	106568	107020	B12	106568	106585	C12	107000	107020
99-79322	165864	166401	B13	165864	165884	C13	166381	166401
99-79306	235713	236210	B14	235713	235732	C14	236190	236210
Amplicón	Rango de posición del amplicón en la SEC ID 3		Nombre del cebador	Rango de posición del cebador de amplificación en la SEC ID No 3		Nombre del cebador	Rango de posición complementaria del cebador de amplificación en	
99-79310	31618	32100	B15	31618	31635	C15	32080	32100
99-79311	42324	42723	B16	42324	42344	C16	42704	42723
99-62617			B17		20	C17	435	453

Con preferencia, los cebadores contenían una cola de oligonucleótidos común corriente arriba de las bases específicas identificadas para la amplificación que fue útil para la secuenciación.

Los cebadores PU contienen la siguiente secuencia adicional PU 5': TGTAACGACGGCCAGT; los cebadores RP contienen la siguiente secuencia RP 5': CAGGAAACAGCTATGACC. El cebador que contiene la secuencia adicional PU 5' se lista en la SEC ID No 7. El cebador que contiene la secuencia adicional RP 5' se lista en la SEC ID No 8.

La síntesis de estos cebadores se realizó siguiendo el método de fosforamidita en un sintetizador GENSET UFPS 24.1.

La amplificación de ADN se llevó a cabo en un termociclador Genius II. Después del calentamiento a 95°C durante 10 min, se realizaron 40 ciclos. Cada ciclo comprendió: 30 segundos a 95°C, 54°C durante 1 min, y 30 segundos a 72°C.

ES 2 271 092 T3

Para la elongación final, 10 min a 72°C y finalizó la amplificación. Las cantidades de los productos de amplificación obtenidos se determinaron en palcas de microtitulación de 96 pocillos, empleando fluorómetro y Picogreen como agente intercalante (Molecular Probes).

5 Ejemplo 3

Identificación de Marcadores bialélicos - Secuenciación de ADN genómico amplificado e identificación de polimorfismos

10 La secuenciación del ADN amplificado obtenido del ejemplo 2 se llevó a cabo en los secuenciadores ABI 377. Las secuencias de los productos de amplificación se determinaron empleando reacciones de secuenciación automatizadas del terminador dideoxi con un protocolo de secuenciación del ciclo terminador con colorante. Los productos de las reacciones de secuenciación se corrieron en geles de secuenciación y las secuencias se determinaron mediante el análisis de imágenes en geles (ADN programa de análisis de secuenciación de ADN ABI Prism (2.1.2 versión)).

15 Los datos de secuencia se evaluaron para detectar la presencia de los marcadores bialélicos dentro de los fragmentos amplificados. La búsqueda de polimorfismos se basó en la presencia de picos superpuestos en el patrón de electroforesis que resulta de las diferentes bases que aparecen en la misma posición como se describió previamente.

20 En los 17 fragmentos de amplificación, se detectaron 18 marcadores bialélicos. La localización de estos marcadores bialélicos son las que muestran en la Tabla 2.

25 (Tabla pasa a página siguiente)

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 271 092 T3

TABLA 2

Amplicón	BM	Nombre del marcador	Polimorfismo		Posición de BM en la SEC ID	
			all1	all2	No 1	No 4
99-62626	A1	99-62626-168			12642	
99-62632	A2	99-62632-275			14088	
99-62633	A3	99-62633-409			24981	
99-62611	A4	99-62611-51			69248	
99-62605	A5	99-62605-56			73428	
99-62635	A6	99-62635-443			80250	
Amplicón	BM	Nombre del marcador	Polimorfismo		Posición de BM en la SEC ID	
			all1	all2	No 1	No 4
99-79335	A7	99-79335-60			51090	
99-79336	A8	99-79336-369			61293	
99-79338	A9	99-79338-332			80602	
Amplicón	BM	Nombre del marcador	Polimorfismo		Posición de BM en la SEC ID	
			all1	all2	No 2	No 4
99-79314	A10	99-79314-201			100485	
99-79314	A11	99-79314-225			100509	
99-79316	A12	99-79316-158			106725	1658
99-7932	A13	99-79322-224			166087	
99-79322	A14	99-79322-473			166336	
99-79306	A15	99-79306-182			235894	
			all1	all2	No 3	No 4
99-79310	A16	99-79310-29			31646	4481
99-79311	A17	99-79311-50			42373	
Amplicón	BM	Nombre del marcador	Polimorfismo		Posición de BM en la SEC ID	
			all1	all2	No6	
99-62617	A16	99-62617-105			105	

BM se refiere al “marcador bialélico”. All1 y all2 se refieren respectivamente al alelo 1 y alelo 2 del marcador bialélico.

TABLA 3

BM	Nombre del marcador	Rango de posición de la sonda de la SEC ID No 1		Sondas
A1	99-62626-168	12630	12654	P1
A2	99-62632-275	14076	14100	P2
A3	99-62633-409	24969	24993	P3
A4	99-62611-51	69236	69260	P4
A5	99-62605-56	73416	73440	P5
A6	99-62635-443	80238	80262	P6
BM	Nombre del marcador	Rango de posición de la sonda de la SEC ID No 2		Sondas
A7	99-79335-60	51078	51102	P7
A8	99-79336-369	61281	61305	P8
A9	99-79338-332	80590	80614	P9
A10	99-79314-201	100473	100497	P10
A11	99-79314-225	100497	100521	P11
A12	99-79316-158	106713	106737	P12
A13	99-79322-224	166075	166099	P13
A14	99-79322-473	166324	166348	P14
A15	99-79306-182	235882	235906	P15
BM	Nombre del marcador	Rango de posición de la sonda de la SEC ID No 3		Sondas
A16	99-79310-29	31634	31658	P16
A17	99-79311-50	42361	42385	P17
BM	Nombre del marcador	Rango de posición de la sonda de la SEC ID No 6		Sondas
A18	99-62617-105	93	117	P18

Ejemplo 4

Validación de los polimorfismos mediante microsecuenciación

Los marcadores bialélicos identificados en el Ejemplo 3 se confirmaron y sus respectivas frecuencias se determinaron la microsecuenciación. La microsecuenciación se llevó a cabo para cada muestra de ADN individual en El Ejemplo 1.

La amplificación a partir del ADN genómico de los individuos se realizó por PCR como se describió anteriormente para la detección de los marcadores bialélicos con el mismo conjunto de los cebadores de PCR (Tabla 1).

Los cebadores preferidos usados en la microsecuenciación fueron de aproximadamente 19 nucleótidos de longitud e hibridizan exactamente corriente arriba de la base polimórfica considerada. De acuerdo con la invención, los cebadores usados en la microsecuenciación se detallan en la Tabla 4.

ES 2 271 092 T3

TABLA 4

Nombre del marcador	Marcador bialélico	Mis.1	Rango de posición del cebador de microsecuenciación mis1 en la SEC ID No 1		Mis. 2	Rango de posición complementaria del cebador de microsecuenciación mis.2 In SEC ID No 1	
99-62626-168	A1	D1	12623 12641		E1	12643 12661	
99-62632-275	A2	D2	14069 14087		E2	14089 14107	
99-62633-409	A3	D3	24962 24980		E3	24982 25000	
99-62611-51	A4	D4	6922969247		E4	69249 69267	
99-62605-56	A5	D5	73409 73427		E5	73429 73447	
99-62635-443	A6	D6	80231 80249		E6	80251 80269	
Nombre del marcador	Marcador bialélico	Mis.1	Rango de posición del cebador de microsecuenciación mis1 en la SEC ID No 2		Mis. 2	Rango de posición complementaria del cebador de microsecuenciación mis.2 in SEC ID No 2	
99-79335-60	A7	D7	51071	51089	E7	51091	51109
99-79336-369	A8	D8	61274	61292	E8	61294	61312
99-79338-332	A9	D9	80583	80601	E9	80603	80621
99-79314-201	A10	D10	100466	100484	E10	100486	100504
99-79314-225	A11	D11	100490	100508	E11	100510	100528
99-79316-158	A 12	D12	106706	106724	E12	106726	106744
99-79322-224	A13	D13	166068	166086	E13	166088	166106
99-79322-473	A14	D14	166317	166335	E14	166337	166355
99-79306-182	A15	D15	235875	235893	E15	235895	235913
Nombre del marcador	Marcador bialélico	Mis.1	Rango de posición del cebador de microsecuenciación mis1 en la SEC ID No 3		Mis. 2	Rango de posición complementaria del cebador de microsecuenciación mis.2 in SEC ID No 3	
99-79310-29	A16	D16	31627	31645	E16	31647	31665
99-79311-50	A17	D17	42354	42372	E17	42374	42392
Nombre del marcador	Marcador bialélico	Mis.1	Rango de posición del cebador de microsecuenciación mis1 en la SEC ID No 6		Mis. 2	Rango de posición complementaria del cebador de microsecuenciación mis.2 in SEC ID No 6	
99-62617-105	A18	D18	86	104	E18	106	124

Mis 1 y Mis 2 se refieren respectivamente a los cebadores que hibridizan con la cadena no codificadora del gen de CanIon o con la cadena codificadora del gen de CanIon.

La reacción de microsecuenciación se realizó como sigue:

Después de la purificación de los productos de amplificación, la mezcla de reacción de microsecuenciación se preparó por adición en un volumen final de 20 µl: 10 pmol de oligonucleótido de microsecuenciación, 1 U de Ter-

mosequenasa (Amersham E79000G), 1,25 μ l de buffer de Thermosequenasa (Tris HCl 260 mM, pH 9,5, MgCl₂ 65 mM), y los dos ddNTP fluorescentes apropiados (Perkin Elmer, Dye Terminator Set 401095) complementarios con los nucleótidos en el sitio polimórfico de cada marcador bialélico ensayado siguiendo las recomendaciones del fabricante. Después de 4 minutos a 94°C, 20 ciclo de PCR de 15 segundos a 55°C, 5 segundos a 72°C, y 10 segundos a 94°C se realizaron en un termociclador Tetrad PTC-225 (MJ Research). Los terminadores con colorante no incorporados luego se eliminaron por precipitación con etanol. Las muestras se resuspendieron finalmente en buffer de carga formamida-EDTA y se calentaron durante 2 minutos a 95°C antes de cargarse en un gen de secuenciación de poliacrilamida. Los datos se recogieron con un secuenciador de ADN ABI PRISM 377 y se procesaron mediante el programa de computación CanIonSCAN (Perkin Elmer).

Después del análisis del gel, los datos se procesaron automáticamente con un programa de computación que permite la determinación de los alelos de los marcadores bialélicos presentes en cada fragmento amplificado.

El programa de computación evalúa factores tales como si las intensidades de las señales que resultan de los procedimientos de micro-secuenciación anteriores son débiles, normales o saturadas o si las señales son ambiguas. Además, el programa de computación identifica los picos significativos (de acuerdo con el criterio de forma y altura). Entre los picos significativos, se identifican los picos correspondientes al sitio blanco sobre la base de su posición. Cuando dos picos significativos se detectan en la misma posición, cada muestra se categoriza en una clasificación como un tipo homólogo o heterólogo basado en la relación de altura.

Ejemplo 5

Preparación de composiciones de anticuerpo para la proteína de CanIon

La proteína o polipéptido sustancialmente pura se aísla de las células transfectadas o transformadas que contienen un vector de expresión que codifica una proteína de CanIon o una porción de la misma. La concentración de la proteína en la preparación final se ajusta, por ejemplo, por concentración en un dispositivo de filtro Amicon a un nivel de unos pocos microgramos/ml. El anticuerpo monoclonal o policlonal para la proteína se puede preparar de la siguiente forma:

A. Producción de anticuerpos monoclonales por fusión de hibridoma

El anticuerpo monoclonal para los epítopes de la proteína de CanIon o una porción de la misma se puede preparar a partir de hibridomas murinos de acuerdo con el método clásico de Kohler, G. y Milstein, C., (1975) o sus métodos derivados. Ver también Harlow, E., y D. Lane. 1988.

Brevemente, se inocula repetidamente un ratón con unos pocos microgramos de la proteína de CanIon o una porción de la misma durante un periodo de unas pocas semanas. Luego el ratón se sacrifica y se aíslan las células productoras de anticuerpos del bazo. Las células del bazo se fusionan por medio de polietilenglicol con las células de mieloma de ratón y se destruye el exceso de células no fusionadas por el crecimiento del en un medio selectivo que comprende aminopterina (medio HAT). Las células fusionadas con éxito se diluyen y las alícuotas de la dilución se colocan en los pocillos de una placa de microtitulación donde el crecimiento del cultivo continúa. Los clones productores de anticuerpo se identifican por la detección del anticuerpo en el sobrenadante líquido de los pocillos por procedimientos de inmunoensayo, tal como ELISA, como fue descrito originalmente por Engvall (1980), y los métodos derivados del mismo. Los clones seleccionados positivos se pueden expandir y se recogen sus productos de anticuerpo monoclonal para su uso. Los procedimientos detallados para la producción de anticuerpos monoclonales se describen en Davis, L. *et al.* Basic Methods in Molecular Biology Elsevier, New York. Section 21-2.

B. Producción de anticuerpos policlonales por inmunización

El antisuero policlonal que contiene anticuerpos para los epítopes heterogéneos de la proteína de CanIon o una porción de la misma se puede preparar por la inmunización adecuada de un animal no humano con la proteína de CanIon o una porción de la misma, que puede estar no modificada o modificada para aumentar la inmunogenicidad. Un animal no humano adecuado, es con preferencia un mamífero no humano seleccionado, usualmente de ratón, rata, conejo, cabra o caballo. Alternativamente, se puede usar una preparación bruta que ha sido enriquecida para la concentración de CanIon para generar anticuerpos. Tales proteínas, fragmentos o preparaciones se introducen en un mamífero no humano en presencia de un adyuvante apropiado (por ej. hidróxido de aluminio, RIBI, etc.) que es conocido en la técnica. Además la proteína, fragmento o preparación se puede pretratar con un agente que aumentará la antigenicidad, tales agentes son conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, albúmina sérica bovina metilada (mBSA), albúmina sérica bovina (BSA), antígeno de superficie de la Hepatitis B y hemocianina de lapa californiana (KLH). El suero del animal inmunizado se recoge, trata y ensaya de acuerdo con los procedimientos conocidos. Si el suero contiene anticuerpos policlonales para epítopes no deseados, los anticuerpos policlonales se pueden purificar por cromatografía de inmunoafinidad.

La producción de anticuerpos policlonales está afectada por muchos factores relacionados con los antígenos y las especies hospedantes. También los animales hospedadores varían en la respuesta al sitio de las inoculaciones y dosis, tanto con dosis inadecuadas como excesivas del antígeno que produce un bajo título de antisuero. Las dosis bajas (nivel de ng) de antígeno administrado en sitios intradérmicos múltiples parece ser más confiable. Las técnicas para

producir y procesar antisuero policlonal son conocidas en la técnica, ver por ejemplo, Mayer y Walker (1987). Un protocolo de inmunización efectivo para conejos se puede hallar en Vaitukaitis, J. *et al.* (1971).

Las inyecciones de refuerzo se pueden dar a intervalos regulares y se recoge el antisuero cuando su título de anticuerpos, determinado en forma semi-cuantitativa, por ejemplo, por inmunodifusión doble en agar frente a concentraciones conocidas en del antígeno, comienza a caer. Ver por ejemplo, Ouchterlony, O. *et al.* (1973). La concentración de la meseta del anticuerpo está usualmente en el rango de 0,1 a 0,2 mg/ml del suero (aproximadamente 12 p.M). La afinidad de los antisueros para el antígeno se determina mediante la preparación de curvas de unión competitivas, como se describe, por ejemplo, en Fisher, D. (1980).

Las preparaciones de anticuerpo preparadas de acuerdo con el protocolo monoclonal o policlonal son útiles para los inmunoensayos cuantitativos que determina las concentraciones de las sustancias que portan el antígeno en las muestras biológicas; estas también se usan en forma semi-cuantitativa o cualitativa para identificar la presencia del antígeno en una muestra biológica. Los anticuerpos también se pueden usar en composiciones terapéuticas para destruir células que expresan la proteína o reducir los niveles de la proteína del cuerpo.

Referencias

- Abbondanzo SJ *et al.*, 1993, *Methods in Enzymology*, Academic Press, New York, pp 803-823
- Ajioka R.S. *et al.*, *Am. J. Hum. Genet.*, 60:1439-1447, 1997
- Altschul *et al.*, 1990, *J. Mol. Biol.* 215(3):403-410
- Altschul *et al.*, 1993, *Nature Genetics* 3:266-272
- Altschul *et al.*, 1997, *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402
- Ames, R.S. *et al.* *J. Immunol. Methods* 184:177-186 (1995)
- Anderson *et al.*, *Symp. Soc. Exp. Biol.* 48: 85-97 (1994)
- Anton M. *et al.*, 1995, *J. Virol.*, 69: 4600-4606
- Araki K *et al.* (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 92(1)160-4.
- Ashkenazi, A. *et al.* *PNAS* 88:10535-10539(1991)
- Aszódi *et al.*, *Proteins:Structure, Function, and Genetics, Supplement* 1:38-42 (1997)
- Ausubel *et al.* (1989) *Current Protocols in Molecular Biology*, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y.
- Bartunek, P. *et al.* *Cytokine* 8(1):14-20 (1996)
- Baubonis W. (1993) *Nucleic acids Res.* 21 (9):2025-9.
- Beaucage *et al.*, *Tetrahedron Lett* 1981, 22: 1859-1862
- Better, M. *et al.* *Science* 240:1041-1043 (1988)
- Blouin JL *et al.* *Nature Genetics*, 20: 70-73 (1998)
- Bradley A., 1987, Production and analysis of chimaeric mice. In: EJ. Robertson (Ed.), *Teratocarcinomas and embryonic stem cells: A practical approach*. IRL Press, Oxford, pp.113.
- Bram RJ *et al.*, 1993, *Mot. Cell Biol.*, 13: 4760-4769
- Brinkman U. *et al.* *J. Immunol. Methods* 182:41-50 (1995)
- Brown EL, Belagaje R, Ryan MJ, Khorana HG, *Methods Enzymol* 1979; 68:109-151
- Brutlag *et al.* *Comp. App. Biosci.* 6:237-245, 1990
- Brzustowicz *et al.*, *Am. J. Hum. Genet.* 65:1096-1103 (1999)
- Bulman *et al.*, *Hum. Mot. Gen.* 6(10) 1679-1685 (1997)

- Burton, D.R. et al.** *Advances in Immunology* 57:191-280 (1994)
- Bush et al.**, 1997, *J. Chromatogr.*, 777:311-328.
- 5 **Carlson, N .G. et al.** *J. Biol. Chem.* 272(17):11295-11301 (1997)
- Chay H. et al.** (1993) *Biotechnol Appl. Biochem.* 18:259-273.
- Chee et al.** (1996) *Science*. 274:610-614.
- 10 **Chen and Kwok** *Nucleic Acids Research* 25:347-353 1997
- Chen et al.** (1987) *Mol. Cell. Biol.* 7:2745-2752.
- 15 **Chen et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94/2010756-10761, 1997
- Chen, Z. et al.** *Cancer Res.* 58(16): 3668-3678 (1998)
- Cho RJ et al.**, 1998, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95(7): 3752-3757.
- 20 **Chou J.Y.**, 1989, *Mol. Endocrinol.*, 3: 1511-1514.
- Clark A.G.** (1990) *Mol. Biol. Evol.* 7:111-122.
- 25 **Coles R, Caswel R, Rubinsztein DC**, *Hum Mol Genet* 1998; 7:791-800
- Compton J.** (1991) *Nature*. 350(6313):91-92.
- Davis L.G., M.D. Dibner y J.F. Battley**, *Basic Methods in Molecular Biology*, ed., Elsevier Press, NY, 1986
- 30 **Dempster et al.**, (1977) *J. R. Stat. Soc.*, 398:1-38.
- Deng, B. et al.** *Blood* 92(6):1981-1988 (1998)
- 35 **Dent DS & Latchman DS** (1993) The DNA mobility shift assay. In: *Transcription Factors: A Practical Approach* (Latchman DS, ed.) ppl-26. Oxford: IRL Press
- Denyer et al.**, *Drug Disc. Today* 3(7): 323-332 (1998)
- 40 **Eckner R. et al.** (1991) *EMBO J.* 10:3513-3522.
- Edwards et Leatherbarrow**, *Analytical Biochemistry*, 246, 1-6 (1997)
- Engvall, E.**, *Meth. Enzymol.* 70:419 (1980)
- 45 **Excoffier L. y Slatkin M.** (1995) *Mol. Biol. Evol.*, 12(5): 921-927.
- Feldman and Steg**, 1996, *Medecine/Sciences, synthese*, 12:47-55
- 50 **Felici F.**, 1991, *J. Mot. Biol.*, Vol. 222:301-310
- Fell, H.P. et al.** *J. Immunol.* 146:2446-2452 (1991)
- Fields and Song**, 1989, *Nature*, 340: 245-246
- 55 **Fisher, D., Chap.** 42 in: *Manual of Clinical Immunology*, 2d Ed. (Rose y Friedman, Eds.) *Amer. Soc. For Micro-bial.*, Washington, D.C. (1980)
- Flotte et al.** (1992) *Am. J. Respir. Cell Mol Biol.* 7:349-356.
- 60 **Fodor et al.** (1991) *Science* 251:767-777.
- Fraley et al.** (1979) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 76:3348-3352.
- 65 **Fried M, Crothers DM**, *Nucleic Acids Res* 1981; 9:6505-6525
- Fromont-Racine M. et al.**, 1997, *Nature Genetics*, 16(3): 277-282.

Fuller S. A. et al. (1996) *Immunology in Current Protocols in Molecular Biology*, Ausubel et al. Eds, John Wiley & Sons, Inc., USA.

Furth P.A. et al. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 91:9302-9306.

Gamer MM, Revzin A, *Nucleic Acids Res* 1981; 9:3047-3060

Geysen H. Mario et al. 1984. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 81:3998-4002

Ghosh and Bacchawat, 1991, *Targeting of liposomes to hepatocytes*, IN: Liver Diseases, Targeted diagnosis and therapy using specific receptors and ligands. Wu et al. Eds., Marcel Dekeker, New York, pp. 87-104.

Gillies, S.D. et al. *J. Immunol. Methods* 125:191-202 (1989)

Gillies, S.O. et al. *PNAS* 89:1428-1432 (1992)

Gonnet et al., 1992, *Science* 256:1443-1445

Gonzalez et al., *Drug Disc. Today* 4(9): 431:439 (1999)

Gopal (1985) *Mol. Cell. Biol.*, 5:1188-1190.

Gossen M. et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 99:5547-5551.

Gossen M. et al. (1995) *Science*. 268:1766-1769.

Graham et al (1973) *Virology* 52:456-457.

Green et al., *Ann. Rev. Biochem.* 55:569-597 (1986)

Greenspan and Bona, *FASEB J.* 7(5):437-444 (1989)

Griffin et al. *Science* 245:967-971 (1989)

Grompe, M. (1993) *Nature Genetics*. 5:111-117.

Gromp, M. et al. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A.* 86:5855-5892.

Gu H. et al. (1993) *Cell* 73:1155-1164.

Gu H. et al (1994) *Science* 265:103-106.

Guatelli J C et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 35:273-286.

Hacia JG, Brody LC, Chee MS, Fodor SP, Collins FS, *Nat Genet* 1996; 14(4):441-447

Hall L. A. and Smirnov I. P. (1997) *Genome Research*, 7:378-388.

Hames B.D. and Higgins S.J. (1985) *Nucleic Acid Hybridization: A Practical Approach*.

Hames and Hamill, *Pfugers Arch.* 391, 85-100 (1981).

Hammerling, et al., in: MONOCLONAL ANTIBODIES AND T-CELL HYBRIDOMAS 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981) Harju L, Weber T, Alexandrova L, Lukin M, Ranki M, Jalanko A, *Clin Chem* 1993; 39(11 Pt 1):2282-2287

Harland et al. (1985) *J. Cell. Biol.* 101:1094-1095.

Harlow, E., y D. Lane. 1988. *Antibodies A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory. pp. 53-242

Harper JW et al., 1993, *Cell*, 75: 805-816

Harrop, J.A. et al. *J. Immunol.* 161(4): 1786-1794 (1998)

Hawley M.E. et al. (1994) *Am. J. Phys. Anthropol* 18:104. Hell et al., *Annals N.Y. Acad. Sci.* 747:282-293 (1994)

Henikoff y Henikoff, 1993, *Proteins* 17:49-61

Higgins et al., 1996, *Methods Enzymol.* 266:383-402

Higgins Ed., *IRL Press*, Oxford.

Hillier L. y Green P. *Methods Appl.*, 1991, 1: 124-8.

Hoess *et al.* (1986) *Nucleic Acids Res.* 14:2287-2300.

Huang L. *et al.* (1996) *Cancer Res* 56(5):1137-1141.

Huston *et al.* *Methods in Enzymology* 203:46-88 (1991)

Huygenetal. (1996) *Nature Medicine*. 2(8):893-898.

Izant JG, Weintraub H, *Cell* 1984 Apr; 36(4):1007-15

Julan *et al.* (1992) *J. Gen. Virol.* 73:3251-3255.

Kanegae V. *et al.*, *Nucl. Acids Res.* 23:3816-3821 (1995).

Karlin and Altschul, 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2267-2268 Kettleborough, C.A. *et al. Eur. J. Immunol.* 24:952-958 (1994)

Khoury J. *et al.*, *Fundamentals of Genetic Epidemiology*, Oxford University Press, NY, 1993

Kim U-J. *et al.* (1996) *Genomics* 34:213-218.

Klein *et al.* (1987) *Nature*. 327:70-73.

Koch, *at al.*, *J.Biol.Chem.* 265 (29): 17786-17791 (1990)

Kohler, G. y Milstein, C., *Nature* 256:495 (1975)

Koller *et al.* (1992) *Annu. Rev. Immunol.* 10:705-730.

Koza MJ, Sha N, Shen N, Yang R, Fucini R, Merigan TC, Richman DD, Morris D, Hubbell E, Ghee M, Gingeras TR, *Nat Med* 1996; 2(7):753-759

Lander y Schork, *Science*, 265, 2037-2048, 1994

Landegren U. *et al.* (1998) *Genome Research*, 8:769-776.

Lange K. (1997) *Mathematical and Statistical Methods for Genetic Analysis*. Springer, New York.

Lee *et al.*, *FEBS Lett.* 445 231:236 (1999).

Lenhard T. *et al.* (1996) *Gene*. 169:187-190.

Liautard, J. *et al.* *Cytokinde* 9(4):233-241 (1997)

Lin MW *et al.* *Hum. Genet.*, 99(3): 417-420 (1997)

Linton M.F. *et al.* (1993) *J. Clin. Invest.* 92:3029-3037.

Liu Z. *et al.* (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 91:4528-4262.

Livak *et al.*, *Nature Genetics*, 9:341-342, 1995

Livak KJ, Hainer JW, *Hum Mutat* 1994; 3(4):379-385

Lockhart *et al.* *Nature Biotechnology* 14: 1675-1680, 1996

Lucas A.H., 1994, In: *Development and Clinical Uses of Haemophilus b Conjugate*;

Manger *et al.*, *Anal. Biochem.* 214: 190-194 (1993).

Mansour S.L. *et al.* (1988) *Nature*. 336:348-352.

Marshall R. L. *et al.* (1994) *PCR Methods and Applications*. 4:80-84. McCormick *et al.* (1994) *Genet. Anal. Tech. Appl.* 11:158-164.

- McLaughlin B.A. et al.** (1996) *Am. J. Hum. Genet.* 59:561-569.
- Morena et al.**, *Annals NY Acad. Sci.* 102-117 (1999).
- 5 **Mori, et al.**, *Nature* 350:398-402 (1991)
- Morrison**, *Science* 229:1202 (1985)
- Morton N.E.**, *Am.J. Hum. Genet.*, 7:277-318, 1955
- 10 **Muller, Y.A. et al.** *Structure* 6(9):1153-1167 (1998)
- Mullinax, R.L. et al.** *BioTechniques* 12(6):864-869 (1992)
- 15 **Muzyczka et al.** (1992) *Cunt. Topics in Micro. and Immunol.* 158:97-129.
- Nada S. et al.** (1993) *Cell* 73:1125-1135.
- Nagy A. et al.**, 1993, *Proc. Natl. Mad. Sci. USA*, 90: 8424-8428.
- 20 **Naramura, M. et al.** *Immunol. Lett.* 39:91-99(1994)
- Narang SA, Hsiung HM, Brousseau R**, *Methods Enzymol* 1979; 68:90-98
- 25 **Neda et al.** (1991) *J. Biol. Chem.* 266:14143-14146.
- Newton et al.** (1989) *Nucleic Acids Res.* 17:2503-2516.
- Nickerson D.A. et al.** (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87:8923-8927.
- 30 **Nicolau C. et al.**, 1987, *Methods Enzymol.*, 149:157-76.
- Nicolau et al.** (1982) *Biochim. Biophys. Acta.* 721:185-190.
- 35 **Nissinoff, J.** *Immunol.* 147(8): 2429-2438 (1991).
- Nyren P, Pettersson B, Uhlen M**, *Anal Biochem* 1993; 208(1):171-175
- O'Reilly et al.** (1992) *Baculovirus Expression Vectors: A Laboratory Manual.* W. H. Freeman and Co., New York.
- 40 **Ohno et al.** (1994) *Science.* 265:781-784.
- Oi et al.**, *Bio Techniques* 4:214 (1986)
- 45 **Oldenburg K.R. et al.**, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 89:5393-5397.
- Olesen et al.**, *Voltage gated ion channel modulators*, 7-8 December, Philadelphia PA, USA (1995)
- Orita et al.** (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 86: 2776-2770.
- 50 **Ott J.**, *Analysis of Humano Genetic Linkage*, John Hopkins University Press, Baltimore, 1991
- Ouchterlony, O. et al.**, Chap. 19 in: *Handbook of Experimental Immunology* D. Wier (ed) Blackwell (1973)
- 55 **Padlan E.A.**, *Molecular Immunology* 28(4/5): 489-498 (1991)
- Parmley and Smith**, *Gene*, 1988, 73:305-318
- Pastinen et al.**, *Genome Research* 1997; 7:606-614
- 60 **Pearson y Lipman**, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85(8):2444-2448 Pease S. ans William R.S., 1990, *Exp. Cell. Res.*, 190: 209-211.
- Perlin et al.** (1994) *Am. J. Hum. Genet.* 55:777-787.
- 65 **Persic, L. et al.** *Gene* 187 9-18 (1997)
- Peterson et al.**, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 7593-7597.

- Pietu et al.** *Genome Research* 6:492-503, 1996
- Pitard, V. et al.** *J. Immunol. Methods* 205(2): 177-190 (1997)
- 5 **Potter et al.** (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 81(22):7161-7165.
- Prat, M. et al.** *J. Cell. Sci.* 111(Pt2): 237-247 (1998)
- Ramunsen et al.**, 1997, *Electrophoresis*, 18: 588-598.
- 10 **Reid L.H. et al.** (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87:4299-4303.
- Risch, N. y Merikangas, K.** *Science*, 273:1516-1517, 1996
- 15 **Robertson E.**, 1987, Embryo-derived stem cell lines. In: E.J.
- Robertson Ed.** *Teratocarcinomas and embrionic stem cells: a practical approach*. IRL Press, Oxford, pp. 71.
- Roguska M.A. et al.** *PNAS* 91:969-973), (1994)
- 20 **Rossi et al**, *Pharmacol. Thor.* 50:245-254, (1991)
- Roth J.A. et al.** (1996) *Nature Medicine*. 2(9):985-991.
- 25 **Roux et al.** (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 86:9079-9063.
- Ruano et al.** (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87:6296-6300.
- 30 **Sambrook, J., Fritsch, E.F., y T. Maniatis.** (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York.
- Samson M, et al.** (1996) *Nature*, 382(6593):722-725.
- Samulski et al.** (1989) *J. Virol.* 63:3822-3828.
- 35 **Sánchez-Pescador R.** (1988) *J. Clin. Microbiol.* 26(10):1934-1938.
- Sarkar, G. y Sommer S.S.** (1991) *Biotechniques*.
- 40 **Sauer B. et al.** (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:5166-5170.
- Sawai, H. et al.** *AJRI* 34:26-34(1995)
- Schedl A. et al.**, 1993a, *Nature*, 362:258-261.
- 45 **Schedl et al.**, 1993b, *Nucleic Acids Res.*, 21: 4783-4787.
- Schena eat al.** *Science* 270:467-470, 1995
- 50 **Schena et al.**, 1996, *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 93(20):10614-10619.
- Schneider at al.** (1997) Arlequin: A Software For Population Genetics Data Analysis. University of Geneva.
- 55 **Schwartz y Dayhoff**, eds., 1978, *Matrices for Detecting Distance Relationships: Atlas of Protein Sequence and Structure*, Washington: National Biomedical Research Foundation
- Sczakiel G. et al.** (1995) *Trends Microbiol.* 3(6):213-217.
- Shay J.W. et al.**, 1991, *Biochem. Biophys. Ada*, 1072: 1-7.
- 60 **Sheffield, V.C. et al.** (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 49:699-706.
- Shizuya et al.** (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89:8794-8797.
- 65 **Shoemaker DD, et al.**, *Nat Genet* 1996; 14(4):450-456
- Shu, L. et al.** *PNAS* 90:7995-7999 (1993)

Skerra, A. et al. *Science* 240:1038-1040. (1988)

Smith (1957) *Ann. Hum. Genet.* 21:254-276.

Smith et al. (1983) *Mol. Cell. Biol.* 3:2156-2165.

Sosnowski RG, et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:1119-1123

Sowdhamini et al., *Protein Engineering* 10:207, 215 (1997)

Spielmann S. and Ewens W.J., *Am. J. Hum. Genet.*, 62:450-458, 1998

Spielmann S. et al., *Am. J. Hum. Genet.*, 52:506-516, 1993

Sternberg N.L. (1992) *Trends Genet.* 8:1-16.

Sternberg N.L. (1994) *Mamm. Genome.* 5:397-404.

Stryer, L., *Biochemistry*, 4th edition, 1995

Studnicka G.M. et al. *Protein Engineering* 7(6):805-814 (1994)

Syvanen AC, *Clin Chim Acta* 1994; 226(2):225-236

Szabo A. et al. *Curr Opin Struct Biol* 5, 699-705 (1995)

Tacson et al. (1996) *Nature Medicine.* 2(8):888-892.

Taryman, R.E. et al. *Neuron* 14(4):755-762 (1995) **Schaid D.J. et al.,** *Genet. Epidemiol.*, 13:423-450, 1996

Te Riele et al. (1990) *Nature.* 348:649-651.

Terlau et al., *Naturwissenschaften* 85: 437-444 (1998)

Terwilliger J.D. y Ott J., *Handbook of Human Genetic Linkage*, John Hopkins University Press, London, 1994

Thomas K.R. et al. (1986) *Cell.* 44:419-428.

Thomas K.R. et al. (1987) *Cell.* 51:503-512.

Thompson et al., 1994, *Nucleic Acids Res.* 22(2):4673-4680

Tur-Kaspa et al. (1986) *Mot. Cell. Biol.* 6:716-718.

Tyagi et al. (1998) *Nature Biotechnology.* 16:49-53.

Urdea M.S. (1988), *Nucleic Acids Res Research.* 11:4937-4957.

Urdea M.S. et al. (1991), *Nucleic Acids Symp.* Ser. 24:197-200.

Vaitukaitis, J. et al. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 33:988-991 (1971)

Valadon P, et al., 1996, *J. Mol. Biol.*, 261:11-22.

Van der Lugt et al. (1991) *Gene.* 105:263-267.

Vil, H. et al. *PNAS* 89:11337-11341 (1992)

Vlasak R. et al. (1983) *Eur. J. Biochem.* 135:123-126.

Wabiko et al. (1986) *ADN.* 5(4):305-314.

Walker et al. (1996) *Clin. Chem.* 42:9-13.

Wang et al., 1997, *Chromatographia*, 44:205-208.

Weir, B.S. (1996) *Genetic data Analysis II: Methods for Discrete population genetic Data*, Sinauer Assoc., Inc., Sunderland, MA, U.S.A.

Westerink M.A.J., 1995, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 92:4021-4025

White, M.B. et al. (1992) *Genomics*. 12:301-306.

5 **White, M.B. et al.** (1997) *Genomics*. 12:301-306.

Williams, et al. *Science* 257: 389-395 (1992)

Wong et al. *Gene*. 10:87-94 (1980)

10 **Wood S.A. et al.**, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:4582-4585.

Wu and Wu (1987) *J. Biol. Chem.* 262:4429-4432.

15 **Wu and Wu** (1988) *Biochemistry*. 27:887-892.

Wu et al. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 86:2757.

Yagi T. et al. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87:9918-9922.

20 **Yoon, D.Y. et al.** *J. Immunol.* 160(7): 3170-3179 (1998)

Zhang et al., *Neuropharmacology* 32 (11): 1075-1088 (1993)

25 **Zhao et al.**, *Am. J Hum. Genet.*, 63:225-240, 1998

Zheng, X.X. et al. *J. Immunol.* 154:5590-5600 (1995)

Zhu, Z. et al. *Cancer Res.* 58(15): 3209-3214 (1998)

30 **Zou Y. R. et al.** (1994) *Curr. Biol.* 4:1099-1103. 4:1099-1103.

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. El uso de un anticuerpo o dominio de unión al antígeno que se une específicamente al polipéptido mostrado en la SEC ID NO:5 en la preparación de un medicamento para el tratamiento de la esquizofrenia o trastorno bipolar.

2. El uso *in vitro* de un anticuerpo o dominio de unión al antígeno que se une específicamente al polipéptido mostrado en la SEC ID NO:5 en el diagnóstico de la esquizofrenia o trastorno bipolar.

3. El uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, donde el anticuerpo o dominio de unión al antígeno es quimérico, humanizado o humano.

4. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el anticuerpo o dominio de unión al antígeno es un anticuerpo de cadena única o un dominio de unión al antígeno.

5. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el anticuerpo o dominio de unión al antígeno es monoespecífico, biespecífico, triespecífico o multiespecífico.

6. El uso de una herramienta antisentido que inhibe la expresión del canal iónico codificado por un polinucleótido que se muestra en la SEC ID NO:1, 2, 3 o 4 que comprende un fragmento del polinucleótido mostrado como SEC ID NO:1, 2, 3 o 4 en la preparación de un medicamento para la esquizofrenia o trastorno bipolar.

7. El uso de acuerdo con la reivindicación 6, donde la herramienta antisentido es una ribozima.

8. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno como se describe en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una herramienta antisentido como se describe en las reivindicaciones 6 y 7 y un vehículo o excipiente adecuado.

9. Un método para identificar un modulador candidato de un polipéptido canal iónico para el tratamiento de la esquizofrenia o trastorno bipolar, dicho método que comprende:

a) poner en contacto un polipéptido que comprende un polipéptido como se muestra en la SEC ID NO:5 con un compuesto de ensayo; y

b) determinar si dicho compuesto se une en forma específica a dicho polipéptido; donde una detección de que dicho compuesto se une en forma específica a dicho polipéptido indica que dicho compuesto es un modulador candidato de dicho polipéptido canal iónico.

10. El método de la reivindicación 9 que además comprende ensayar la actividad de canal iónico de dicho polipéptido canal iónico en presencia de dicho modulador candidato, donde una diferencia en la actividad de dicho polipéptido canal iónico en presencia de dicho modulador candidato en comparación con la actividad en ausencia de dicho modulador candidato indica que un modulador candidato es un modulador de dicho polipéptido canal iónico.

11. Un método de identificación de un modulador de un polipéptido canal iónico para el tratamiento de la esquizofrenia o trastorno bipolar, dicho método que comprende:

a) poner en contacto un polipéptido que comprende un polipéptido como se muestra en la SEC ID NO:5 con un compuesto de ensayo; y

b) detectar la actividad de canal iónico de dicho polipéptido en presencia o ausencia de dicho compuesto;

donde una detección de una diferencia en dicha actividad en presencia de dicho compuesto en comparación con la actividad en ausencia de dicho compuesto indica que dicho compuesto es un modulador de dicho polipéptido canal iónico.

12. Un kit de diagnóstico para diagnosticar esquizofrenia o trastorno bipolar que comprende:

a) un anticuerpo policlonal o monoclonal que específicamente se une a un polipéptido canal iónico que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO:5, o a un fragmento del péptido, opcionalmente marcado;

b) un reactivo que permite la detección de los complejos antígeno-anticuerpo formados, dicho reactivo que porta opcionalmente un marcador o es capaz de ser reconocido él mismo por un reactivo marcado.

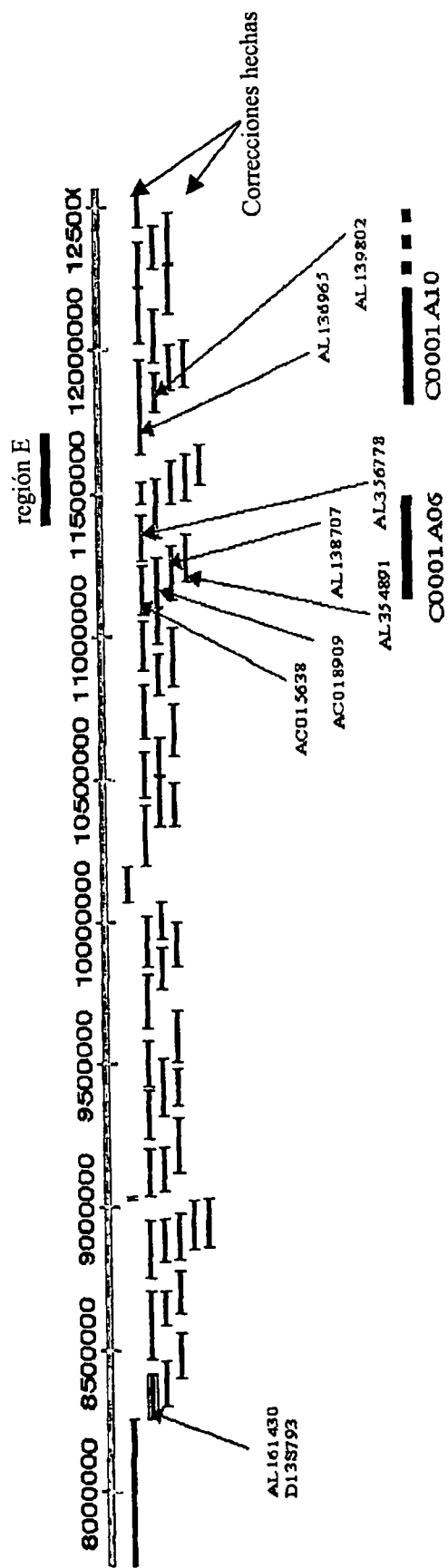


Fig. 1

ES 2 271 092 T3

LISTA DE SECUENCIAS

<110> GENSET

5 <120> GEN Y PROTEÍNA DEL CANAL IÓNICO DEPENDIENTE DEL VOLTAJE ASOCIADO A LA ESQUIZO-
FRENIA

<130> 93.WO1

<141> 2001-12-04

10 <150> US 60/251,317 <151> 2000-12-05

<160> 8

<170> PatentIn

<210> 1

15 <211> 82293

<212> DNA

<213> *Homo sapiens*

20 <220>

<221> característica_misc

<222> 1..2000

<223> región reguladora en 5'

25 <220>

<221> exón

<222> 2001..2026

<223> exón 1

30 <220>

<221> exón

<222> 19188..19334

35 <223> exón 2

<220>

<221> exón

<222> 22996..23178

40 <223> exón 3

<220>

<221> exón

45 <222> 39731..39814

<223> exón 4

<220>

<221> exón

50 <222> 41337..41476

<223> exón 5

<220>

<221> exón

55 <222> 41565..41693

<223> exón 6

<220>

60 <221> exón

<222> 73013..73167

<223> exón 7

<220>

65 <221> alelo

<222> 12642

ES 2 271 092 T3

<223> 99-62626-168: base polimórfica A o T
<220>
<221> alelo
5 <222> 14088
<223> 99-62632-275: base polimórfica A o G
<220>
10 <221> alelo
<222> 24981
<223> 99-62633-409: base polimórfica A o T
<220>
15 <221> alelo
<222> 69248
<223> 99-62611-51: base polimórfica A o C
<220>
20 <221> alelo
<222> 73428
<223> 99-62605-56: base polimórfica A o G
25 <220>
<221> alelo
<222> 80250
<223> 99-62635-443: base polimórfica A o G
30 <220>
<221> unión_cebador
<222> 12343..12363
35 <223> 99-62626.rp
<220>
<221> unión_cebador
<222> 12793..12810
40 <223> 99-62626.complementario de pu
<220>
<221> unión_cebador
<222> 13814..13832
45 <223> 99-62632.pu
<220>
<221> unión_cebador
50 <222> 14279..14296
<223> 99-62632.complementario de rp
<220>
<221> unión_cebador
55 <222> 24863..24881
<223> 99-62633.rp
<220>
60 <221> unión_cebador
<222> 25378..25396
<223> 99-62633.complementario de pu
<220>
65 <221> unión_cebador
<222> 69198..69218

ES 2 271 092 T3

<223> 99-62611.pu
<220>
<221> unión_cebador
5 <222> 69632..69650
<223> 99-62611.complementario de rp
<220>
10 <221> unión_cebador
<222> 73005..73022
<223> 99-62605.rp
<220>
15 <221> unión_cebador
<222> 73466..73483
<223> 99-62605.complementario de pu
<220>
20 <221> unión_cebador
<222> 79808..79826
<223> 99-62635.pu
<220>
25 <221> unión_cebador
<222> 80314..80334
<223> 99-62635.complementario de rp
30 <220>
<221> unión_cebador
<222> 12623..12641
35 <223> 99-62626-168.mis
<220>
<221> unión_cebador
<222> 12643..12661
40 <223> 99-62626-168.complementario de mis
<220>
<221> unión_cebador
<222> 14069..14087
45 <223> 99-62632-275.mis
<220>
<221> unión_cebador
50 <222> 14089..14107
<223> 99-62632-275.complementario de mis
<220>
<221> unión_cebador
55 <222> 24962..24980
<223> 99-62633-409.mis
<220>
60 <221> unión_cebador
<222> 24982..25000
<223> 99-62633-409.complementario de mis
<220>
65 <221> unión_cebador
<222> 69229..69247

ES 2 271 092 T3

<223> 99-62611-51.mis
 <220>
 <221> unión_cebador
 5 <222> 69249..69267
 <223> 99-62611-51.complementario de mis
 <220>
 10 <221> unión_cebador
 <222> 73409..73427
 <223> 99-62605-56.mis
 <220>
 15 <221> unión_cebador
 <222> 73429..73447
 <223> 99-62605-56.complementario de mis
 <220>
 20 <221> unión_cebador
 <222> 80231..80249
 <223> 99-62635-443.mis
 25 <220>
 <221> unión_cebador
 <222> 80251..80269
 <223> 99-62635-443.complementario de mis
 30 <220>
 <221> unión_misc
 <222> 12630..12654
 35 <223> 99-62626-168.sonda
 <220>
 <221> unión_misc
 <222> 14076..14100
 40 <223> 99-62632-275.sonda
 <220>
 <221> unión_misc
 <222> 24969..24993
 45 <223> 99-62633-409.sonda
 <220>
 <221> unión_misc
 50 <222> 69236..69260
 <223> 99-62611-51.sonda
 <220>
 <221> unión_misc
 55 <222> 73416..73440
 <223> 99-62605-56.sonda
 <220>
 60 <221> unión_misc
 <222> 80238..80262
 <223> 99-62635-443.sonda
 <220>
 65 <221> característica_misc
 <222>

ES 2 271 092 T3

2375, 2377, 4041, . . 4042, 5180, 7138, 7174, 10118, 12577, 12637, 12648, 13556
 15322, 15341, 15357, 15383, 15409, 15994, 16064, . . 16065, 16077, 16237
 16264, 17751, 19182, 19424, 20735, 20840, 21865, 21885, 21900, 22814, 23954
 24969, 24985, 25001, 25005, . . 25006, 25017, 25040, 25057, 26646, 27478
 27496, 29278, 30793, 31122, 31125, 34515, 34541, 34563, 34572, 34884, 34915
 36809, 36834, 36944, 37011, 39862, 39881, 39895, 39903, 39921, 39948
 39954, . . 39955, 41108, 42572, 43423, 44122, 53546, 53634, 55777, 56140
 56160, 56182, 56185, 56200, 56206, 56219, 56234, 56258, 56268, 56280, 56290
 56324, 56561, 57259, 58256, 58297, 58910, 59321, 60724, 60743, 68789, 68803

68871, 69936, 77190, 77484, 78780, 78891, 79343, 80394, 81773, 81795, 82232

<223> n=a, g, c o t

<400> 1

catcaatgca	ctccaggcta	ggcaacggag	ataggccttg	tctctaaaaa	taacaaagaa	60
aaacaaagaa	gagagatact	gagcaggtag	aaggggtact	atgatatattt	ggatgtacct	120
gttttttaaa	atgattgtct	actccaatac	acagtgaatc	cctatgcatt	ataggatgag	180
tgtgctggat	tccatgactt	ccttgaagcc	catgaattct	ctgagactgt	ctccatcatc	240
attgggattg	tttggtctcat	gagcatgaat	tatagagact	taacagaggt	agttcaacca	300
aggacagaga	aaggctcgaa	atgcctgttg	ggtgaggagt	ggcactgaga	ttagtaaaaa	360
actcactctc	tgaccacttc	aaaacattat	aaataaatgt	ttaaatatatt	ccttaatatata	420
atttactaac	agataattcg	aacgaatgtc	aaggaataac	acactatcat	tcagctacca	480
tatatataata	gctatatatt	tcagtttgtg	aaataaacta	gtatttagaa	caagcaattg	540
aaagccgcaa	ataaagatga	tgaaacaagt	tggtaaatac	tttttctaag	caaactgggt	600
gtagatttaag	cattgttttaa	attactgtca	attttttctt	atgaggagtg	atttcacatc	660
ttgttttaaaa	cctggctttt	gacacagttt	ttctgaagtc	tttagaaatt	tgaaaaatta	720
tctcgcatga	ctctgtattt	catgaaatac	caatatttta	acatttccct	gtaaacaata	780
aaacgtacta	atatggatta	tgaatgtgaa	caaattgtga	atggactttt	taagaaagta	840
gattaattaa	atatctgtaa	ccagaaaaata	catttttaaa	atgtaggttt	gtgtagtttt	900
acttctatac	cctggcacat	aacattttgt	gatagacaaa	tgctctttgt	ttagaatttc	960
tcttgtagag	aaagcttcat	tcagttgttt	ctttcccttt	atttatatgc	ctgtgtgcat	1020
gatgtctaaa	tcactgggtca	ggagttccct	ggggattttc	gtatctgact	acatggcaag	1080
attccagacc	caaagtaaac	ctttcagaga	gtgggaatga	gtgggaggat	gtcgccctgg	1140
gcattggctc	taggaggcca	gatttcccta	aacctgtctc	gctgggagcc	ctaggaagcc	1200
tcagatgcag	tctgctgtcc	aggtatactc	acagggtatg	gggtggggga	ctgtcaattt	1260
ctgaatagac	tttgtctcat	ccacacgcaca	acatatttta	attttaaaag	cgaaacgtcaa	1320
cctatttaga	aaactataag	tctgactgat	gcattcatta	tttaataact	ccgggggtgaa	1380
acttgagtg	acagggtttca	ctgttccata	ctcaggaatg	gaactagtcc	tcggtaccgt	1440
gcacagtctg	acctcacgct	cgacagctgg	gctcccggcc	tcctggcagt	gcacttaagt	1500
gtaccccgcg	tgtgcccggc	ggactcccgt	gcacaccgcc	gccgtgctgt	tgagtacgaa	1560
agacccccga	gaggagctcg	cagatgagag	cctagctggt	gctgtgagac	tgactgcggg	1620
tggcagccgg	caagaaggaa	ctgccagtac	cgccctggc	gctcccccacc	aactgcggcg	1680
cagcctcctc	tgcggtgccc	gcccttcggc	atcactgcag	tcctctgtagc	aaagctaact	1740
ttaaaaattt	aaataaaaata	ataatttttt	aaaggcccca	aaactccggc	tcaccaccct	1800
ccccagcct	gcccggcgcc	ggcggcgctc	agtgaagtac	acggcgagcg	tgagccgcgg	1860
ccccagccgg	gccgagccgc	ctgcctgagc	taggtgaggg	gcccgcgtcc	gcccgcgtcc	1920
cgcgccgccc	tgggcgccc	gcctggcact	gatcctgccg	gtcgcccaact	gtcgcccgcc	1980
ccgcccgcgg	cgggcaccat	gacagctctg	agcgtgggg	ttacaggttg	gtcaccgcgg	2040
ccggtgccc	ggaggtcgcg	gcgcggccgg	ctccgtgccc	tgcgcccag	gcccgcgatg	2100
cgcgctcggt	agttcccttg	ccggtccggg	ccaggacggc	tcaggggcgc	tggggctgcg	2160
agaggggctg	ctagaggggc	tgcgggcggg	ggccccgcgc	ggggggagggg	tgggggagggg	2220
cgcctccacc	cgagagcggg	gcggtgggg	ccttgccggc	ctggccgggg	cgcgggagcc	2280
gcgatgcgcc	ctccctattc	ctgcgcgtgg	gtgtcggggg	cgccctgcgc	gggatgcccc	2340
tgggctggct	tggaagagcc	agggccggcg	acacntgggg	cctgccccgc	ctgggcctct	2400
agcaggtgtt	ggggggcagg	tggctgagga	cgagggccact	ggggcatcact	acagcgctgc	2460
acctgcccc	tcggcaccag	ggcgctgccc	tgggtaaacc	tctgggcca	cgcgcggtg	2520
gggaggtggg	ggtgggcagc	ctggctccag	caggtctccg	cgggggctcc	gcgcccttgc	2580
cccaccccca	tgtcctgtg	gattgtcct	tgttaaattg	cccttatgat	attcatggc	2640
cttgttaata	agccgtcatt	aggggtggcta	caccgaacgc	aaaacagtgt	cctgccaagc	2700
aacaccattt	tgtcactgaa	tctttaagac	accagcaagg	atggcctggc	tgggatccct	2760
ctggggggccc	agatcgagc	cattttgctg	acttaattgt	cctctttcag	gatggtgtga	2820
gaatgctgaa	ctcagaccct	tagtgcctga	aataaccttag	aataaatctt	tcagtttcag	2880
gtacaatttt	tcagacactg	tattattaa	gatgtgtgaa	tacacgctca	ccttcaggcc	2940
tcagaagggt	ttactcttaa	tctgggtgtc	gtgtgggtcat	cagctaggcc	cgactgcctt	3000
ggtggtgaaa	tgtgggttga	ggaccagtga	ccttcgtgtt	agtagttgg	ggataacacc	3060
tctaataagg	gatcaaaaa	taacaggtgg	cgattttgaa	atataatat	atgtatatat	3120
atatataatg	gtgtgtgatt	tgtatgttca	taactacaac	tgtgatttga	tatggcctgg	3180
gagaggagcg	gtttcactat	ggtagttaac	cctgaggcag	atgcatctca	ggactggcct	3240
tttaaatcca	aagataaggt	ttccacagtt	ctaaataaaa	atcatggctt	cccaaaccatc	3300
tgaacagaga	aaatattact	ccctaactgg	ttggctgtca	ttctgcgtgc	ttttctagag	3360
tcgatttttc	gttcttctgt	agataacttt	ctgctaaacc	ctgctaaacc	cagacagagt	3420
gaagacaaaa	tccagctttg	gagaaaaact	taaaaagtga	aaaggttcag	ttggatcctc	3480
ttctgtgttc	atagaagaca	taatctgttt	gcagaataaa	tgtgccgtca	ctgataagga	3540

ES 2 271 092 T3

	ctatgctaaa	atctctacag	aactctagga	gaaagcatgt	cttataaaat	agtggttgta	3600
	cacttataac	tttggatagg	acttgcaaga	tattcaaagg	agaaatgtac	ttaaaaaatg	3660
	tacttaaaaa	aagtctactc	aaaatagtg	catttagttg	caatttagtg	aactgaagat	3720
	ttgagtagca	ttttctctct	cttgggtatg	gcatttcttt	gaaatgggtt	ccaggtagatt	3780
5	ttatcattcc	ggcatgcttt	gtgtgtgcat	gtatgtgtat	acacaaatgt	acacatttgt	3840
	tttatcattt	atcgatgatg	ttcagataat	ttcagaattt	ccatagctgt	ataaatttat	3900
	cccaggtcag	agtcacatgt	ggatttcaag	tttgtgaatg	aaaattcaca	tctacacctc	3960
	tatatcctaa	gataagctaa	gcactgggcc	agaagctggg	tggtgagtg	gaaaaagaga	4020
	taaaactgaga	gcctaagaat	nnttcaggaa	agacaaatat	gtaagcagg	ggatatacag	4080
10	tgagatgtct	tattttctag	ttttgctgtg	gaaactatga	tagtgagctt	aaacatatta	4140
	agaatgggtc	ccaaggccac	acacgggtgg	tcatgectat	aatcccagca	ctttgggagg	4200
	ccaagggcagg	cctattgctt	gaacccaaga	gtccagacca	gcctgggcaa	catggtgaaa	4260
	ccccgtctct	acaaaaaaaa	aaaaaattca	ccaagtgtag	tggtgtacac	ctgtagcccc	4320
	agttacttgg	gaggctgagg	tggaaggatc	gcgtgagccc	agagatgtca	aggctgcagc	4380
	aggctatgat	ggcaccactg	tactctagaa	tgggcgactg	ggcacagagt	gagactctgt	4440
15	ttaaaaataa	aaaaagaatg	ccctgtccc	aaaatgttat	caacatttta	gagcttcaat	4500
	catgttatac	aattctcgcc	tgtctcaagg	accagcacag	attttcatac	cttcaaatc	4560
	tatgcaaatg	cttaaatttt	tttaattgat	tttttgaatt	ttaaagtaac	caaagtgtat	4620
	agagatgata	gaatgataga	gaaaaaagag	taaacagcta	gttttaataa	ccgaagacag	4680
	atgaccacaa	tatctgtgtg	tttttttag	tctttttaag	ggcttgactt	caggtagttg	4740
20	tcattcgttgg	attggacaac	ttttatactg	tttttaccac	tgaatatatta	ttataaatat	4800
	ttaaaaatatt	tctatataat	tttcttactt	aaaaattgta	aatggctgta	taacaccata	4860
	cccagtaaat	acagcctcat	atatttaacc	atccctctat	cattggacat	ttgctgtttc	4920
	cagttttttc	tcattataaa	cagtgtcctg	atagttataa	tgtagagatt	tatttctatt	4980
	ttatgttttt	cagtataaat	atccaaatat	gtccatatct	gtcacctatt	tttccatatc	5040
25	ttcaaatggg	tttctgaaa	aattcagatt	ataatttatt	tatgataaat	ttccagtaat	5100
	tatgtctttg	aaaaaagaag	tatctgaatt	attatagaga	tatatgtgat	gtcttttaaat	5160
	tgatttccta	aagaattcan	gattataatt	ttgaataaat	tgcttaattct	gcttttgagg	5220
	taaatctacc	cttttacaac	aagtgttggg	ggatcacatt	ccctctttta	cagaataaaa	5280
	agaaggtaac	ataataattt	ggatgtttga	cctttgtgct	atataaaaa	ttgaccttta	5340
	caaaaatcac	ctgaaaacca	gatgctaaaa	tatacctctt	agagtaaacg	caaaatagga	5400
30	atactataaa	agttcaaaag	tggaaaaaa	aaaaaatcaa	tgcaagttcc	tttagaaaa	5460
	tggtgtgtgt	attcaggagt	tttttctg	cttactcaga	cctcagtaa	cttcaagtaa	5520
	atgatcaaaa	gggtctacat	agtggagaat	ctgtaccccc	acaggtaaac	gaagaagagg	5580
	atctttcttt	cctaggtctg	agaatccaag	gcttttctgg	tagattcagt	atagatggaa	5640
	caggactgat	aggaaaagct	aaagtccagt	tcacaatttc	ctttctaaga	tcagtgtaca	5700
	aaaaatacgg	aagagagacc	ctggaagagc	cccttagtat	gaaggagcga	agttgaaagt	5760
35	tggaagcagg	ctttgttaaa	ctagaattgc	ttgtttctcc	atgagatccc	agggcaaggc	5820
	agccataccg	gaatatgttc	tgaagacagg	gactgacccc	acagggtccag	gggtgggggca	5880
	gggttagggc	tccgcagcag	gagtggaaag	attagaagta	ggatagacca	gaacactgaa	5940
	gccaaagagaa	tcattttatga	agagatcaag	agtggagaat	atttccaatt	atgcaaaaga	6000
	aagagatgaa	aaggagatgt	tgtttggaga	gagaatgata	tagatggaa	acagccaaca	6060
40	gagacacacc	aataaatgtt	tttcttgaca	gagaggatca	cagtgcattg	aacacagcca	6120
	tgttttaaa	tgagataaga	ttcttttttt	cttttagatt	aaaaacaatc	caaatcttca	6180
	gatgaaaata	agttatcatg	tacaaaaaca	atataaaaa	cttagccaac	atctacatat	6240
	agcctgataa	aaactttgga	tttgaaaacc	aataaaaaga	aaaatatttc	accagcattg	6300
	tgatcaaatg	cttcagaaat	tacttatcca	caaagagaaa	atttagatta	atgttatact	6360
	tcctctctaa	aattatcagc	aaacataaaa	taacgtctct	aaaatctgta	gtcctgaaaa	6420
45	atatcagtag	acaattctct	tacgttgtta	atgagtcaaa	agtgaataat	aaataggtga	6480
	agaaatacac	actaggcaag	tgatatcagt	aaaaaaaat	gaggtagaag	tgtgttaata	6540
	tcagaaaaa	gttcaaaaaa	ttgtttgatt	aatgagaaa	aaagaccgta	aagtcataaa	6600
	agttgctatc	tttaatacat	ttataactac	aggcttccca	tataatccaa	cgatcagagc	6660
	attatagtat	gcacagtcaa	aagcataatg	ctggccgggc	gcggtgggtc	acgcctgtaa	6720
50	tcccagcact	ttgggaggcc	gagatgggtg	gatcacgagg	tcaggagtgt	gagaccagcg	6780
	tgcccaacat	ggtgaaaccc	cgctccctgt	aaaaatacaa	aaaaattagc	taggtgtgat	6840
	ggtgggcacc	tgtaactctca	gctactcggg	aggggaggct	gaggcaggcg	aatcatttga	6900
	acccaggagg	cagagggttc	agcgagccga	gatcacgcat	tacactctag	cctgggagac	6960
	agggcaagac	tccgtctcaa	aaaaaaaaaa	aaagtctgat	gcttatttta	ggggaaatgg	7020
	aagcgggaagc	atgcccacag	actcaatata	tttttaaga	gttttgtgac	ctaaaaatgg	7080
55	attgggagtc	agcatttcat	cttaagaagt	acaaaaaaa	aagaaaaaaa	aaagaaanga	7140
	ggataaagtt	ttagaatga	aaacatgaat	gaanttcact	atgacataga	taactcttaa	7200
	atctgatagc	aaaaactgag	agctacagca	ttccaatctg	ggaggaatat	tgatctacag	7260
	gtatatttaa	ggtaaattag	aatgccaaca	aattggaaatg	atgacaagga	ggttagtgaa	7320

ES 2 271 092 T3

	gaaatgcact	ggagaaattg	gatatacaat	tccaagattg	agaactgga	atcagattgc	7380
	agtaattgaa	atgaagaggt	ggatggtaaa	gatatatcca	caaaaactaa	tgctaccacg	7440
	tcttagtgat	ggaaggaga	gaatgaaagg	gagtcctagg	ttaaaaaata	tttccgatca	7500
5	tcgagcttgg	gtgattgtgc	tattgtattc	tattaagtct	agttaaaaga	aattgttacg	7560
	gctttatcct	tcagtttaata	gtatctacag	ggtaaatcct	ttgcttcatt	cccttttcta	7620
	gttggtttat	tggtattttg	aaattcacat	gagattactt	ccagaggcaa	tatcgttttg	7680
	cttcctttct	ttgaaggcat	tgaatggcaa	tttaaaagg	tagtctagac	tagaaaatca	7740
	taacgagaa	cccaacaaaa	actcaaatat	cttagttatc	ctttttataa	acaaaaattt	7800
10	aattcctgta	tacaatgcaa	gttagttatt	ttaaaagtaa	attctgaaga	tttctgagga	7860
	aagaatagaa	tatcctgtat	atacatacaa	ttataaatca	aaatttttgt	ctcagacata	7920
	ttttgctgt	gttgcttata	attagactct	cttatctctt	tccacacaga	gccatgacta	7980
	tgcaatgtga	actctctaa	tggtctcttc	tgagcatcta	ggctagtgtg	gcctcattaa	8040
	tttggagaaa	gtgatgggag	agggtgtgag	ggatcacctg	aagatgtttt	taaaaaata	8100
	caatgtcctg	ttttccaccc	ttaaagattc	tgatttagta	tgcttgaggt	gaaggaggcc	8160
15	tcagcttgag	tgctctagtt	agcttgggct	gctgtaacaa	atagcacaga	ctaggtggct	8220
	taaactccag	actttgggtt	tatacagtct	ggagactaag	aagtccaaga	tcaaggtgct	8280
	ggctgattcc	tgtaggggct	gtcttctctg	tccacagacc	attcagctgc	ctccgttctt	8340
	cttatagatt	cgctagtccc	tttcatgggg	tctccacctt	catggcctca	tgacctccca	8400
	aaggccccac	ctccaaatac	attagagata	agagcttcaa	catatgactt	gagggaaggca	8460
	gaaccattca	gtttatagtg	ttgagaatgt	ttctgaacct	cccttgataa	ttcatatggt	8520
20	aagcagttc	taggaattca	tattttaaac	catccctctt	tgagcaaat	tgtaggtcca	8580
	tattgcaaaa	tttaacaaac	acaaaaacat	aatctccctt	tgatcttctg	ttatgtttta	8640
	atatagtagc	aaattttgaa	aaccactggt	ttaaaccatc	caccttcttt	atctaaccct	8700
	tacagattca	tattataaga	ttaaacaacc	acaatcaaaa	taagtatccc	ctttctgggt	8760
	tttcataata	tataaatgat	agtagcagct	catcaaaata	aaatatccaa	cactggataa	8820
25	ttaatataga	gtaggatata	tactcagcac	agggtaggac	ggtaggtggc	aggggctggg	8880
	aggaggggaa	aatggggagt	tggttaattac	tggttagaac	gtttcagtta	tgcaagatga	8940
	gtgagctcga	gagatctgtg	ttatgacatt	gtgctgttag	ttaacatttt	atagtgaatg	9000
	taaaaatctg	ttaagacagt	tctcgtgtta	aatgctccta	ctacaatgaa	acaaaaataa	9060
	aaattactgt	gatgtagggt	acaaaaatc	gacctcagtt	cctctcatac	tgcttgacag	9120
	ttttagtttg	ggcatgtagg	tgcaatgaca	gttttagttt	gggctgtcag	ggtgcaatga	9180
30	caaaagggca	ttggggcatt	gtggtgtgta	ctgaatccct	ttagcaaac	caatcacttt	9240
	aaagcccaga	gaaaattcaa	ttttcacaat	taaaaaataa	aacaaaacag	aatccttgga	9300
	gaagtaatga	cagtttttga	gtttttctag	aaataaccag	agaaaaataa	cctgctgttt	9360
	tactttggga	tttaagaaat	agacttataa	aaagtgggga	accatttttt	atttctaatc	9420
	agtaccttga	caaaaggaaa	acagaagagt	ctgttttttg	agatggttct	ttgaaacatt	9480
35	tgctctcccc	tatgtgtgtca	ccaccttggg	tagcccttga	agtctgctgg	gactggacca	9540
	tgcatgcaaa	attctgtttt	ttgcagagct	acattattta	gtgagggcca	agacacagat	9600
	gaatgagtac	cccaaaagaa	aagtggcagg	tggtcatttg	aggagagaga	gagaaggaga	9660
	gaggcagaaa	gaaaaagaga	aggaagaaca	aagaaaacca	ggcagccaaa	tcagggtctt	9720
	gactttttgt	caaaattaga	ttgaaaatca	accacaacaa	tccactacct	gcaggggcag	9780
	gggagtgggc	cgctgttctg	ttgtggagac	acgcattgcc	gctgtgatgc	ccagggtgtc	9840
40	agttttttga	tgctgtctta	gttctcctgc	taacatgttc	tctgtgtgtg	tgctggggga	9900
	gacgcaggag	tccaggctaa	gtttaagaga	gaaaacatag	agctgctgcc	tttctcttga	9960
	gcagagggca	gattacaggg	aatgatgcat	ccagctcatt	gaagtccaca	agctaaggat	10020
	acgcggaggga	gaggcttgct	tgagagggcc	cggaaaggact	ggcattgtaa	gtctagtggc	10080
	aggcatgtct	taatttggtt	ttattactta	gacgtggnaa	taggcaggaa	cttgaggatt	10140
	cccgtctctg	ttctctggga	aagaagactg	ttctattttac	aaagacttga	aagggtcaga	10200
45	ctgaaagaag	acatggacag	caaatgtatt	ctgggggtgg	aatcagaaag	acctggctcc	10260
	ctcgtgggtt	atcacagcta	accatgtgac	ctcagacaag	gcacttatct	tctccaaaac	10320
	tcagtttcac	ctgtaaaatc	agaataacag	agagagagac	acttacctca	ttgagggcatg	10380
	gtgagaaata	ggtaacaatt	agcctcacac	ttataaaacc	ctcagcaaat	gttaggtgta	10440
	acttgtttga	actgaaaatt	tttttaattg	tttactttgt	tcaaaagaaat	tataaataaa	10500
	acacatcatc	tttgtgaaca	tgtagagaag	ttcgtgtttg	tgaaatgtac	aaaagtctct	10560
50	aaggttaaaa	agtgaagtc	aaatgcttca	ccatttctct	ccctccctct	gttctcccaa	10620
	caaatagact	acttggaatt	ttaacttgct	tccaattcat	gtgggtctgg	gcagtgttgc	10680
	ctccaatttt	taatctctgt	agtgggaata	atactaaaaa	ctacttcaga	gaggtgtcaa	10740
	atgcttagaa	tagtgcttgg	catggagtaa	gctttcaata	atatttgttc	tcatctttca	10800
	agttaaaaaa	atgagtacat	aatgtctaa	cttgcttcta	ttctataatt	atgcacagta	10860
	gtttatggac	tttcatttcta	ccctgagaaa	tgatcaaatg	cataaaaatc	tgagcagtg	10920
55	caagagtatt	aatcaccttt	atcattggaa	gtcacttttg	atatcatcta	ttgcaaatgc	10980
	ccagacagag	gagaaatctt	ttctgcaaac	tctaaaatgt	gtagtcatte	cctctgagag	11040
	tatccataaa	ggagtttacc	accttttggg	atattccaac	atattatgat	tggaacttta	11100

ES 2 271 092 T3

	tagagtagat	gttcttttta	tcaataaac	agtcacctct	tgataaactt	ttgttagaga	11160
	atttctattt	tgtctgcatt	ttccttgcta	gaagaacaga	gagcactaca	aaacaaatca	11220
	taacaactgt	gttctgggct	ttggattttg	ggtaggacag	aaaaactttc	tcaatacata	11280
5	ccttttaatt	gctcttgcac	aactctctga	gaaaattaca	tacattcttt	tagccatgta	11340
	tcatagggtg	aactctattt	ttagttttca	tattcttagc	ctagtcagtc	aagaaattac	11400
	gagactaaaa	ctaactctag	gaagtgaaga	aactctgcat	tttaggaaat	ggagagatct	11460
	gtctcttcac	tacatggggg	gagattatca	aatggggagt	agtaaatatg	tttttctcat	11520
	tctttaccac	atttagagaa	aaaaataatg	aaggtataat	agaatatttc	taggattcat	11580
10	cctcaaggaa	aaaggaataa	taaatggata	atacctttcag	aaacttgaaa	gggttattta	11640
	gatatagttt	atgagaggtt	tgatgatttc	taccagaaaa	aaattgacat	ttttataagt	11700
	gtgtgggtgag	aaaaatcata	aagtgaagtca	gataataaaa	atggattcaa	tttcaggaga	11760
	tgagaaatgt	ctgtactatt	tgacacaaaa	ataattgatg	ccaagagttt	gtaaacacca	11820
	ggctatatga	tttaaatata	ttgaaaaagt	cattttctca	tttctgtgcc	attctgtaat	11880
	atacttaatt	tttgattcaa	tagttctgtc	aggcacattg	tcccgctctg	tctctgtgcc	11940
15	taagtttcct	catctgtaaa	atgggttctg	tgaaaatgga	atgacatagt	gcatattctt	12000
	ttttcttttt	ttctttttga	gacagagctc	cactctgtca	cccaggctga	ggggcagtag	12060
	tatgatcttg	gctcattgca	gcctctactt	cccaggctca	agtgagcctc	ccacctcaga	12120
	ctctctgagta	gctgggacta	caggtgcatg	ccagtactcc	cagctaattt	tttgattttt	12180
	tttttttttt	tttagagatg	ggttttctcc	atgttgcccc	ggctgggtctc	gaactcctgg	12240
20	actcaagcga	tccactgcct	cagcttccct	aaatgctagg	attacaagtg	ggagccacca	12300
	cacatggcct	gaaaatgtat	gatattatta	aacagactgg	cacataataa	cccctcaacc	12360
	aacatttttg	ttagaaggac	tctgtttttg	catgacagta	aacgtaattt	gggttgaaat	12420
	caaccagtg	gctcactatt	ttaacatgga	aactctcatg	tatcccaaa	cactttttca	12480
	tgggggtatat	gtgtgtgtgc	aagtgtgtgt	gagctactga	aggctatttt	cctttggaga	12540
	aagcattctg	agttaggagat	aacattcatt	tttacangca	acttctgttt	ttaacacttt	12600
25	cccttaaat	gtcgtgatga	ttgaaatctc	aaggcangtc	awtgagcnag	cccctaattg	12660
	ggagacagca	gagtgtctgg	attctggctc	ggaaagtggc	cagtgcgtgt	gagaggtgtg	12720
	ggaggccgtg	agaggtgacc	tcatggaggg	agaggaagag	cgtgagcatg	caggacacag	12780
	atgatctggg	ctcagagaaa	gaggggaagt	tcatacactc	aagatgcaca	gagagacac	12840
	tcagctgggc	agagggaggt	gcaggatca	gtagctctga	ggctcaaag	ggccctggga	12900
30	atttgaggag	ggcagagtgg	gcagggatgg	tgacacatga	ggcaggtgga	tgagtgttgg	12960
	ataacagata	ataagacaaa	aatatggggg	atttttttct	agttgaaacc	atagcataaa	13020
	atgtatgatg	ctacattcat	ttgctctgaa	tggacatgtc	ttctgtctga	gaaggaaact	13080
	agcaagcaaa	attgacagtc	aaacttttca	gaaacaaggc	catcttgcgt	ttaagcatcg	13140
	ccttttctcg	tcaagttttc	actgtgggtg	attgaggtaa	aactgaaagt	gtaaaagtgc	13200
	atatagggaa	aggacaggaa	gctcttgttc	aaatgtagat	tttagtggtt	tggtgttttg	13260
35	agttctgttg	ctatttgaac	taaaaagagg	aagaaataaa	aacattttga	ataagaatta	13320
	atattgtaat	gcctacatta	acaaattggt	aacatcaaat	acatgtgtct	tcaaaatatg	13380
	gggtatggcc	ttcttcagat	acaaatttaa	cactgggaac	ctaactctga	aagctgtgct	13440
	tatatcagct	caccttgtaa	ggccttgcac	gtataagcat	gtaaatgagc	tatgggacaa	13500
	gaaagacaag	gaaggggcac	agatgtttga	aggtagtggt	tacttacagt	taggantttt	13560
	ctgcacatgt	gtatttattg	acagaggatg	atgttcacag	aatatggcta	gatttaaaaa	13620
40	atctgtgtac	aaaaccatgt	ataagcagcc	atttaaaaat	aatgttatgc	atggaaaaat	13680
	atatgtggca	aagaaagtcc	taaaagagat	acaattcata	tcctcttggg	gagtaagcac	13740
	cctaaagaaa	attccacaag	agaccataac	taattacttc	atctgcagcc	ccttgttcgg	13800
	tggcagacac	aatgtatgtg	ctcaacaaat	tctttgcaaa	aatgattgag	tctctagaag	13860
	tggaaatccct	gatggccttc	atttttgttt	cttattttgt	ttatatagtt	tttctaattt	13920
45	ttctacaaca	aacctgtatt	acttgtgtta	atgaaaataa	aataagaata	gaattatttt	13980
	cttctaactt	aatttaaggt	ttaagtattt	gagatctagg	caaagaaaga	ccagttagct	14040
	ctcctggatt	tttgcatgaa	tctcattatg	cccgatagca	cagaaacrtg	ttgggaatcc	14100
	actgctcaat	attccttgcc	tagggaggta	gtatggagcc	agcagtaagg	tactgaagga	14160
50	ataagaaaa	cactagatgg	acgttgaaga	gaaagtgcgc	cacactagag	gctctctttt	14220
	aattaatcag	ctactctgcc	tttaaataca	gtatgttgtc	ttccatgtca	ggaacatgga	14280
	gggaaaagac	ctagtatgtt	ttgttcaatg	ttaaatccac	gtcacttaac	aaaatgggtca	14340
	ggatagtcaa	aaaacaaaa	aattatgcaa	acatgaatga	atgagaaact	tctgctagca	14400
	atgctgggtg	gtttcccaaa	gacatgaaag	tcagagtttg	aggtgaagag	tcccggagat	14460
	gttattgaac	attttctttt	cttaatttcc	ttctcaaact	gtgccaggga	tactaagcaa	14520
	agagataaaa	accacccatt	aagtgtgtat	gtgtgtgtct	gtgtctgcaa	tagcgcggtt	14580
55	gataaacaat	ttcacttgca	ctcctaaaga	ccccacagtt	tatgcacaaa	agttatcaga	14640
	agagtggctg	ttggtatgca	tgtattgaca	accttaataa	cacctaatga	ttaaaaatga	14700
	gtcaatgact	tctgtcttct	ttggggcttt	ttagaatgaa	atagatgctt	tcattttata	14760
	caagtgtgat	gtttatcttc	tcacatcttt	attcccaaat	attaagtttt	tcagttataa	14820
	caaatcacac	acatagacaa	agttctcatg	agttaagtga	gggaattagg	aaagactgat	14880

ES 2 271 092 T3

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

```

gtgggattgg cattggataa caaagaggac atggccttga taaaggggtt gaattagttg 14940
agtaaagggt gcaggatggg gaataatggt atgttttagcc aacctgagtg cagcatgttg 15000
tatgagtgtg aaaggaaggg caggtacaaa tcagtgggac tcagggtcct ggaacataaa 15060
gggttaataa agtaggcagt tcgtaagcct caagaatgcc ttcataattca gtgctgtata 15120
cccagcacat accgcagtg cctgataccac agtggatgca taatatttgc tgtgtgaatg 15180
aatgaatgaa caaatgagtg agtgaatgag aaataagaag atacactgag gttttctggg 15240
ctacaaagga gacctacagt gtgtttggaa gctgattttt ttttatataa aagaggggaa 15300
atthtgaag gcattcccaga cntgagggcc catggcctac nttagaaagga gtctagnaaa 15360
tggggatagg tgaaaaaggc cgnntgtaca tatatggaat gaatgagcna agaaaaaat 15420
ccactgctga gagtgggtgc aaagagaacc tgctgggcct tcccgtctga catggggaac 15480
ctgaagagtt tagagcagta gggctctggga catgagagga aggagaaaaa caggatgcct 15540
ggctcatgtc gctctctcag gctgaatctt catlcatgat ggtgttggca cgtcttccct 15600
acatctcgcg gggaagcagc accgatacct ctctaaatta gtagctggac acagatggta 15660
atggaaactg taacaacagg tgatcactta aggggttaag tagagaagac aggcagaag 15720
ggcatgctgt gaaccataat ttggaagaca ggagaagatt caaaagactt taatactgaa 15780
cccagagagg ctgcaaggga agtaaatgac ccatagtggt gcaaggggcg tgcagttaaa 15840
gaaaatggaa tatthtaatt ttaatactgt gaagacgggg ctggaatgaa gtaggggaa 15900
tatataccaa tagaaatgaa attgctatca cagaatacaa aaactgggtc ttaaccattt 15960
aaaacagcaa tgaacatggg atgaatgagt ttcntgagt gctataagct gtttctgagt 16020
aaaagattta ttaatggata catgtgtaac tgtgtagcct ctcnncgat attgaantat 16080
ttaaatacca actactttta ataatgtcg gaaacctttt gaaagccatg tttttcaaac 16140
tttgtgtact gtcttatgaa ggacactttg gtaaacagaa aaaagagata ttggcttata 16200
aaaacataat aatgataagg ctgagataca caggaancaa tttcttatca aaataataaa 16260
cttnacatag gatacttaaa tatccctact ggttttttat agagaaataa taggtctgct 16320
gtatgcagtt ttatgtattc aacatgaatg aaggcataaa acaatatttc tgtttgcaa 16380
ggaaatattt tacaatcaac cacctcaaat taattttgaa ttctctcatg gtttctaact 16440
taaatttatt ttactacttg atgcttttata ataatattta atagtattaa attaaatcta 16500
gagatccagg agctagtttg ttagttttta tgtatgtgtg gattagccag gtatctttgg 16560
agcttagatc atttcttggg cactgtgaga tttagtggca cctgggagca ggtaaagtga 16620
aggtaaatgt gagtgcagac taatgtcatt cagttataat tgcactattt tgggttggtc 16680
gatataacca aagtgggaat tttttaaaaa acaataaatt ctggacatgt attttcttag 16740
ataacaaat ccataatcaa aaatgatttt tgcttttagt ggcgtattga taataaaggt 16800
gcattggaatt catatgccca ttgtctccac tgctcagtga aagagggaatt gtggacagat 16860
ctctaaaatt ccttatataa tctttgaagt gaaaccactc ttttacttgc tcctttgtat 16920
gtgtcatctt gaaggatttg taaagatttg tatctacact cagtatttgg gtggatagga 16980
gactgtcatt gaagaggcat ctcaaattga ggccaccaga tttccttccc cactaccagt 17040
acatcagaga aaaaaaaac actttaataa ctctgtatca attaatctgg gatatacaag 17100
agtcccaaac tccaattata taacataaat taattagtgc agcctactgc aaagcccata 17160
ttcaaaacta atattcagag caataacagc ctggaaatca ccagcatgtc ttaagccag 17220
ttagcttggt ttcttctggg aataggaggt gaatccgtcc gttttcacac ttctataaag 17280
aaatccctga cgacgctggc taattttata aggaagaggg tttaattgac tccattctgc 17340
atggctgggg aggcctcagg aaacttacaa tcatgggtcg agacacctc ttcacaaggg 17400
ggcaggagaa agagtgtgtg aagttagaac tgcacaaac ttataaaacc atcagatctt 17460
gtgagaactc actccctatc atgagaacag catgggggaa accgccacca taattcaacc 17520
cctctctcca cactggggga ttgtggggat tataattcaa gatgaaattt tgggggggtg 17580
gaggacacag ccaaccataa tcaggagagt taggcagaga tacctgccca ggtagataaa 17640
ggagcacata gcgatgggga taggtgctca atacaggcaa tcagattcgg agctgctttg 17700
ttctgagttt ctgtgtttta ttctcttttc cagtaaaaaa tgcactctgt ngcgcgcgca 17760
cacacgcgcg cgcacacaca cacacacaca cacacactgc aaacatgttc 17820
ttgtactcca gtgaggacta agtggcacc atgtgtcttg gttagggttc tttctctaga 17880
cccattggag accagatagg agagccagtg aaccgcctg atgttaaaac tgcagtgc 17940
cgttttctct actcagctc ttttttttgc ctgaagcgtc ettttttttc tgttaccgc 18000
cttgagaaat tctcctaata gtctgcagct tcagcatggt caactctaaa ccccttacac 18060
attgtagtca aacagagctt attttaaatt tcaagtttgc ttggatggcc ttggtcaagt 18120
tattactgct cttgaggcta gcttttctca tttttctcat gcatgtgtaa gaagatgagt 18180
tttttggttt ttgttttttt ttggttaggg ctgttgtaaa gatcaataa aatatcattg 18240
ctaagtgtcc caaacatagt atatgccc atctgttagt tcctcacctt cctttaagac 18300
tcaatccagg tgctaataca atgggaagtc tcacagtcga etcagggatc atcaggtacc 18360
acctgccttt ataacaattc ttctcacatt gtattgcact tatttgctat ttgtgctctg 18420
agggotgaca tataatagcc ccccttcaag tgactgctga gttgtggaag gcagtagcaa 18480
tggccatagg gaggtaacgt ctatcacagg atgtagatgt ttcagaattg tggaaattta 18540
agcagttagc aggcattctca tctccacct caatgtaatt tcatgaacaa tttacttcag 18600
agtagctgga agaatttga taatcactgc attcataaaa caacatctcc atttagggga 18660

```

ES 2 271 092 T3

ggttcttccc	ccattcttcc	tgacctccct	cccccccaa	gttgggagat	caacttgggy	18720
ctactgttgg	aagtaagaga	cgctctgtgaa	tgctcgattta	aattaacact	ggggaaacca	18780
tggggaagat	ctgtgcattt	catctgtatt	actcagcagt	gttctagcac	aaagcacctc	18840
tatgtggaga	cagctttagg	tataagagca	tacatctaaa	aagattttcc	caagaatatg	18900
tctgcccctaa	gaagcaaccc	atcttactct	agctatttcta	aatagctagc	ctctaaactg	18960
cttttgaaagt	acataaaaata	atccattgct	ttgggagaaa	aaaatcaagc	ttctgttgggt	19020
attaatttat	ctcatccttt	taaagtttct	atcttcatat	gtttattata	cactatggag	19080
tagaacacat	atatgcctta	caaataagta	gatatatgtg	gggaactcaa	ttttttgatg	19140
agggcaagat	gggttagatg	acaaatacaa	cttttccctt	tncccagact	gtggttttgt	19200
gcttgctcac	caaagctaac	ctcagcatgc	tcaaaaggaa	gcagagtcc	agggtggaag	19260
cccagccagt	cactgacttt	ggctcctgatg	agtctctgtc	ggataatgct	gacatcctct	19320
ggattaacaa	accagtaagt	ttcttctttg	agtatggaga	agcatatgtg	gatgtgagat	19380
aatgtgtgatt	gacaaattca	aataatcagt	acctttgggt	tcgnaaatat	ctgagctgca	19440
gtagaatatg	gatgaggttc	agagtctgga	agtagagaa	aatccaatga	aatagtga	19500
tgctgcctatg	agttactcac	ataggaagat	gcactgggta	gtctgatccc	ctccccctcc	19560
cacgtctgtgc	acctgtcct	cagagtcaca	tggtgtagag	atgataccac	ttctcaggct	19620
gatcccaagc	gggggtccaa	gatgagcaac	ctgttctgaa	tgaacctcct	ttactgtgtg	19680
tcaacgttcc	tgaatccgtg	agacaatatg	cacatgtttg	gaattaaagg	ttctctctctg	19740
atcttgcaaaa	tttgagttaa	agggtcaatga	gataatggat	ggtatctctg	aagaactttg	19800
tcaccttcac	cgcctaatta	agttgatgag	gatttgagaa	gaactgctag	gccaggcacg	19860
actgtgtgtgc	tgaagacata	ctaagcctga	caggcatgca	tatccatgag	19920	
tgctggaatc	tcagctctgc	aaaaccaagc	aggatcaact	ttcttactcat	ctcatgggtt	19980
atgctgaagt	aacaaaagga	aatggcctgt	ttccctcttgc	agtgtctgtc	cttcccccaa	20040
ccatgatata	cacatgatct	gcttggactc	tttgtgtgtc	ttcccagctc	ctcttctctc	20100
aatctgccc	ccaggttact	ttccctgcct	gctcacattt	ctttctatat	ttctattttt	20160
attcacatca	cgcttctgct	ttataatcat	ggaagcatcc	ctattacctt	cattgcaaat	20220
taaaatacgt	tagtgtgaca	ttcctgtctc	ttttcattca	ggacctaac	tgtccagcaa	20280
ctgtctcttt	cctgtgtcag	cacactgtcc	acttgagccc	catcagcagc	ctcctactcc	20340
tctaggctct	ctggattgtt	cacattgctt	ttccctgctc	tactgtctcc	tggccccagt	20400
gaccttttcc	cagctcctct	gatgagtcaa	atcctcctca	ttccattagga	ctggatgaga	20460
tgctcacctct	ggcatcctcc	tctgaaaggg	ttatctccgc	cacagacaga	atgtacctct	20520
cttctctttt	cacttagcct	gtttttatat	tgtatgtaaa	tataaagtga	tctgtaataa	20580
actgtatttt	tatatgtatc	atatattatg	tgtatattta	cattatatata	attgtaggtc	20640
gtgtgtatat	ttatataata	tacatatatt	tatggatcta	ttgtcttagg	tatatataca	20700
tgttatatac	acatacatat	aaacatataa	caggnttata	tgtatatcac	atatatacac	20760
attacacata	cacatatatg	ttatatgtgt	taacatatat	gcataattacc	cacacatata	20820
aaatatcatg	tgtatatata	catatatata	tgctgcata	gcataatcac	atatattata	20880
tgtatgtata	atgtgtacat	atattttat	gtgcatgcat	ataacatgta	tatgtaatat	20940
gtatatatgt	tatatatcgtg	agactatata	tgtatatatg	atattatgtc	ttatctagaa	21000
catgttttat	aatgtttatat	aatgtgacat	gtttttgcct	cttgacgtgc	ttgtctttcc	21060
cctaaccatg	atacatgcag	gatctgcag	gactctttgt	tgctcctccc	agctctgtct	21120
ttctttctcta	atctgccttc	cagactacat	gtgtttacat	gtatgtgtat	ttacatgaaa	21180
cataatatat	acatacatat	aacatgctat	gtgtatatgc	acacattata	tatatgtatg	21240
tgtgtgtata	tatatatata	tatatatata	tatatatata	tatatatata	atacattcat	21300
agggtgtttta	cttcttgga	tgcaaaagcag	gagtcagaag	tgtgttgctt	ccatattttg	21360
ttctccattc	ccagcattct	gacacatagt	aggccttcat	tcatacttag	agaattgaat	21420
ggaatagaga	atgaagcacc	cctaactttt	tcttagtgtc	catcttatta	cagagctttc	21480
tacaaactta	tgaagaaggt	agtataaaa	atgtggcctt	ggaggcactt	actaaaatta	21540
ataattcttc	attaaaatta	tgtcttttaa	ctaaaaaac	ttttgttgtt	gaagaactta	21600
tatttggaag	ctcttttgta	taatttagatt	ctttatgttg	aaagtccaga	tggggctaaa	21660
ttcacacacc	aatgtttatt	gaagtgtctc	caaattgcat	gaaaaatata	tcaaccttta	21720
aagtaaaactg	aatcatcagt	ggcttatgtg	gtatggaatt	agcagcaaaa	tatcttcatg	21780
taaaatttat	aactgtcaga	taaaatttat	aactcctcag	ctgcaagtgt	ctgagtctcc	21840
tgaagttct	gacagtcttt	tctanttttt	catcttgagt	gtttngctag	tatatatagn	21900
ctgcagaatc	catctactac	agactaaaa	tttttttcag	agtattatat	taaagaatta	21960
tcataatttc	atatatgttc	cagatagtca	ataaaaaag	atttggaata	tgtttaagaa	22020
ttgtatacta	attgattaac	tggtaattat	aatttgtgtg	ggtttagcat	ggagatgcag	22080
ttaagtattt	ttttaatcct	agatactagt	tttcataaaa	aaatattgag	tatgagtgat	22140
tgtatgtcct	gtatatatat	tcatgttaac	acacacttat	ctttaattct	ttcttcttat	22200
tttgggggta	aagaaaatct	tcagacagca	gacatgcctg	tagtgttgca	cagaaagtta	22260
ttttgtggaa	ttttgaaaga	tgtctgggct	aaatttgtat	aaaatgtgtt	ctccaaaata	22320
aagagaaaaa	tctatgcatt	tttttcaaat	gtaggatgag	accagatttt	taaaaagt	22380
ctttgtattt	ttatacaaa	gcattatata	tcagatacaa	atagaaagga	aattctaaat	22440

ES 2 271 092 T3

atgggatgtg ttatatatca attcatttaa aaagcatttc ttaactacta tgataggccc 22500
 ttgtgctaga tgctagggaa gttatggtaa atatagtatg cccctaattc taggtactta 22560
 tagtacaaaa atgaaaaaaa agtaatggca catcaagttc ctatgtgact aaattacaaa 22620
 5 cacataatctt aattgaacca gaattcttct atattgtagt ctgatgccca ggagggtatc 22680
 agatggtttgg gagagcctga tcagggtccg tctatgcttt ggggtcttgt aacgcattggc 22740
 cacagaaatg cctccacctt tctgtcttag tgtgtttatg tggaaaaatg gtgccttgag 22800
 aattaaatga tatnaaaaac gtgaaaatat ttgtagcaca ttatatgcac tttagatgtta 22860
 gatttcttct tcttcacctc catattagta aactatttta acctcagtat tatgttttcc 22920
 10 acttagtgtg gttcataata caagtttgag atatcagtta tgggtgccgtg tagtaactct 22980
 ggaccatcat tgcagtgggt tcactctttg ctgcccattc gtgccatcat cagcgtcatt 23040
 tctgtttgta tgaatacgcc aatgaccttc gagcactatc ctccacttca gtatgtgacc 23100
 ttcaacttttg atacattatt gatgtttctc tacacggcag agatgatagc aaaaatgcac 23160
 atccggggga ttgtcaaggt gttctgctcc atgtcattta aactaagaac ctaaaatgtg 23220
 tgaaagtctt aatcccttta atcatatttt cttgttcatt tcagtaaaac aaaacatcat 23280
 15 tttatcttat acatatggaa gtccctttta aaaaggcata actccagaga ctgggagaaa 23340
 ttgttgcatg agactatttt aaaagttaa taaattttgt aagtcaaaa ctcttggaa 23400
 atctgagaag gaacaagatg gtttgagtaa tgactgtgtg aagtctcgag taggttatt 23460
 catgccactt agggctgagc ccacaaccca gcacaggggc tggcccagag aagcacctta 23520
 ttatttgttg acttagggag tgcagaatca gagtcccatg atagagttag agcatgatat 23580
 tattgcagca cgatgtcatt tacttgatgt gttttgaaaa taaaaaagga taaaaaaaaa 23640
 20 aggacatgag atggaaaaaa tgtctggggc caaaaaggaaa attatgtgtc atgtgaaatt 23700
 agtaccattt ggaaacaaaa tagatataaa atgttttaaa agggtaaaga aagggaaga 23760
 aaaggaaaga aatttctgtc actggatatc ttttcccttc atagcactaa tctttacata 23820
 ggtaaacatc atgtagatga tgcgttccct agagtattta aattgtacta tttggggaag 23880
 cagtaaatag agtgcagatt tttagatttg acaaatgaca gacgactcag atcttagttc 23940
 25 tttcacttac tggnttgtat cagcatctca agttagctaa ttttgggtgag aaagtgtttt 24000
 attttgtaca aggattttga gaattctact agacaatata taacacataa ttatttgtca 24060
 atttcattgc ttccctttta tacataatta attgtgtgcc atccttgaaa gacagagatc 24120
 accagaatg cattaatagg ttcttgttta actttttatt gtggacttta aaaaatttac 24180
 cccaaagtat attacagtta taatgtgaat cctgttaact acacatcaac aattatcaat 24240
 atttagccaa ttctgtttca ttttaagca aatctgagaa accaagtcat ttcagaaata 24300
 30 actccttttg tattgggtgac tgataaaaat ttctcttttt ataaccacca taccattatc 24360
 aaataataat atattttacg tatgataaaa ttttgttaac aagacttagc aataattcct 24420
 taatgtaggc taataacttaa cccaccgttc atatttccca atattgtcac aaattttttt 24480
 tatgttgggt ttcttcaact caagactcag acaaggttta catagtatac ttgattgttt 24540
 ttgttttctg ttttggggag gaggttcact ttgttggccc aggtctggag gcaatggc 24600
 35 gatctcagct cactgcaacc ctgtccctct gcattcaagc aattctcctg cctcagctc 24660
 ccaagtagct gggattacaa ggcctaagcc accaccccg gctaattttg tattttcagt 24720
 agagatgggg ctcttccatg ttgggtctga actcccgacc tcaggtgatc tgcccgcctc 24780
 ggcctcccac tcttcttctc taagtctctc ttaagtctct gtaagtccac taagtctcag 24840
 40 ctttccatcat cctgcaaaaa attttctct gtcattgatc cattggaaga catgctctt 24900
 ttgtcttctg gaagattcta catlttgagat ttggctgatt gcttccagat ggtgctctt 24960
 aatagtttnc tgtgtactcc wtgttccctc gaactgcttt ngtaantttt gaccagncaa 25020
 tgcacacagg tgcttctttn cccacatggc cactctmaaa atatgtcaga cttctggata 25080
 tttgccagtc tgaagggtgg gaaacggtaa tccactgtag ttttaatttg catttccctt 25140
 ttgagagtga ggttagatgg gattttatgt atcaagagcc atttttaagt tactattttt 25200
 45 tcaatcaatt ttggccactc tgtgtgtgtt agaagtatca gctgtttgtg atataagttg 25260
 caattgtttt tcccagtttg ccattgtcat tggctttgtt tgtggttatt tgtaccatac 25320
 acaattctta tccaaatcat ggacaaactt tctattgtct gcattttatg tcatacagga 25380
 gagttttgta ggtttcctca tacagatttt gcacattctt ggttatattt atgctttggg 25440
 attttattta atcattttgt tatttgtatg aggtcttcta ttacatgttc taacttgttc 25500
 50 ttttaaatga aggtgtttgg tttctataca ttaattattat attctgctac tttactaaat 25560
 gttctagatt cttgtattag tcataatagt tttcttgcta attcttttga tgcctccata 25620
 tgatcatatc atattcaaat aaagaaagat ttgtcttttt ctttgttaatt tttatgccct 25680
 agttgctttt acttacttaa agtaaaataa atgaattgac taacactgcc ggtaaatatt 25740
 taaatactag tagaggtagt gaacattttt attttgtttt gtttttgggt tatctagaac 25800
 atctctagtg tttcttcatt aactagtcca aaaaattggg atttgaagta tgtgtacatt 25860
 attggattaa gtgaataaac ttttaatttca catlttgaga gttgtagcac aactagcttt 25920
 55 aagagaagag attttcaaat attgagttat ttttaatttg tcaaattatt attttttctt tagtgccttg 25980
 tgggtcaaca tacattttta ttctatttta ccttccatlc cgataaagaa aaatccctac 26040
 ttcttatttt taaatttggg ctaatctttg atgtgtgtgt ttgttatata tgttattatt 26100
 gtgggtggcg ggcattgtat cacactataa aatagtctga gcactctcag aattgttttc 26220

ES 2 271 092 T3

5
 10
 15
 20
 25
 30
 35
 40
 45
 50
 55
 60
 65

```

actttaaaag tttgggtatca gttcccggtg aaatcatctg gtccctgttgc gttttttgtgg 26280
gggttcccttt gcagttatttc ctatttcttcc tatggaaatt gtctgttttta tttttattttt 26340
tatttttttat tttttgtttt ttttttgggtt ttgttttttgt tttttcgaga tggagttctca 26400
ctcttgtcac ccaggcttga gtgcagtggg tcatttttcgg ctcaactgcaa cctctgtccc 26460
ccaggttcaa gcgattctcc tgccttagcc tcccgagtag ctgggactac aagcgtgtgc 26520
caccacgcct ggctaacttt ttgtgtgttt agtagagatg cggtttcact gtgttggcca 26580
ggatggcttc aatctcctga ccttgtgatc cacctgtcct ggcttcccaa agtgcctggga 26640
ttacangggc tgagccactg tggcagacct atgtcttcat tttttagtag agacaagatc 26700
ttgtctctgtt gcccggtctg gagtgtagtgt gtgtgatcat agctcactgc aacctccagc 26760
tcttggggatc aagagatctc ccacctcatc ctcccagtga gctgggacta cagggtgtgtg 26820
ccaccatgtg tggctgatcc ttaaaacttt ttttagagac agggctctgc tatgttggcc 26880
aggctggctc ccaactccca gactcaagcg atcctccac ctgggctcc caaagtgtctg 26940
ggattacagg cgtgagtcac agtgttcagt caaaactgtc tgtttcagac ttgcttggtc 27000
tattgggggtc tatttgggtga agtataattt cttaggaaat tatccctat ttattttgtt 27060
taattattttg gtaacataga cctgtgtaaa tagcttttct tccctctgtt tgattttctc 27120
ctaatttttgt atttttttgt tattttgggt agcattttgt tgtcatcagg ttggctagca 27180
gtattttttt tttgttccat tttgttttag gttagccaat tggtttgcct attttgttga 27240
tttttttttaa aaagaatcag cttaattaac ttattaattt ttgtttaatt tttttctctt 27300
aaaaatattt ctattatact ttaagtctca gggtagatgt gcataacatg cagggtttgtt 27360
acatatgtat acatgtgcca tgttgggtgt ctgcacccat taacttgtca tttacattag 27420
gtataatttcc taatgctatc cctcctccct ccccgaccc catgacagg ccgggttntg 27480
tgatgttccc ctctcctgtg tccaagtga tttattagtt tctttctttg ctttatttgg 27540
tttacttttat gggctgtgtt ctaacttttc cgtgggtaaa atgttaacca caaggataat 27600
gagactctta aatctgctgc ttccttgcct agaattgttt tttccctcg aagtggctg 27660
gttaaccagg agcataaaat gttactgtct tccctttatt gttcaagtca gcagctctat 27720
ctcttttctc ctgaatacgg aaagagactt tccctttatt gttcaagtca gcagctctat 27780
gagaatgtat gttatctttt ttgtgtatgt tacggatata ttttctagt ttcatcatgt 27840
gatattttat ttattgcatt gttttcagga ttccttttgt attctaatta taccaggatc 27900
tatggtttgg tcttctcttt ctttctgttt cttccatgt atttccctct gtttttatgt 27960
tttctacatt ctctttccct tgccttccct ctcatgctgt cccctcactc ctctgtccc 28020
tgtatttccac tctcttttct caaatacttt tttcatttct ttttcatcat ttctgaaca 28080
gtttttgttc tttctttttt cagtctctta tcattttagac atcatttctg tgttttctta 28140
ttctagtttt ttgtattctt ttggagcttc tatttgttta aatttctttt ggtcatgttg 28200
tcataattcga ttatagtctt catctgcttt gagtgtttat tttctgttta tacgtttatg 28260
tattattttta ttttactttt tattattttt tgagacagaa cctcgtcttg tcaccagggc 28320
cggagtacag ttggtgcaatc ttggctcact gcaacctcca ccttctgggt tcaagcaatt 28380
ctctctgctc agcctcctga gtactgaga ttacaggcac gcaccaccac acccggtcta 28440
tttttgtatt tttagtagag atgggggttc accacgttgg ccaggccagt ctcagactcc 28500
tgacctcagg tgattcgctt gccttggcct cccaagggtg tgggattcca ggcgtgagcc 28560
accatgcccc gcctatgtat tatttcattc atcttattct gtaatgtttt tacaagggtc 28620
tcacatgat ccgtttgttt ggttgttctt cttgtgttcc acatgaaatg ggagttttcc 28680
ccacacattg tttagagtag cctctgcata ttgtcagtag gagggtccc tccactgttg 28740
ttatcctgat gggtaaacat ggagcttttc tgtgtaccga ccgtcaggtt ctgagctctg 28800
ctgcctcttg actgctggcc caattatcga atatttctta cccactggcc ccagtgtccc 28860
tgccctactg aattgcccatt ctaaacatgg ggctgtgggt tggaaagggt ttttgttggg 28920
tgtccttttg agtttctaat attccattgc ctctgatctt tctgcagttt cttggggaca 28980
ttggtagtca tttgtttttg ttttgttctt ttgttttaca ttaacctgca acttgcagcc 29040
taccagttta catttctaca aatgttgcca tttattttta gggtcacctt ctgagatate 29100
tgctcagcat tccacacgta tttattagtgt attttgggggt tttggaaatc tactggttta 29160
tggaagagggt gggcatcctc catagcttca atgaacagat ttcaggatga ttccaaatt 29220
gtctgtatct tccacaatgt ggctaggcta gtttttataa gcactagggt tagataangc 29280
ataggttcag aaaactggaa cctgtctcag gaggccatct tgggagaaag ttgggtcttg 29340
gagaatgcta acatctctgt tattcacagt actcccttg acgttggccg gccctagctc 29400
acattctgtg tagttgcccg gccctagctc actagagggc catgaatggc cctgtcactt 29460
gtgtgtagtgt gttattgggg ccatggcaac ctttggccat gcattgaaag atctgaatat 29520
tctgggtgaa gcatttttatg attgaaattg ccatgtgttg acttcttaag ggttccattt 29580
gaatgaaaca aataagtga ctaactaaat gatagtaggc attctgctag ttgtcacagt 29640
ataaagactt agattttcaca tcactaaaat gatagtaggc attctgctag ttgtcacagt 29700
ctaataataa aaagaacaga ggcatactta atataataa tatatactca ttccaagtga 29760
acagagcagt gagagaacac aagttttaat aatgtaaatg ttagaagttg aatcaatagt 29820
taaaagagaa agaaatgact taggacaaaa tctgtttcaa aatgctgtaa attagccatt 29880
tccagtattt tcacatttcc atcaacattt ggggtgatgag ctatttacta caaccaaaa 29940
tttttttttt tatttttcaat ctgtaagagg tgaaatttaa aatgaaatc aaataagggt 30000
  
```

ES 2 271 092 T3

	ttctggtttt	cattcagaaa	taattggatc	aaatacaact	gtaatgcaat	tttagtaata	30060
	ttgcactggt	aacattatct	tgaagtagtc	agctcaactt	catagctcag	taaaactggt	30120
	attctatggt	taaatgctag	ctaacgtttt	agttaaatat	agttaaatat	gaaatctggt	30180
5	tatcctgaac	caagctttaa	atgtatcaac	tcactaaatt	tttaccatca	tggcctctat	30240
	tattgttaga	gggtaataat	tatatcagta	agtactgtca	ttttcatgat	attaaatcta	30300
	agccacaggt	ttattatttt	tatactacag	acttcttcaa	acatgcatgt	cataacagat	30360
	acagctcaaa	gagtatatgt	ggcttgatat	tattttctta	tattcaaaac	ttaaactttt	30420
	aataagactt	tatttttagca	aaatgtcctt	tgctcacatta	aatgtatggt	cctaatttat	30480
	atttttattag	ctttgcattt	ttgtatttgt	aaatttggtt	tgcttttata	cttcatgag	30540
10	aaatttgtag	atattgtagg	tggttaagtt	acatcataat	aaaaacacac	tgctacatcg	30600
	aagttctata	cctttcaggg	gccctctcat	attactcaag	tttgagttac	tatgctttct	30660
	tcaactctac	cataattttt	aaaacttttg	ttaagcactt	gtctgctgaa	aacctcatca	30720
	tttttctaac	tttttctacc	tttaatacatt	tgccaatagc	actgcagtta	tctctcaatt	30780
	cttttagtccc	ttncacccag	aataatttgc	aaatatgtgc	tgcattttct	cactaacatt	30840
15	taagcttgta	ttttttcata	cataaatagg	aacgttatga	atatacatgt	tctatttttaa	30900
	tcttcaggtt	acacttttca	tagtaagttt	tcacattggt	tggaacagag	ttgtgcaaat	30960
	atgaaatggt	taatatctac	tgatttccaa	ctaaaatatt	tctaagggaat	agtcacattt	31020
	agttattgag	tgagcagtag	ctgttagcca	tggtgtctgg	gtggaaaagt	gtgtgtgagt	31080
	tgatgtacac	atatgccagt	gatttgcgaa	atgctaacct	gntanttttt	tttttttttt	31140
	ttttttttga	gacggaggtc	cgctctgtcg	cccaggccgg	actgcccagt	gcagtggcgc	31200
20	aatctcgggt	cactgcaagc	tccgcttccc	gggttcacgc	cattctcctg	cctcagcctc	31260
	ccgactagct	gggactacag	ccgcccgcga	ccgcccgcgg	ctaatttttt	gtatttttag	31320
	tagagacggg	gtttcacctt	gttagccagg	atggtctcga	tctcctgacc	tcatgatcca	31380
	ccgcgcctcg	cctcccaaat	tgctgggatt	acaggcgtga	gccaccgcgc	ctggccaacc	31440
	tggtattttt	taaagagtct	tttccatgca	taaaactatg	ttagtccata	agaaaatatt	31500
25	tatagaagga	aaccaatgta	ttttttgtgc	agctgtcatg	cacagttcct	taaaattata	31560
	cctagccaat	tttggcaatg	ttatgggtga	cctaagagtc	atacctaata	gttaaagttag	31620
	tggttatccaa	tgatacctag	tttataaaat	tatgcacgac	aaaccaaac	cagaaacttt	31680
	attttttcaa	aacaaacgtg	tcaaagctgt	ggcttcctag	cattgcctac	taagtttatt	31740
	gacctagttaa	tttgccaaat	atattaaaa	atgtataaat	ataaatataa	aatatgttag	31800
	atatgaaaat	gtttaagata	tttaagatat	aaatgtaata	taagaatgag	ttatattctt	31860
30	aaacccaagt	acagttttcca	agtttttctt	tagtcatcca	gcaaccattt	attgaacact	31920
	tacaatgagc	tcatctctgt	ccttggagaa	gggaacaga	caaaaccaag	cagagctcct	31980
	gtcctcagag	aaaacctggt	tcactctgtg	ggacagactt	agcacataca	ggcattcttc	32040
	attttcaaca	tccaatatat	ttctgaaaac	atggtggata	gcataatttc	agaaaatagg	32100
	cacttctctt	tcactaattt	atatgggaaa	actaataatg	tattagggga	gtcgcactga	32160
	tttctccaaa	tatcactgca	ttaccatcta	atacctatac	aagtcaacct	gcataatttc	32220
35	gcaaaataaa	agcattttaa	aacatccctt	accctaattt	ttgcactaat	caaaccacag	32280
	tggtatgttt	atatgtgccc	aacaataaca	ggaagtctct	gttattaaat	aaatttaaaa	32340
	aatacattaa	agtaccatcc	accatatttt	attgaattgt	tgatatcatc	aattgtaaaa	32400
	aaaaatggca	tcacttcaca	gattcacggg	tctctaagaa	ataataaagg	cttctaatta	32460
	tactttgact	gtaagatgta	agattttaat	tgaagcatca	attagaagat	gcattgctgaa	32520
40	tccagaattg	tgcaactgtg	ttggagcagg	gtagggtgtg	ttttagaatt	ggtgaaatat	32580
	gataaaatgg	gcctgggttg	gtaaaactcaa	tttttggatc	ttttgaaagg	ctaactttca	32640
	ggggaaaagg	aagacagagg	aagatatcaa	tgactagtag	ttaaataagtt	aagtaggtac	32700
	acaatgtctg	tacaagattg	ggcccaaaag	gtgaacaaca	gagatacacc	tgcatgtcac	32760
	actatacctt	tggcagaatc	cactggcaac	tttaatgtct	ccattggcac	acgtgcaaac	32820
	tcatatggtt	ggttcttcta	ggttcatagt	gattctgggg	caaacatttt	ttgcagatat	32880
45	aaatagcaaa	tattagtata	atgagaatct	acatagagag	ggaccttctt	tttttttatg	32940
	aaagggcctt	aatagtgggt	tgtaaaagct	atgggggagg	caggcataaa	aaagaaaaac	33000
	accaaaactg	tctgcttggg	gatatcagag	aagtcttgaa	gaaagaggaa	cgtgaaacaa	33060
	tgcttgaag	gatgagtaag	tggtgtctgt	ggcaggggtg	atggaagtga	gatagaagta	33120
	agggatctca	cggagaaaaga	aaaggaatat	gaggcacaac	ggagtgggac	agcaagggtac	33180
50	atgccgagct	caaagttagt	agaagtggca	gatgggctgt	gcacaggagg	cagctggaga	33240
	ggagttttgt	aaactagacc	tggtctgcatc	atggagggcc	cagcaggctc	tgcaaggagt	33300
	tctgactttg	ttctgtggtc	agtaaagatg	catggaggat	tttcatctga	gagtgggtaca	33360
	atctgatttg	tggttgaaata	gttcaactctg	gaagtacat	gctggagtga	cagctgggga	33420
	gagaaactga	agcagaaaagt	ccttccagca	agaaatgtct	ttaacaattt	ttgttgaggg	33480
	aatgcatttg	ttttaagtgt	tttccatctt	ttataatatt	cccaaaagctt	gaaggtgctt	33540
55	gcccatcaat	tcccaactcct	caacagcttt	cttctaattg	cctccctaata	tcctcttgct	33600
	ggaagcattt	tcactcacca	aatccctaga	ggtgaaaaga	aactattttg	atgatacatg	33660
	tctgtgttgt	tgacagagcac	ttcatgcatt	gcagactgtg	agttcttttag	accattctca	33720
	gttgtctatt	tcacatctgg	caatagatac	aagtaaaagt	agcatgcatc	ctttaagcac	33780

ES 2 271 092 T3

5 tgttgaagta atatataatg atgctaagac atagtgcacag atggggccctg gaaacttgagg 33840
 acaataaaatc ctgtttctcat gaaactgtac cagtgcacat catttttgtca ctgcaaaata 33900
 tatccctata aatgtgtttc ctttttctgc ttgttaaata cttgcatgat atgttgttac 33960
 tttcttacct tatcgttgat tggcagctct caagtgttta ccgttataaa aattgcacata 34020
 tacagctctt gaagcactcc tctctcagc caccacagtc ctgatttttg cgcatagctc 34080
 aagcactctc tgcctcccat ttcttgttga tggacaacac aaattaaaac attttttcat 34140
 atttaagggtg ttaaaatata ttgagtacca ctgggcatte atatgtgtta gcttctgggt 34200
 gcatatttta gaattggggt gcaaatatta taacttgagc ctcaatacag tagaatttta 34260
 aaggatctgg ccattgcttat aaatggaatc aaagcaactt tgactactat ggctagggtc 34320
 10 tctgacgata atttgataaa tgtgccagat acaaaacata atccaagatt gtattgcaaa 34380
 gtgtcagatt tcaagggtctg cattctactt atttaaaagt attataaact tatttgtcct 34440
 tagcaattat tgataatgat taatatgata gtaattttta ttctaccag ttcaattgta 34500
 tttacaattca tnnatgtgt ataaaatatg taaccctgta nctgtatttg catggcatgt 34560
 ttnagttctg ctttatgcaa actatgctaa tccaggaagt atccataagt catctcataa 34620
 15 tctcatctgt gatctttcat ggttacaaag gagccagaaa ggaataattt ctttttagaa 34680
 gcatataaat aatttcagtg aatagatgga tggatggatg cattcattaa gaaatattaa 34740
 ctgacatctt cgtgtataa actgacatct tgcgtatac actgtattca 34800
 agacatgggt tactgtacct tctcatcatt catttaatat ctgctatatg tccccactg 34860
 tactgggtgc tgcaaacaca accnttaaat tatccgactt aaagtctcag ggtgnttact 34920
 catcttccga atacactcaa acatttacca tgagagatag acttcttttt ttttttctaa 34980
 20 tghtaactcca gagaatacgt tcagagaaga ttttaagtagg aaactcaaac ttcaccatca 35040
 gatccaataa gttggagaga ccaaatataa attcatgaaa taaccaatat ggattacaaa 35100
 ggcataattct gcgagtacaa caagatgcac attattttata tacatgagct gagttgtcag 35160
 ttgttgcatg acgcctgagt taagggtgatc agaggaggct gtagtcagat cactctggaa 35220
 ggaaagggtt gcacagactt ggcagaattt ttcgggaaga tggacagcat gaaaaacat 35280
 25 gaacattaaa agcccaaaga ttttttacaa atggaaaaat gctgagggtt gctggccttt 35340
 gtatcttggg tcataactct ctttataaaa gatgtttatg aatattgaat gactcttggg 35400
 aacatgagcc aaaaagtaat acatgaaact tatgcccaga ggattatttc catacttcac 35460
 tgggaaaata aaaagaggct aattctgatt gaccactgca taccatctag catgtgctga 35520
 gcttgttggg gacacaggaa tgccactata tgtttctgaa aagtccaagg cagaagacat 35580
 30 tccaaacaaa acaattaaat tacttctcat ggaaaagaaa gttttctaca ttacatggta 35640
 gaatttttgc taagccagtt tttataactg aggtcgttcg aaattaagat gtttgtatgc 35700
 ttctaatttc gatccacac tgggtctctt aaaaatgatt aaataaattc attattttat 35760
 atagtttgaa atgtagtgtg ggccagtttt acaacattaa tttctcttagc aaagaaatca 35820
 gaaacaaaaa ttcagtcaca tctgttattg atagcttttc attctgaatt ggtgaggccc 35880
 caatttttaa atttaaatat atttttgcca actggagaag tgattttgtt aaagctaaaa 35940
 35 tctccaaata aaaaaaaaaa ttgaaaagct atttttaaaa atttaacatg taagcatggg 36000
 tccaaaaaca tatcagaata cattgtgaaa agcatgtctc tctccacct ttggctcctg 36060
 gccattcact tgcctgcccc cctccccata acacaaaggg aagtatcact gtttatcttc 36120
 atttgttaac attgtaaatg tacctcattg taatggtgaa ctctcattca atgttccacc 36180
 40 gatgttaatt catttctaaa gcaaatatag agcaattaaa aagagggtta ttgtagtgtc 36240
 gctacatata acattgttaa tgacaaaaat gaaataaaa agtaatactg ttttgaaaaa 36300
 gtacaatata aattcatcct atttgggtgc ccgtgtactc aacgatctat aattactctt 36360
 ttctgtccta atatgtactc attcattgct cccaatttta acatagtctt ctgctgagtc 36420
 cccataaaat tttagttttc gtttttgtaa ttctttgcct ttttaaaaac aagtgaacac 36480
 tctgcctagt tcttaaaata aagatgaagt gatacttttc tttttttttc cctaacacac 36540
 aagtaaaaaa catttgttca ttaataaaaa gtccatttga aaatatacac ttttattttt 36600
 45 cttcattgaca cttgtcaaca tataacataa tgaatatatt atattttatt tcattcagaa 36660
 tgtaaatgtc ttaaagacag aagcgtttgt ttgttccacc ctgctatccc tagttcctga 36720
 acactgccta ggttaaagggt atgcttatga gctgagggaa agaagggaagt aaggagggga 36780
 gagaggggag aagggaatgaa gggcacaaac ttaataaat tcatcttcta ttanccttct 36840
 tgggtattaa tcaaatttag gctcagaaaa agtcaatttt atatgggcta tgttatctgt 36900
 50 atttagatta taattaatat acattttcaa ctgtgcaata tacnaggcaa gtatgtgct 36960
 tatagttaaa gatcctctgt gagatcttta acacaactat taaaaaatgc nactataaaa 37020
 aaagttgaag ttgactataa aaaaatcctta cgttatttgt tatatatgta accttctgta 37080
 tgcgtttatg tgtagcacat aaacaccagt agcatcggtg gcatcctaag atgcagcttt 37140
 tctcttctt ggggtataaat cttcatatga tgataatcac acaatttaac aaggccattg 37200
 tcttctctgt cccccagagc caagcttcag agtttgcctt catatctctt ttgtgagctc 37260
 tcccaaaccc aggagtcacc aagtttgggt gattaccttg cccctgaaaa cattatttgt 37320
 55 ccgttccattt ggggaattaac atttggttct ctaaaactccc catagaatta atcttaccat 37380
 ctttccacc atgtttatag ctttaagtta ttttgcttta tatactagct ggatgtgttc 37440
 acatctgttt ttctacaaga ctgttctttt ggttgttggg ggtggtgatg gtggtgtgtg 37500
 tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgttagctag gcattatata tcctctaattg taaaacaggc 37560

ES 2 271 092 T3

	acttaccag	tggtcattaa	gttgagttta	tacttccattt	ttgggtcaaa	taacttccat	37620
	taagtgtttt	atcatagtgt	tagttttgca	tacaccataa	actattttcca	gaaacctctc	37680
	aaggagatat	ttggatactt	atltgttact	aaaggtagag	gcttatgtca	atatcctgca	37740
5	acatgtttta	tcatttgatt	tgaaatcttg	acatttttatt	tctatttttca	tttccctagc	37800
	aggtttaattc	agaggaggta	atgatatatg	tgactgaatt	cagaattgac	ttacatggat	37860
	gattacagaa	ttcatgattt	aatgggatag	tcctaaaaaa	gcaaaggcct	ttctgttttaa	37920
	agtttctaat	ttttaacctc	atgaagtttt	ctgtttttatt	attccaaagg	catttttttaa	37980
	attcccatgt	tattaaagca	ttctaagtgc	agaatagata	ccctatttaa	aaatgaaagt	38040
10	gggtacatctt	tatctttctt	ttacatatgc	aatcccaatt	aaaattaaag	tcaatatgtg	38100
	ttttccttgc	aaattaagac	aagtttcttc	ttcacttttt	tttgttagtc	ttgaattcta	38160
	tttttattac	actgtggtcc	aagagaatgg	ttgttttgat	ttcagttatt	ttgcattttc	38220
	tgagagatgt	tttatgtctg	atlaagtgtt	gatgttagaa	tatgtgctat	gtgacaatga	38280
	gaaaaaattt	atataatat	atgtgtatat	atacatccac	atatatacac	tggaaaagttc	38340
	tgtagatgtc	tatcaggtgc	atltgatctt	tgggggtttt	tgccttaaat	atctaatact	38400
15	gtcaagggtgt	tgaaaatctc	caatatttat	cagaactgta	agtctctttg	aacatctcta	38460
	agaaacttgct	ttataaaatt	gggtgttctt	gtgtaaaagt	catatatagt	taggatagtt	38520
	gggtcctttt	ttatatttat	aaaaaatttg	cagaatgtgc	agttttgtta	cacaggtata	38580
	cacgtgccat	gggtgtttgc	tgcaccatca	acctgtcatc	tacgttaggt	gtttctccta	38640
	atgttatccc	tctcctagcc	ccccacctct	tgacaggccc	gtgtgtgatg	ttccccctcc	38700
	tgtgtccata	tggtctcatt	gttcgactcc	cacttatgag	tgagaacatg	cagtgtttgg	38760
20	tttctcttgc	ctgtgttagt	ttggctgaga	gtgatgggtt	ccagcttcat	ccatgtccct	38820
	tcaagaaaca	tgaactcatc	cttttttatg	gctgcatagt	attccatagt	atatgtggcc	38880
	acattttctt	taaccagttt	atcatttgatg	ggcatltgga	ttgatltcaa	gtcctttgcta	38940
	ttgtgaatag	tgctgcaata	aacatacgtg	tgcattgtgtc	cttgtactag	aatgatttgt	39000
	aatccttttg	gtatatatcc	agtaatggga	ttgctaggtc	aaatgggtatt	tctgttctta	39060
25	gatccttgag	gaatcgccac	actgtctttc	acaatgggtg	aactaattta	cactcccacc	39120
	aacagtgtaa	aagtgttccct	agttctctac	atcctctcca	gcattctgtt	tttcttgact	39180
	ttttaatgat	caccattaaa	ctggcgtgag	atgggtatctc	attgtgggtt	tgatttgcat	39240
	ttctcttaagt	accagtgtatg	atgagctttt	tttctctctc	actttttaat	cagcttgaag	39300
	tgaatgcctt	gttagttttc	ctactaacgg	tgctaaacct	agcagtttta	aagaccttcc	39360
	tgttgaccac	agtgcactct	tggttcttgt	aggcaggagg	ctggcttagg	acctacatag	39420
30	catattttgga	acaatggcct	ctgggtctctt	aagtgttaga	atttgtgtgg	ctgagaaaaa	39480
	aaaaatagtg	atattttccc	tttgcatgaa	ttaaaatttt	tacctgcaaa	gttgcttctc	39540
	ttttataaat	tatttttctt	ataagtaatg	ctacttaaaa	tgctaaactt	attccttgtg	39600
	aaagtctgtt	ctatttatgat	acaaaaattg	tagatagctt	ttattgaaat	aatatttgac	39660
	atlttctctc	acagattgtt	ctttaaaata	tttgctttgc	ctaataatgc	catgtaaaat	39720
	ttattttttg	gggatatagt	cctatgtgaa	agatcgctgg	tgtgtttttg	atggatttat	39780
35	gggtcttttgc	ctttgggttt	ctttgggtgt	acaggtaatt	aaatatlttt	taaattacaa	39840
	gcagggtattc	tccaaaatgg	gmaatttatt	tgcattaaaa	ngtctaataa	gaaantatta	39900
	canaaatata	tatcaaatgt	ngattgtgta	attgcctaca	acattttnat	tttnnatltt	39960
	tatttttaaca	gatgtgatta	gtctgtttac	tctgacatat	ttgaaatttg	aaaaatttat	40020
	tttaattgat	acgtataact	tgtatgtatt	tatgggggac	tgagtgatat	ttgatgtata	40080
	caagggtgtaa	tgatcaaatc	tgcataatta	gcaattttat	atcacctcaa	acattttatt	40140
40	gttagaaaaag	tcaatagctg	taatatctta	attattgtca	gttatgattg	tgaattattt	40200
	ctcaatcaga	aacgaaaatc	aatactatag	aaaattatta	gctgttaatc	agatataaaa	40260
	tatattccct	gaaatgaagg	aaacaatgtg	gagcaatatt	tctgtatttg	taaataaaaa	40320
	attgaactta	aaaatttaaa	gtctagtctc	cccatatttg	gatagggtatt	agccaacata	40380
	aaatactata	ttgcaaatat	taaatgcctt	attataagtg	atggggaacg	tacattaaaa	40440
45	agacttacag	gacagatttg	attggaaaat	aagtagaatt	aatttctgtg	cattcattca	40500
	gacatgattt	tgccttttaa	ttcaactaaa	gttactatat	tctatttgatt	tgatttgatc	40560
	tgttttgatt	tggttgtggt	aagaatgcct	aacatgaaat	ctactgtttt	aatgaatttt	40620
	aattgtacaa	taaattattg	ttaactgtag	gtacaatgtt	gtacaggctc	ctagagttca	40680
	atcatctatt	ctttatttaa	aaattcagaa	ttcaaaactt	cacagcccat	tctgccactc	40740
	catcatagtg	tttgttgata	agctttcctt	tcatattttt	ataaagttca	cctctcccac	40800
50	aatttaattt	catcactcat	atatlttttt	aattcagctt	gtcagggtga	attgtttctc	40860
	acatttaattg	gttcttttcc	atlttaataac	tattatgtga	ttgacaaaac	tttcaaatca	40920
	ttatttttgc	tgtagtaaaa	tagtgcaatt	cttttttaat	atlttaacce	tttctctatt	40980
	actttatttt	ctagatatct	aaaagcctcc	actaaagaac	gttatttaaca	agaaaagacag	41040
	catacttact	atataattcta	agttggcact	tcttgttaact	aaaaactgtc	ttaacggaacg	41100
	agacaggnaa	atgaataaga	ttaattgttgt	tcttattagt	ttatgtattt	gtttctgtta	41160
55	agatagctat	agcttcaaaa	tatactcaaa	agaaagtgga	ttttgggtgga	aaataatgta	41220
	tggctaaatt	cagagtagag	gtgcacctac	ttatgtctgct	aacatctgta	tgttccatga	41280
	ctataagcaa	tgctaaggga	aaatccaacc	tcattttacc	atcttttaat	ttgtagggtg	41340

ES 2 271 092 T3

ttgaaattgc tgaatatagtt gatcagatgt caccttgggg catgttgcgg attccacggc 41400
 cactgattat gatccgagca ttcccgattt atttccgatt tgaactgcca aggaccagaa 41460
 ttacaatat ttttaagtga gcgctgcttt acaataagtt aagaggaaaa gtttatgaag 41520
 ttttttgtaa gttttatgta ctttacctac ttttgtttct ctaggcgatc gggagaacaa 41580
 atatggagtg tttccatttt tctacttttc ttttacttct tttatggaat tttaggagtt 41640
 cagatgtttg gaacattttac ttatcactgt gttgtaaagt acacaaagcc agggtaagtt 41700
 tatctattaa ctgcattttt atctagttga ttaacaaaga tatctctgta attttcatat 41760
 gaataacctc tatgtcagat tttttaaaca gtgcttatgt cctcttgggt ctgtgtctct 41820
 gcttcctcgg tattgttttt gtccaatttt ttttttattt tatttttgag 41880
 atggagtctc gctctgtcat gaggtgggg tgcagtggcg cgatctcggt tcactgcaac 41940
 ctccgcatcc cgggttcaag cgtttctcct tcctcagcct gccaaagtagc tgggactaca 42000
 ggcgtgcacc accatgccc actaattttt gttttgtcca atttttaaag acaagtattc 42060
 aagacaggac agattggaaa atgtaacctg gtggaaaaagt agattaagca aatgcaagtt 42120
 gtacatttag aaaccttagt gtggcaaaat ggggagtgtg ctaacataat aacataaacc 42180
 tagagcttca ctgtggaagc ttttcatatt agaagtagtt acatgttcgg gaaaaaagc 42240
 tcattttttt tattatttat ttttgtctc attccctaaa atagtctctt aaatgattat 42300
 aacatcattt ctgactaaa cactattatc tgttgcattt gactgttgta ggggtgggtg 42360
 gtaagataga atgtatgtac ttttaattacc tattatgtat tatgcaatag agcacctgcc 42420
 tcttctactt ggctgatcat ttttaattacc caactccagg gatgtgatgg caggagagag 42480
 cagagtggga tgttggcccc tggatggtcc agaagtgtcc cattaggtgt tagctagata 42540
 tagagtgttg ggttccaaagc acaacccaga angtgcaaca gatatgacta tggcagattt 42600
 cagggcagca gggatgggg ataatacaat tgattttata ccttatattc aaatcttcac 42660
 ataggaaatt gtctattttat aaatgaagaa ctcatccata aattaccgat tgaaaaatct 42720
 tgattcaaat cttagaaatt agatttaaag cactttgtta aattcaaaaa gagattacaa 42780
 gcagccattc atcttcaaaa tatttttaat atatcaatat ctacttacia accaattggg 42840
 tatataagga tcattgagtt taaaaacatt gaaaggggta tgttgtgttt tctgcagttg 42900
 gaggatttct ttttcataaa gtctatatac catgataagc ttggctcaat tccaacactt 43020
 ataagtgaat atctctgtga attatttagg ttactcctca atgaagtaga ttaataacag 43080
 gacatacttt cttagggcat caggaagagc aaatgagggg atgaatgtaa agacaagcaa 43140
 agtaaccagc acatagtaaa ggcattcact gtatgccagc tgtcattatt ttgttgtcat 43200
 aaagagatac gtaaacacgc ttacatgctg aggtggtagg cataagtgtat tctccaaaa 43260
 tagagataac atgggttaaaa aaaaggaaag agcaataaag aagaccaaaa tttaaacttg 43320
 taagagtgtg aaaggaaaaac atctatgagt aactcatggc tatgttattt tactgacaaa 43380
 gtaactaaat taattctgag tttattttcc atttataatg gtncaatttaa ttattagtct 43440
 ctacagaaa taattttat aattgaattt ctaattcatg cacaacacgt atatgtatat 43500
 tatgcaactc ctaataatta tataatgttc taaaaactaa aagtgaattt agttgtttgc 43560
 tgttgcacca ccccaagaa tgtcaactcc aaaaaggtag agattttgtt tccacgtgtt 43620
 ttcagaccag gaggcattgt caagtttcta ggaatatatg aatgtattca gtaacttcaa 43680
 aacatcagta taatttctact ggttaaatgt taaacagtaa agcataatct attagtcaag 43740
 gccttaatta attttatttt tatttagaag gcatgcatct catacctact tagaaattta 43800
 ccagaggggg ctgtgcacag tggctcacac ctgtaatctc agcactttag gaggtgagg 43860
 agggtagata acctgaggtc aggagttcca gaccagcctg accaatacgg tgaaccccc 43920
 tctctactaa aaatatgaaa attagccggg catgggtggc caggcacctg taatgccagg 43980
 aggcacctgt gatcgggagg ctgagacaag agaattgctt gaatccagaa ggcggagggt 44040
 gcagtgtgct gagatcgctc cactgcactc cagcctggac cacagagcaa gactccgtct 44100
 caaaaaaaaa aaaaaaaaaa angaaagaaa tttaccttag gtccacagaa gtgtggacag 44160
 ataccatgcc ttcccttgatt atccatagta ttatgttgaa gtaaaagatct cattttttct 44220
 tgttttttaa tataactttt atttttgcat gatgtgagtg aataatctat tcaaaattat 44280
 tttttaaaga aaaatactgt tgctactaac cccactccta atcttcatta ttattgttca 44340
 aaatagcctt ggaataaact tttttgataa ccattttctg gacatattat tattttcccc 44400
 tattattgaa attatgtctc tactttaacc actttattga gattttgggt aatataaaaa 44460
 tctttacata tttattatat atgtcttgag ggaactattt cctttttctg tcagaattaa 44520
 atccagagag taagtatttg catttattat tctacttctc gaaaattatg atccttctca 44580
 aattaacttg tatatttctt atgaggtact tctgaaaaat aatgatctc ctcaaattaa 44640
 tttgtgtatt tcttatggg tacgggtcaa gatgtagtct taacttagtg gttgggaatgg 44700
 acatcggtat cttaggagaa gctctcagta tttccgttaa gtgggagtgt agctgtagag 44760
 ttttcaaaagt gaggaagtta cctttaattc ctatagtgcc aagagttttt gatcattgat 44820
 gtatgctaaa ttttgtccag tgcctttccg ttttgttcag ttaatgtaat gaattacatg 44880
 attgactttt taaatagaaa ccaatccttg atttctggtt tattgtctat ttgggtcatat 44940
 tgtattcttc tttatacatt ggaagatttg atttgctaat gtttttgta caaattattg 45000
 catctttgtt cacaaggagc attattttta ggttttttaa attgaaatat ctttaccggg 45060
 tcttgaaatc cgggtaatgc tgtcctcata aaacaagtgg aacatgttcc caagggttaa 45120

ES 2 271 092 T3

5	tataagattc	atattctttc	tttcttaaat	gtttgataga	attcatgagt	aaaactcagg	45180
	gcctgaaatt	ttctttgtga	gaacgttttt	cattacaaat	taaatgtatt	caacttacag	45240
	agctatggag	ttgttatctt	tcttgttctg	ttaagttggg	aaattttgct	tttcaaagag	45300
	cttacctatt	tttataattt	gtcaatatitg	cataatgttt	atacaaatgc	cctctgatta	45360
	tcttttgaat	gtctgattat	cttttttaaca	tctgtagaat	agtggtaata	agccattttt	45420
10	tccctgacatt	gataatttgt	acctttctct	ccattttttt	atgtcttctc	aattgtatta	45480
	ttcattttcac	acacacacaa	gaatctttgc	cctattttaat	gttctctatt	gttagtctgt	45540
	ttttcatgtt	gattttttat	cttcattatt	tccttatttc	tgcttttttag	ttttgtttt	45600
	ctttttcatc	tttcataaaa	tgaagggtata	tagacatcct	ttaacatttt	tctaatacaa	45660
	taatttaaaa	atataatttt	cctctaagca	ctgtttttagc	ctctaagcac	tggttttagct	45720
	gcatttccaa	aatgttgata	tggtgtattt	ttattattat	tcaattcaca	tatcttctaa	45780
15	tatatgtgat	ttctcctttg	acctgtaggt	tatttagaag	tgcattttta	gaaggatgag	45840
	attttctaaa	aatgttattt	gggtgcataa	ttttattctg	ttgtggctag	acaatagtc	45900
	ctgtgaaatt	tcagcctttt	gaaattcatt	aggaatcatt	ttaaggacca	gtatatggtc	45960
	tgaattgggt	aaaattccat	gagaatttga	aaagaaaaaa	gtgaaatctg	cagtttttga	46020
	gtataaatatc	tataaatgtc	accaaagtca	agttggctga	taatttggtc	tggttatttc	46080
	tatcttctct	gggtttttaa	atcaggggtg	ttctagcaat	tgctgagaga	gtactattca	46140
20	attttctaga	catgacagaa	gttttcaatc	tctcttattt	ttgtcagttt	ttgctttcta	46200
	taattttctga	ctttaaattag	gcgcataacg	tgctattgta	tctttcagat	gggctgacct	46260
	ttttatcgct	atgaattttg	aatttttttc	ctaattagct	tcgggatgct	agggatatag	46320
	atgggtcaag	aacatgacgt	ttcaaatttt	tcagttaatca	taactctaaa	gtaattgtgt	46380
	actctaaaa	aatttatttt	atttaattcat	cttttatctt	attaatcaat	tgattttgtc	46440
25	ccacaattac	ttacgtgtac	tttagacctt	tccctggattg	acagtaaaag	ggagcacatg	46500
	acaaattctt	agtttttagag	catgggctgc	acaatcctga	gccagcctg	gtggtgatga	46560
	aattaaagccc	agtactaaga	gcgtaaaatga	agaagaaact	cagtagtaag	agagtgtgga	46620
	ccaactggct	agatgctcta	atcagcaact	ctcattccac	tgtcaaaacc	ttggagattt	46680
	tgatgtgttt	ttaaaataggt	gaagtgaatc	aagtggtgcc	taccaaattt	attttgtcct	46740
	ctgcatcagt	gcgtggcata	caacattaac	aatgagaagc	aactaactcc	tataagctat	46800
30	tttgggggaa	tagaggatgg	tacaaatatt	acaactttac	agcaaatatt	acaactcctt	46860
	caaaacacag	tttggcagtt	ttaaaaaaa	taaaaataaa	agagttgatc	aagctgggta	46920
	cagtgggcaca	cacctgtaat	ctcagcactt	tgggagactg	aggtgggatg	atcacttgag	46980
	cccaggaggt	tgagactaga	gtgagctatg	attgcgtcac	tgcaactccg	cctgggtgat	47040
	agagtggagac	ccagtctcta	agaagtataa	atgaaagaaa	gaaaaaaagt	tggaacaggc	47100
	cctgcccact	ctcattttatt	ccactccagg	tatttaacca	aaataaataa	aaatgtatgt	47160
35	ccatagaaag	atttacacat	gaatgcccac	agcaacttta	ttcatagtag	tccaaactgg	47220
	tgacaaccca	aatttccatc	aacagataga	taaactaatg	atggtatatc	catataataa	47280
	atactgttta	ataataataa	ataatgaact	attgatgtat	acagcatctt	ggataaatct	47340
	caaaataaatt	atgatgactg	aataaagcca	gatttaaaaa	gaggacatgt	tctattattc	47400
	cattttacata	aaattctaga	aaatgcaaac	ttatctttta	tgatagaaaa	gaatcagca	47460
40	gttgcttagt	gataaagggt	gtgggtggaa	ttaagggatt	acaaaggggc	ctcaagaaac	47520
	ctttgggggt	tattgacatg	ttcattatct	tgactgtgct	tctgtacatg	tgccaaaact	47580
	tatcaaaactg	tacactttcg	tatgtgcagt	ttatgttatg	tcagttacac	ccactgaaac	47640
	tgcttaaaat	gtctcagtg	gaagttagaa	tctaattttt	catatgggta	agcaattgtg	47700
	cctgcactat	ttattgtgtg	ctattaccca	ctgagtttag	tttcacctgt	ctcattcact	47760
	aattccctgt	ctatacgtgg	gtctgttctt	gtggggctct	gttgtgcttc	actgggtctat	47820
45	tggaactacct	ctttgccaat	atcacactct	gaaagtcttt	cagattacaa	tctggcttta	47880
	cacatgggggt	catattttcca	gctttcagct	ttacatgggc	tcaagacctg	gtcttccgcc	47940
	tcacatgggc	attaaaaccc	aggcattagc	tcccatctcat	aacactatgt	caactcatgt	48000
	tccttctgtt	cctactcatt	tactgctttc	cttcttatgt	tttgacattt	tggaatgcag	48060
	gttttgtatt	gtgagcctaa	atgcccaggt	tttaattgcta	tctattttgt	tgtagtgga	48120
50	ggagttgaat	ttggtgtagt	ccatcttgcc	acaaccagga	ctcacatcca	tagctatttt	48180
	tttttctatt	tttgtctaag	gtccttgagg	acacgtatga	gaaaggtaaa	gaggatattg	48240
	tggttatattc	atctttttat	ccttactacc	tagtatctta	acacagataa	aataattagt	48300
	aactattttat	tgaaggcatg	gttgagaaca	tattctattt	agacagataa	tattaacatg	48360
	atgacaaatt	gataaagaag	atgaaataaa	aaagaaacag	agaaaaagta	gttgctaaaa	48420
	gcaggaaaagg	agaaatggct	aaaaaataga	aaaacaaagt	ttagcagaaa	agaagcagtg	48480
	aattagttca	tatacggagt	aagaaaattg	aagcaagtgg	tgagtaaggg	agttgactgt	48540
55	gtgggtgagg	gaagagacaa	atgcattgaa	gaaaatctgt	aggtagtggg	atttattttt	48600
	ttagtgtatg	taggctgtag	aatatgccta	gattgttcta	tgagtgaata	tgaaaatgga	48660
	aaaagataatt	gtgtgggttg	gagacaatca	atatggagat	gaagaacagg	gaaatcttct	48720
	ggataaagaaa	gcagctgtgt	agtactgcag	tggttacaga	ggctggcttc	aaattaccgt	48780
	tttattaaaa	ccaagtcaga	atgtgagagt	tataaaaact	gtaaatgcag	ctagaagatc	48840
60	aggcattatg	ctggcaaacg	aaagctcata	ttggcacata	aatgatcgca	gaaattgaga	48900

ES 2 271 092 T3

5	acagatacac	gaatgtcttc	tgaactcatg	accctagagt	tgcttcagta	agtattccttt	48960
	gctagtgtcca	cgctgtattt	ggtaccaaga	aaagaatgat	actgaaaaaa	tgcatgaaaa	49020
	catgccttgt	gatctaaata	ttagctccag	ctcattactt	tattctaaaa	atgaagttca	49080
	ccatgaaaaa	ttcataaaat	gttgacagaa	tgcttagtta	cctgagacat	agccattatg	49140
	gtgaaatggc	tgcatttttc	tctttcccat	atgtgtaaaa	cctgcctagt	agcatacaca	49200
	cacacacaca	cacacacaca	cacacacatt	tattttgtct	tctttttatg	tgactctttg	49260
10	tttactattt	aagaagaaaa	tgcttaacta	gccacatggt	agtaatgttg	ctcataatca	49320
	caactgttat	agctttgata	attcatttca	agaatctatc	aataatatct	tttttgttgt	49380
	tgtttttttg	agacagactc	tcactctgac	acccaggctg	gagtgcagtg	gcatgatctc	49440
	agcttactga	aacatccatc	tcccagggtc	aagagattct	cctgcttcag	ccccccaagt	49500
	agctgggact	acagggctgt	gccaccacac	ccgggtaatt	tttgtatttt	tagcagagac	49560
	agggcttcat	catgttggtc	aggctgggtc	cgaactcctg	acctcaagag	atctgcctgc	49620
15	ctcagcctcc	aaagtgctgt	ggattaaagg	cctgagccac	catgtccagc	cttattttta	49680
	aaaaaaaatt	tcagttcaat	attactgcat	tttaaagccc	cacacataag	cagaaaaact	49740
	gtcagcacca	ttttaccgtt	actattagcc	cagacataaa	tgtagtttta	ctcttagaga	49800
	ctcaagaaat	atccaaactc	aaaaataaac	agaaaatggt	aattgatttg	aaaattttta	49860
	aactttttctg	tttctttttg	tagcctctaa	actatgactt	tttttgctgc	tataaagaca	49920
20	catgcacacg	tatgtttatt	gcagcactat	tcacaatagc	aaagacttgg	aaccaaccaca	49980
	aatgtccaac	aatgatagac	tggtattaaga	aaatgtggca	catatacacc	atggaatact	50040
	atgcagccat	aaaaaatgat	gagttcatgt	ccttggtagg	gacgtggatg	aaattggaaa	50100
	tcactattct	cagtaaaacta	tcgcaagaac	aaaaaaccaa	acaccgcata	ttctcactca	50160
	taggtgggaa	ttgaacaatg	agaacacatg	gatacaggaa	ggagaacatc	acactctggg	50220
	gactgttgtg	gggtgggggg	aggggggagg	gatagcttta	ggagatatac	ctaagtctaa	50280
25	atgatgagtt	aatgggtaca	gcacaccagc	atggcacatg	tatacatatg	taactaacct	50340
	gcacattgtg	cacatgtacc	ctaaaaactta	aagtataata	ataataaaat	aaaataaaat	50400
	aaaataaaat	aaatttcaaa	aaagtcaaaa	aaagaattcc	ctgtgtaaga	acattcaaaag	50460
	tgaaaggagc	atcatagggg	aaagacaac	cgtgaaagca	gagaaatagg	agacgccaca	50520
	tcaagacacc	accatgttta	caagttggca	ttttattctg	aagaccataa	tgaactgcca	50580
30	aagaagctga	aacctaaaaat	aaaattattg	tttttacata	taaagatgat	ttttcacatc	50640
	tatatttatg	atctcacctt	ttaaatcagt	atctactttt	gaaaatgtac	atgtcaactc	50700
	caacatatac	acagaaaaata	agataaaacta	atttatatag	ttttgtttca	atcctacaca	50760
	attagagttg	atttttactc	catattttaga	tttccagaat	cccagctcat	taatttaata	50820
	tttatataagc	ataaaagctt	taagacctag	aatgcatggg	acgtggaatt	aagcactagg	50880
	gataaaaagag	gaagaaaaaa	ataggctcatg	tcctggagga	gctcacactt	gaggcagcca	50940
35	aagatttaatt	accttagggca	ttgattagta	ataataataa	taattagtta	gaaagtgtta	51000
	tcagatgtca	aaaaagagag	aaaatgtgag	ttttatagtc	tttgtaaaga	atatgacctt	51060
	tgagcaaaact	ctagaatttag	gaatggagtg	tttgaattgg	aaattaaaggc	aggataatac	51120
	ctttcagatg	aaacaatgta	atagagtact	aggatgtata	atagaatgct	ggccccaac	51180
	tgggatggta	gattttaagtt	gtgagtttct	ttctacaact	gcagagtcca	ttgaataaat	51240
40	acaactttat	atattaaaat	taaaaaaata	aaaaaaata	aaaaaagaaa	ttctgtcatt	51300
	tggaataaaca	ggaatgaatc	tagaggacat	tatgctaagt	gaaataagcc	aggcacagaa	51360
	agatcaaatc	tgcatgatct	cacgcatactg	tggaatccta	accagttaat	tcattggaag	51420
	agagaggaca	atggtgggta	tcaggggctg	cggcgagaaag	gagatggagc	tgcaagggaa	51480
	tgaggagctg	ctgatcaaag	ggtacaaagt	ttcagctagg	cagtaagagt	aagttttgag	51540
	atccatgcac	aacagggtga	caatgggtcaa	taataatgcg	ttatatatgt	caacataact	51600
45	aagaaaagtaa	attttcaaatg	tatcatcaca	aaaaagttaa	gtgatatgat	ggatatatta	51660
	atttggccga	tgtaaccatt	atgtcttgta	tacataacac	aaaacatcac	atggtgtctg	51720
	attaaggtaa	tacaattatg	atttgtcaat	taaaatacta	ttatttaaaa	aatgtattat	51780
	acacatctcc	gagtcacata	ttaagctaaag	gtatgatggc	tggtttttca	gcaatcagtg	51840
	ttaccagta	ctgccgtgac	ctcattttctc	ttaatcattt	aagagaaacg	attaagagaa	51900
50	gttggttaaca	attgttccaa	gttctgccta	attgatttgc	atgtattata	gcctaactcat	51960
	gacagagatt	tcagaccaga	aacttgcata	tcttgggttt	catagttgac	ctccagaact	52020
	gattgtgttt	aatatgtgag	gcaaaacaaga	taaagaagca	acacaatata	tacagtttttg	52080
	ctttttaaag	gaacttagtt	cctgtaaggc	ccaatagcag	gaaatcttag	ttatgtcttc	52140
	agtagcagta	ctagttaaagc	tttagattct	tctctgttaa	tgaaatggaga	cctaaggcaa	52200
	ttatgaaaag	agtaatgaga	tttgactaag	caaagcagct	catttcctaa	agaaagttga	52260
55	ggagagcaat	ggctttagtc	agaaacaggt	gttggtgaaat	accaactgtg	atggcagaaa	52320
	tctccccgaa	gctggaacag	gaatgtttta	aaatgagctg	gcaggttaaa	tagaaaagat	52380
	gaagacttgc	ctgcacacct	attatcattc	ctgaaaaaaga	agggaaacat	attcatagct	52440
	cggtatcaaa	taatgaaatc	ttatttccaa	gagtgagata	attagaaaaa	ctttaaggta	52500
	agtaagtgtg	accattaaat	atatgaaagt	ttaatataga	gagagcagga	ttcaaacagg	52560
	aactcaggaa	catattcgcg	atggctggac	cactagcttt	aagcccagag	gttgggtgat	52620
60	cacacatcac	agatgcccag	gacaatcttg	gcttatccct	actgtttcaa	agtaatcact	52680

ES 2 271 092 T3

5	aacagcctgt	tattcgattt	taaggaatct	caatgtagac	aatgcatttt	atggtcacct	52740
	tgcccagggg	aagtttatag	aacttgggtat	tttataaaat	atcaccaaga	gttgaattag	52800
	agataatata	aagttggatt	tttttgcagt	ttgctcttgc	tggtccaaat	acattttaca	52860
	tttattaaaa	taaatacatt	aaaattttatc	aactaaatta	aaattttattt	gtcacgtatt	52920
	cttttagggta	cttggcaaat	aagtgaagta	ttgtcttata	aattttgttg	acaaaaataa	52980
10	gagggtttttt	catggaatgc	tatgcagcca	tgagaaagaa	tgagactatg	tcctttgttag	53040
	caacatgaat	gaagctggag	gccgttatcc	taagcaaact	aacacaggaa	gagaaaaacca	53100
	aataccgctt	gttctcactt	atgaatgaga	gctaaacact	gagtacatac	agacacaaag	53160
	aaggcaacaa	cagacactgg	agcctacctg	aggggtggagg	atgagaggaa	gggtgaggact	53220
	gaaaaactac	ctatcggttg	ctatgcttat	tagctgagtg	gcgaaacaat	ctgtacgcga	53280
	cgctcgcatg	acacgcagtt	tacctatata	acaaacctgc	acatgtatcc	ctgaattctaa	53340
15	aataaaaagt	aaaagaaaaa	gaaatacaaa	tggaacata	ctggaattta	gagcattaat	53400
	ttttaatttc	taaggacttt	atcaagagac	agttttgttag	aatatgttaa	atcataattg	53460
	ccccaaattc	atgcaacggt	ctatgacgtc	ttcttgattc	ctatgtatbt	atttatttac	53520
	atatgtctat	tgacacaata	gatgtnaagt	atttttggag	tacatatgat	atttcgatac	53580
	attgatgtaa	ggcataataa	tcaaatcagg	gcaattggca	tatccatcac	ctgnaaacat	53640
20	ttttcttaat	actgggaaca	tttgaattat	tctctactag	ctattttgaa	atatgtaata	53700
	aattactggt	tactatagtc	accctactga	tttatcaaac	gcttaggtct	tattttattt	53760
	atctgactgt	atttttgtac	ccattcacca	acctttcttc	atccaaacct	ggcctttacc	53820
	cttccctctc	tctggtaaca	accaatctac	tttctatctt	cataagatcc	acttacttaa	53880
	ggcctaataa	tgagtggagt	catgtgatat	ttgtctttct	gtgcttggct	tatttctttt	53940
	aacataatga	cctccagttc	tgtccatgca	gctgcaaacg	tcaggatttc	actcattttt	54000
25	atggctgaat	agtatttaaca	ctgtgtgtgt	gtatatatac	atatcacatt	ttctttatcc	54060
	atttatccat	tggtgggcag	ttaggttgat	tccgtatttg	gctatttggg	atagtgtctg	54120
	agtcaacatg	tgagtgtctg	tatctcttaa	atatatagat	ttcctccctt	ttggatatat	54180
	acccaatagt	gaaattgctg	gatcatagag	ttgttccatg	tttagttttt	ttcagtcctg	54240
	actgtttttt	acagtggtcg	tcagaatttg	cattaccacc	aacagtgtat	gagtggtctt	54300
	gtttctctac	attctcacca	gcactcactg	tcttttttat	aaaagccatt	tttaacttgg	54360
30	gtgacatgat	atttcaactgt	agcttttatt	tgcatctccc	tgatgattag	tgatgttaac	54420
	cattttctata	tacctacttg	ccattttgtat	gtcttctttt	gagaaatgtc	tattcagatt	54480
	ttttgcccac	ttcttaatac	gattattaga	tttttcccat	tgagttattt	gagttcttta	54540
	tatatctctg	ttattaatcc	tttgtcagtt	gaatcatttg	cagacatttt	cccttattct	54600
	gtgggctgtc	acttcaattt	gttgatttgt	tcctttgtct	tgccgaagtt	ttgagcttaa	54660
35	tgcaattcca	tttatctatt	tttgccttag	ttgcctgtgc	ttttcagatt	ttgccccccc	54720
	aaaaatttgc	ccagtcaggt	gtcctggagc	atttacccaa	tggtttcttc	taggagtttc	54780
	atagattccg	ttcttagatt	taagtcctta	atcctttatt	atttgatttt	tatatgatga	54840
	gaggtaggag	cataatttta	ttcttctgca	catggatata	catttttccc	agcaccattt	54900
	gttgaagaga	ctgtcccttc	cttaagtgtc	ttgatccctt	tgcaagaat	gaattggctg	54960
	taaaagcatg	tattttatttc	tggtttttct	attccattcc	attgggatat	tttctgtttt	55020
40	tttacagta	ccatgctggt	ttgggtgcta	tagctttgta	gcatattttg	aagtacgtta	55080
	gtgtgatgcc	tccagctttg	ttctttttgc	acgagattgc	tttggctatt	cagaactctt	55140
	tggtgtttta	tataaatttt	aggtatgttt	tttatattcc	tgtgaagaat	gtcattggta	55200
	ttttgataga	gattgcattg	aaactgtaga	ttgcttcggg	tagtgttgac	attttaacaa	55260
	tattgattct	tccaattcat	gagcatcgaa	tatctttcca	ttttttgtgt	ccacttcaat	55320
	ttctttcatc	agagtgttat	agttttcatt	gtagagatct	ttcacttctt	tagtcacaa	55380
45	tattccttag	cattttttaat	tttttaataa	atattgtaaa	tgccattgct	ttcttgattt	55440
	atttttcaga	ttgttctactg	ttgggtgtata	taaatgctat	taatttttgt	atgttgggtt	55500
	tgtatcctgc	aatttactga	gtttgtcttat	catttctaac	agtttttggt	ggagtcctta	55560
	ggatttttcta	agtgtgaagat	catgtcgtct	gcaaatgagg	ataattttat	ttcttccctc	55620
50	ccaatttggg	tgtcgttttat	ttctttctct	tatctgattg	ctctggctag	aacttccagt	55680
	agtatgttga	ataaatctga	tgaaaatggg	tgtcctgata	ttgttccaga	tcttagcaga	55740
	aaggctttca	atttttccgc	ctttgggtatg	atgtttagcc	atgggtttgt	caaataatgg	55800
	ctttatttgt	ttgaggtata	ccccctttat	actcaatttt	ttagtgtttt	gataataaag	55860
	acatgttgaa	ttttacccaaa	tgctttttct	gcacttatgt	aaataataac	atgggtttttg	55920
	ttcttggttt	atttatgtaa	tgtatcatgt	ttattgattt	ccatatgtta	agccatccct	55980
	tcatttctcg	gaggttcaaat	aatatgtcca	gatggtaagt	aagaaagcca	ggatttttaac	56040
55	tcaagtctaa	cttccaagcc	tatgtacgtt	ttaccatttg	agaaacttct	gtatttttaac	56100
	tctacattca	taaacctata	gacatataga	gatccacatn	ccatatgtat	aaactgtttt	56160
	ataatatatg	tagtataaatt	tnctnacatt	aaagtttttt	attaangtct	ggtttctant	56220
	ccctatgtat	atgnttatgt	ttcatgggat	tcgacttnca	tctaaatnct	ataaactagn	56280
	tgatatattt	atatattttt	agttactatct	atatatctct	tttnaaaatt	gttctgcaca	56340
	ttgatctcca	agatgtgaac	ccctgagggt	gccagaaacc	agcctttcat	atgataataa	56400
60	tattaataaa	gtaaatataa	gaatatattt	cagaataaat	tgaactttca	gatgaaaatt	56460

ES 2 271 092 T3

5	aataccagca	tgatTTTTac	cagaatagca	aaaaatgTTTg	tgagagtctt	cagtatacca	56520
	aaagaaaacc	atgcagTTTg	aatgggggTc	taaaaggaaa	ngtaacttat	tttTgatccat	56580
	ctttttgatca	catgTtttact	tcccaaaaag	aagataaatgt	aatatttatag	gttataagat	56640
	tcttattttt	agtggtaaat	aactttttatt	gaacaattgc	tgtatgttat	tttctcactt	56700
	aatacttata	acaaccgat	aagtTtatgtt	ccattttttac	actgtatat	acagccaagg	56760
	aaattgaagc	tgagtaaagt	taaacaagt	ggctgagatg	aaacagcttg	tatcagaagc	56820
10	aagactagac	ccattttctcc	ctcacactgc	ttctctatgct	ttcagTtgta	actTgttcag	56880
	tgtatgagat	aaccttccct	caacatgtgt	gtccaaaatg	tttgaataaa	atatTtagt	56940
	ttccttttagt	tacaaggagc	ctatttcttaa	aagacaagt	ctcagTggga	cgcagtga	57000
	agtggTtaat	tacgatTgct	tatttttaaga	ctgaattcta	aaggcatgca	ctggaacttc	57060
	tgaacatcct	ctgtgagTgt	ggaatgagga	gctctaccta	ttctgtccct	cacaaatagt	57120
	gtttactgta	gccgcctcca	cagaatcgat	atTtactatc	acttttTgtat	ctcaggttcc	57180
15	acccaaccag	cttggTtttcc	cccataat	aagTatgcat	aactacagc	gtatcagc	57240
	gcaccaagag	taaattttng	aaaattaatt	tttaggatga	aatctctttg	gtaagaaaa	57300
	tcacctggca	aaagtTgtaa	aaaatactga	ttccaagcca	cattTgtgat	tcgtattttt	57360
	aggcaaggct	gagattctca	gaattggcca	ggTtagaat	caatcgTtta	aaatttttagt	57420
	tttgcaatta	aactccaaaa	gatatgttat	agagtagaac	acaaaattac	atggcttttt	57480
20	aaaaaaaatag	acctTgagtc	ttcaaaagaaa	tgttagTctt	ctagctagct	gcttactgcc	57540
	ctgccccagg	gtagcatgcc	Tgtctctctc	ctttaaagact	atttccccag	aaatgtccaa	57600
	ggagcaccag	aggtaattag	agcctcctgt	ctttcctgca	aagaggcagg	tatgtctttg	57660
	ttttctggga	cggacaacca	tctcaatttt	atTtatttag	Tgactcttac	atgttcttat	57720
	ttctagagat	tgaattgggc	Tggtgtactt	TgtggTtgag	TgtggTtgga	gtcgtcagg	57780
	gcattggcac	ttttaaaatc	cctcactgac	tttacttttc	gtgttcacat	cattggggag	57840
25	tttgtaaatc	cattctttca	ttgctataaa	gaataacctg	aaactggcag	ggcacggTgg	57900
	ctcatgcctg	taatccagc	actttgagag	gtcaagacgg	gcagatgact	Tgagactagg	57960
	agTtccaagac	caacctgggc	aatatggTgg	aaacctatct	ctactgaaaa	tacaagaaa	58020
	agctgggaat	ggTactgtgc	acctgtgatc	ccagctactt	gggaggctga	ggcacaagaa	58080
	tcgtTggagc	cgggaggtga	gggaggtTgc	agtgagccga	gatcatgcca	ctgcatctta	58140
30	gcctgggtca	cagagtga	ctccatcgaa	ggaaggaa	aaaggaggag	agagagagag	58200
	agagagagag	agagagagag	aggaagagag	agaaagagaa	agaaagagaa	agaaagagaa	58260
	gaaaaaaaga	gagaaagaaa	gaaaaaaaga	aggaaangaa	aaagagaaag	agaaagaaaa	58320
	gaaagaaaga	gaaagaaaga	aagaaaaaga	aagagaaaaa	gaaaaactga	gactgggtat	58380
	cttattttctt	ttattacatt	tttgggtcct	atatTtTgat	catacagaat	gagTtctgta	58440
	tattttttagg	cagTtaaaaga	aatatTgact	taaaaggTtac	ctctcaaatc	ttaatgtgta	58500
35	caataaactg	gagatcgtgt	taatgtagat	tatttttttca	gaagatctgg	aagaaagcct	58560
	cagTttctga	atTtttaaca	agctcaccag	taatgtcaat	gtttttggcc	aaagaagaat	58620
	atTttgtcaa	aaattcagta	agtggaaag	cctgtgtttc	tttttctagt	ttttctggct	58680
	Tgtaaaacaaa	gttgagagTt	ttcatTTacc	aaagacagat	atatgcaaa	aaaacctaa	58740
	aaagaagggc	agctgccaga	ttaaatgtga	TggTttatgc	acatcagctg	cataaagata	58800
40	cctaataatt	aagagaaaaa	taattaactc	TgtagTgcga	cagTctgtca	gagagctctt	58860
	taaccaagtg	aatcataaac	attaactgca	ctaggacaaa	tttttatgan	Tgtgtgatg	58920
	cacacagaag	gacgcagcat	cactgtctgt	atatTgcccc	ctcaaaagta	cattatagc	58980
	taaatTTtaac	cataaagaga	catcagTttt	atgcgaagct	caagatacac	gtatcttttca	59040
	TgtTctgttaa	tttTgtaagt	TgattTTtaag	Tagtcttttag	caccttaggg	agcaagcatc	59100
	tcctaataat	ttttttcaga	actttctggg	taataaatgc	catcctgtta	ataaagtatt	59160
45	ttctactttt	tttccctgctt	Tgtatccatt	tattcacttg	tttgcttttt	aaaaaatTTt	59220
	TactTTaagt	Tgtgggatac	atgggcagaa	TgtgcaggTt	Tgctacctag	gtatacatgt	59280
	gccatggTgg	tttTgctgcac	ctgtcaaccc	atcatctatg	nttttcagcc	ccgcatgcat	59340
	TagctattTt	tcctaattgt	ctccctcccc	ctgcccccca	ccccgcgaca	gacccagta	59400
	TgtgtTgtat	gttctcattg	ttcaactccc	acttatgagt	gagaacatgc	gctgtttggT	59460
	tttctgatac	TgtgtTtagct	ttgctgaagg	Tgatggcttc	cagcttcac	catgtccctg	59520
50	caaaggatat	gatctcatTT	cttttttatgg	ctgcatagta	ttccatggTg	tatatgtccc	59580
	acattttctt	agTccagTct	atcctTgatg	ggTattTggg	TggTtccgTg	tctttgtctat	59640
	Tgtaaatagt	gtTgcaagaa	acatacgtgt	acatgtatct	ttatagtaga	atgatgtcta	59700
	ttcttttggg	Tgtataccca	gtaatgggat	TgtgtgtTca	aaTtttattt	ctggTtctag	59760
	atcctTgatg	aatcatcaca	Tgtcttccca	cagTggTtga	actaatTTac	attcctacca	59820
55	acagTgtaaa	agcgttccca	tttctccaca	tcctcgccag	catttattgt	ttctTgactt	59880
	tttaataatc	ccgTtctgta	ctggTgtgag	atggTactgc	attgtggTtt	TggTttgcat	59940
	ttccctagat	atcagTggTg	ttcagctttt	ttcagTgttc	ttTggctgca	taaatatctt	60000
	cttttgagaa	gagTctgttc	atatcctttg	ttcacttttt	gatggggTtg	tttctttttt	60060
	tcttgcaaat	Tgttttacat	ttcttatagg	Tgtgggat	Tagacctttg	tcagatgggt	60120
	agattgcaaa	aatTTtctcc	Tattctattc	TgtaggTtgc	ctgttcactc	Tgatgatagt	60180
60	Ttcttttgct	gtgcataagc	TcttttagTac	TtctagTtta	attagatccc	attTgtctgt	60240

ES 2 271 092 T3

5	tttggctttt	cttgccattg	cttttagcat	tttcatcatg	aatcactgt	ccatgtctat	60300
	gtcctgaata	gtattgccta	agttttcttc	taggggtttt	atgggtatgg	gtttaacatt	60360
	taagtcttta	atccatctcg	atttaatttt	tgtctaagg	ataaggggtc	cagttttagt	60420
	tttctgcaca	tggctagcaa	gttttctcag	caccatttat	taaataggga	atcctttccc	60480
	cactgcttgt	ttttgtcagg	tttgtcaaag	atcagatgg	tgtagatgcg	tgatgtgatt	60540
10	tctgaggtct	ctgttctgtt	ccatttggct	atatggctgt	tttggtagca	gtgccatgct	60600
	gttttgggtt	ctctagcctt	gtagtatagt	ttgaagtcag	gtagcatgat	gcctccagct	60660
	ttgttctttt	tcctaaggat	tgtcttgggt	atacaggctc	tttttgggtt	ccatatgaaa	60720
	tttnagggtt	gtttttttct	aantttctgt	aagaatgtca	atggtagttt	gatgggaata	60780
	gcattgaatc	tataatttat	tttgggcagt	atggccattt	tcattgatatt	gattcttcct	60840
	atccatgagg	atggaatgtt	tttccatttg	tttgtgtcgt	ctcttatttc	cttgagcagt	60900
15	gatttgtagt	tttccttgaa	gaggtccttc	acgtcctttg	taagtgtgat	tcctaagtat	60960
	tttattctct	ttgttagcaat	tgtgaatggg	agttcattca	tgatttggct	ctctgcttgt	61020
	gtatttttgg	tgtataggaa	tacttgtgat	ttttgcacat	ccattttgta	tcctgagatt	61080
	tgttgaagtt	gcttatcagg	ttaaggagtt	ttcgggctga	gatgatgggg	ttttctaaat	61140
	atagaatcac	gacatctgga	aacagaaaaa	ttcacttcct	ctcttcctat	ttaaataccc	61200
20	tttatttctt	tctcttgact	tttctgtctg	gccagaacat	ccaatactat	gttgaatagg	61260
	agtggtgaga	gagggcatcc	ttgtcttgtg	ccagttttca	aaaagaatgc	ttccagcttt	61320
	ttcccatcca	gtatgatact	ggctgtgggt	ttgtcacaaa	tagcacttat	tatttttgaga	61380
	tatgttccat	caatacctag	tttattgaaa	gcttttaaca	tgaagagttg	ttgaatttta	61440
	tcaggagcct	ttctctgcat	tattgagaat	catgtggctt	ttgtctctgg	ttctgtttat	61500
25	gtgatgaatt	acgtttattg	atttgtgtat	gctgaaccag	ccttacactt	cagggatgaa	61560
	gccgacttga	ttgtgggtgg	taagcctttt	gatgtgctgt	tggattcggg	ttgccagtat	61620
	tttatttgagg	atttttgcac	tgatgttcat	cagggatatt	ggcctgaagt	tttatttttg	61680
	ttgttgttgt	gtctctgcca	gggtttctgt	tcgggatgat	gctgacctca	taaaatgagt	61740
	taggaaggag	tcctctcctt	tcaattcttt	tggaaatagt	tcagaaggaa	tgataccagc	61800
	tcctctctgt	acctctggta	gaatttggct	gtgaatctgt	ctggctcctg	gctttttttg	61860
30	gttggtaggc	tattaattac	tacctcaatt	tcagaacctg	ttatttgggt	atttagggag	61920
	ccaactctct	gggaggggtc	gtgtgtccaa	gaatttatcc	atttcttcta	gattttctag	61980
	tttatttagg	tagacatgtt	tatagtattc	tgatgggtatt	ttgtatttct	gtggggtcag	62040
	tgggtgatcc	ccggttatca	ttttttattg	tgtctatttg	attcttctct	cttttctctt	62100
	ttatcagttt	agctagcagt	ctgtctatct	attttgttaa	ttttttcaaa	aactagctcc	62160
35	tgaattcatt	aatttttttg	gtgtcactgt	gtgtcactgt	ctccttcaat	ctgtctctga	62220
	tccttagttat	ttcttgtctt	ctgttagctt	ttagattttt	ttgtctctgc	ttctctagtt	62280
	cttttctatt	tgatgttagg	gtatccattt	gagatatttc	tagctttctg	atgtgggcat	62340
	ttagtactat	aaatttcctt	cctaacactg	ctttagtctc	cagatattct	ggtacgttgt	62400
	ctctttgttc	ctatttgggt	cctaagaactt	cttgattttg	gccttaactt	cattttctac	62460
	tcaggagtca	ttcagcagca	gggtgttcaa	tttccttcta	atttgttgtt	tttgagttag	62520
40	tttcttaatc	ctgagttcta	atttgattgc	actgtgggtc	gagagactgt	ttgttatgag	62580
	ttcagttcct	ttgcatttgc	tgagcaggtg	tttacttcca	attatgtggg	tgatttttag	62640
	ataagtccat	tgtcgactg	agaagaatgt	atatctgtgt	gatttggggg	tgagagttct	62700
	atagatgtcc	attaggtcca	cttgatccag	agctgagttc	aagtcctgaa	tatccttgtt	62760
	aattttctgt	ctcgttaatc	tgtctaatat	tgacagtggt	gtgttaaat	ctccactat	62820
	tatttttggg	gagtctaagt	ctctttgttg	atctctaaga	acttgtttta	tgaatctggg	62880
45	tgtctctgta	ttgggtgcat	atatatttag	gatagtttag	tcctcttgtt	gaattgatcc	62940
	ctttaccttt	aagttaatgcc	attctttgtc	tttttttata	tttgttttgt	taaagtccgt	63000
	tttctcagag	gctaggattg	caacccctga	tttttttttt	ttctttccat	ttgtttggtt	63060
	ggtcttcttc	catcccttta	ttttgagcct	atgtgtgtct	ttgcacatga	gatttggctc	63120
	ctgaatacag	cataccaatg	gatcttaact	ctttatccaa	gttggagact	gggtatttta	63180
50	taaagaagaa	aggttttaatt	ggctcatggt	ttctccaggct	gtacaggaag	catggcacca	63240
	ggcacctgct	cagcttctga	tgaggcctca	ggaagcttac	aatcatggca	gaaggcagac	63300
	ggggagcagg	cacatcacgt	gacaagaatg	aacacgagag	agagatagtg	gaggggaggt	63360
	gccctacact	tgtaaatgac	cagatccctc	gtgaactcag	agcaggagct	cattgatcac	63420
	ctaggagtgt	gtccaagcca	ttcatgaggg	ttctgcccct	gtgatccaat	cacctccac	63480
	caggccccac	ctccagcgt	gaggagtata	cttcgatgag	atttgcgcaa	ggacaaatat	63540
55	ccaaactata	tcagggagtc	tttagtatgt	ctggccacct	tgaaggagtg	aaagcttatt	63600
	ggagtggaaa	aaaaattgcc	tctctccagc	catacaactc	agtcacaacca	cattcaatta	63660
	acataaatat	attttgacct	ccaagtatgt	aagaggtgat	ttatatctac	aatttcta	63720
	ttataataca	gtttcataaa	tttgatcttc	acaagaaaga	tgagcaaat	gtcctctgcc	63780
	aaagttaatt	ggctgaattt	ccaactgaag	ttctgttatg	cttggcccca	aattctgggt	63840
	gcccccttcc	attatgtcaa	ctggctctct	ttacatatag	attctcaccc	tgtagtttcc	63900
60	agtttcttaag	gcataaggag	agaggttctg	gcgtgaggt	ctcttggccc	agattttaaa	63960
	agtcaagac	agtggactgc	cttataacct	caaacgggtt	cacatttcag	tttggagctg	64020

ES 2 271 092 T3

	atcagtgcac	cctctgtgtc	ctgatgctta	acttttcttt	tcttttcttt	ttgaggtgga	64080
5	atctcactct	gttgcccagg	ctgtagttca	gtggcatgat	gttggctcag	tgcaacctct	64140
	acccgctggg	ttcaagtgat	tctcctgcct	cagcctccca	agtagctggg	attacaggca	64200
	tacgctacca	aacctggcta	atttttgtat	ttttagtaga	gatgggtttt	actgtgttgg	64260
	ccaggctggt	ctcgaattcc	tgaccttagg	tgatccgccc	gcctcggcct	cccaaagtgc	64320
	tgggattgca	ggcgtgagcc	actgcaccgg	accaactttt	ctgatattat	tttgaatatg	64380
10	ttcatgacct	ctcattgcct	tatectaacc	caactgcagt	cttctggcct	ctgtcagggtg	64440
	cactgtccct	tatccatact	ggcaaagtag	ttgagggagt	caacttgggg	aacatataatt	64500
	atttttaaaa	gctattcaga	tataacaaga	taactattta	aaatattcct	ttaaaataaa	64560
	atcatgtact	gcattgtcac	ttaaatttca	tagtcacaa	atttgaaaa	atacttaatt	64620
	ttaccatttt	tatgcatgat	ggctacaatt	ctttacaact	ttgcctacca	accctttcag	64680
	gaatgggtga	aaggagtggt	aaaatcata	taaaatactc	agtttttaca	cttatttctc	64740
15	agaaaaaatg	tgccagggtta	acttggttat	taaaagaggt	gtgatgtcaa	tattatttcc	64800
	tgtcttcagat	tatttatctt	gttttgaggt	tccactaaaa	gtccaggcgg	agccattgaa	64860
	agtttttcaa	aatcaataaa	taatttatct	ctgcaataaa	gactcttgct	ttccagggtg	64920
	ggattagtat	tccaaagcat	ccagcattag	aattagctag	accaattcat	aggagtttat	64980
	aattaatcct	gaccagagga	agctaaataa	gagtgaaaat	gaagtccagt	gattgtctga	65040
20	agtgaagctg	gaaggcggtg	acagccagac	taagtgttct	gtaagtacat	gcaatgacca	65100
	ggaaaaacctc	tcaatctagg	ggtcagcttt	tagcaagata	atgtgtcttg	ctaaattttt	65160
	atatctgcca	caaaaggcaa	gacaagcacc	acgtaaggta	tcaaaggcta	tatttcattat	65220
	tctcttgagt	gcaaaagagt	ctgtgtctgt	gtctatgtat	gattgtgtgt	gggtgtaatt	65280
	tctctcagtg	cttttatagg	aattgtgttc	ctctattttt	gatgtatttc	tagaacatcac	65340
25	tataataata	aaaatgaagc	cttacagatg	caatcaaaaa	caaatgtctc	aagttgtata	65400
	gtgttatctg	ttgcatgtgg	atttggttgg	ctacttattt	atttacatca	ctgacaattt	65460
	cttatgggat	gccgacttca	gaaatgtatt	gtagcttgga	ctctgcaaat	gtctttttaca	65520
	acaaatgggt	caaatttoga	taccaagaag	tcactccttag	cctgtttgtc	tttagctttt	65580
	taacaaaaaaa	aggtaataac	aatgtaaaca	aaattgctat	gtataaatte	ctatcatagg	65640
	tatatgtttt	gaaaatctag	caagtaaat	tagtaataat	ttattttgtg	agtatctttt	65700
	gacctttttt	gtccctttctc	acctactagg	aacagtttat	aatcagctca	tgctgcacac	65760
30	gtcacagtat	ccattttagg	tagcacgaat	cctgtctctt	taccctaato	tataaatctc	65820
	taacagtgtg	gttttaaaat	tgcttttgta	tgataacaac	tgcttggtta	caatccttgt	65880
	atctcactaa	acagctacac	tcaccagaga	aaagggtgaa	aggctctctc	ctttctctct	65940
	ctctttcttt	ctgtcactct	ctctctctca	tatgcaaatg	caggctctga	cattttctct	66000
	ttccagaatg	ttaggtgtgt	tattccatcc	ctagaactag	tacgtgtgca	tccttttaata	66060
35	atagtcactc	caagcaacac	cctattgcaa	ggttttccca	gtaccaccca	tctgccaccc	66120
	gtagtcatag	ttgatgtttc	cgctttgaac	ttcagttaac	atcaggagca	tatagatagc	66180
	tctttaaagg	ttcatcacac	tctcctgtgg	tcattccttt	tttattctct	ctcactactaa	66240
	gcagtaaaag	ccctgagtc	attttattcc	ttttattcat	ctccattcct	agcatgctgt	66300
	gtggcataga	gtaggcttgt	caaaaataat	tattatgaat	taataaacag	acattcaaat	66360
	acaatttaagt	gcccccttac	gaatacagga	aaatttttct	gaaaagaggg	taagtcatca	66420
40	taagcatagt	catattcatt	aatgacagtg	attacagaag	gccaacacta	agtgcagtcg	66480
	cagaagccat	gatggtagtt	catatctgtg	agagaaagac	gatatttgta	ataacgaaga	66540
	gaggaatctt	aacatgaagt	cttaagctat	tgctttgtgc	gttggtgagt	cttgtgtgta	66600
	gaggagaact	atgcacagtg	aagcatatgt	tgaattatgg	ggcacatgct	tttgcttaag	66660
	tatatccctt	ttctttttata	tgaaagcgtt	atgaggtcct	tctgggaatt	gttttttaaa	66720
	cagctggaaa	gtttctcatt	tttcagatga	ggaaactgaa	gctcaaatgt	ttcaagtga	66780
45	tctcccaagg	taatttaagt	ggtttaatcac	cgaaactgaga	tgatcatctt	tgtgttgtga	66840
	tatacagctc	agtgtctctg	accgttagga	gtgggtgaata	acttaaaacc	acaggactct	66900
	gaggctcctga	ggtattgttt	gtggccatta	tcaacaattt	tagtaacaag	ttcagaacac	66960
	attttcttag	atctcaaact	cctacaaaat	gttatttgta	aatagaatgt	tttggttaaga	67020
	atttaaaaaca	aacaagcaaa	catatgctag	gaggataaatt	gaaggctttt	aaaaaaacaa	67080
	ttagctgtctc	ccagggattc	tagtactcat	tttgatcat	ggaagctact	aaagccagaa	67140
50	attttaaaaca	ttgaaaatca	gtgccaat	gtggattatt	acacttaaaa	gtgcataaaa	67200
	caaacaggatc	cacttattaa	agagtttctg	taggtttaca	ataaataaatt	caccatagat	67260
	ttaaataatg	btagaaagac	acattcattc	attcattcat	ttattcagaa	aataattatt	67320
	aaacatctac	tatatattag	gtttctccag	agagaatata	gaatagaata	tattatataat	67380
	atgtatgtgt	atatacatat	atgtatgttg	gcttagctca	aaagatatgt	ctatagatag	67440
	agatacagat	ataaagagat	ttactttaag	gaattggctc	atgtaatttt	gtaggctgtt	67500
55	aagaccaaaa	tcttcagggg	agcctggaaa	tttcagcaga	agctgatgtg	gcaggccaaa	67560
	ggctctgcc	aagatgtggg	aggccagtg	cctctccctg	cagagaagtc	aaaatctttt	67620
	ctattaataa	gatgagtc	actcacatta	tggagggtta	catgctttac	tcaaagctca	67680
	tcaatttaag	tggttaatcac	aactgtaaaa	taccttcaca	gcaacatcta	gactggtgtt	67740
	caaccaaaca	gccaggcacc	atacttttagt	caagttgata	cataaattta	actatcatag	67800

ES 2 271 092 T3

	acgctgtgtc	agggacttca	tgggaattgga	aattacacta	aggaacagtt	gagtttggaa	67860
	gacatccaat	gaacagatga	ccacacaaac	atgaattgcc	tttgtctcaa	gtgccagaaa	67920
5	caaaaagtga	gggtaccttg	agaagttata	gcagggaaac	ctggcccagt	ggaaggcact	67980
	tggagtggtc	cccccgagaa	aatgatagtt	aagctggggc	ctgaaggcta	caaaaatggg	68040
	gttaaccaaa	gaaaacagga	gagacttcca	agtggaggag	aagaccctgc	attaggcagg	68100
	agctgggaga	agggcaacgt	ggtcagacac	tgggatactt	gggggaaagg	gggtacaaa	68160
	gggtgtttga	agtgtgggag	gagccagatc	cttcagatc	ttgcagacca	tgttacaggt	68220
10	ttgccactgt	taaggtagga	cagtgattat	gaagggtctc	tccatagtct	ttgtgccaaa	68280
	tgtatcagaa	aggctaagag	tgggaggcag	ggtggccagt	gaggaggcca	gataagagt	68340
	tgtgtagaga	gggagatgga	gagaatggaa	ttagctcaaa	agatatattt	agaaatgtt	68400
	ggagaacgtg	acgattactt	atgagggttg	agggagaagt	aggtatcaag	catgattcta	68460
	agacttcaag	tttgctccac	gggttgggag	ctggctcctg	ttgttatgac	agggaaactc	68520
	gggttaggat	ttcaaatgga	ataagggacc	tattgagctg	gaggtaactg	tggtgtagcc	68580
15	aagtggagaa	atctaataag	cagttggaca	tgtagctcta	agactctaca	acgatcaaaa	68640
	ggatgacaga	gaattgagaa	atcatgaaag	tggatgagat	tgccctgggag	agttatcatg	68700
	aaaagagaaa	gggtcaaaag	agagctcaga	gcagctcatg	actaaaggct	agctcacgac	68760
	tagaggagat	ggaaaaagca	aatggcctna	agaaatatgg	acnaaaaccag	caccttcaaa	68820
	gccagcagat	ttgcatctgt	gtcttcctcc	catactcaca	tctctctcca	naccacagcc	68880
20	atgatcactg	ttagtgtatc	atggagttag	gttgggtcca	cctggataat	tcaggatcat	68940
	ctcccaaat	taatgtcttt	agccttaatc	acacctataa	ctttagtctc	cttttgctat	69000
	gcaacattat	ctactcacag	gttccatatt	ttagaatggg	gacatcttta	ggggaccagt	69060
	tttttctcta	ccacaaaaac	aacaattcag	agcactgctg	agaggctaca	gaagataaaa	69120
	ctaaaatttt	tctgattggg	tatatcatat	ggaagtgaac	aaaagtaatt	tcattgtctt	69180
	ggagtccacag	aaatgggcta	aaaagttaaa	agaggagat	tacaagtaga	tactttattc	69240
25	aagaaatmtg	tgagtaagaa	atgctgggtc	tgaaccctgt	ttaaacatga	gtggatattt	69300
	attaccactg	aaagaatcat	ctgtatgtc	caggattttc	ctggtggggc	aagaattcca	69360
	tccacccac	ccccaaactc	agagagtcac	ttgttctcta	tccaaagtac	ctgagggaaa	69420
	atgactacgg	aaataaattaa	gggttaatgaa	taaaaataaa	ctctgggaaga	ttcttgtaa	69480
	ctgaaaaaaa	tgaacaaaag	attaaacaaat	atatattctg	aaactcttga	cattcatttc	69540
	aaatttttaa	aacagtaatt	acctgtgtgt	tttagatata	tggtgtccag	ggcaattaat	69600
30	cttctaataa	atgtgtttct	aataaacatt	tgctaataac	ttgatgttgg	taaaaatgtt	69660
	tcaagcctgc	tgccctctgaa	gccaaagact	tcaaaataat	atctagttag	agttgtgtct	69720
	aaaatgagta	tcagcactaa	tatgaagaaa	aaagcaataa	taataggaag	aaaaaaggaa	69780
	aaaatactct	aatattttata	aatattttata	aaaaatcata	atcattataa	gttgagttag	69840
	taacttattt	ttggcaccat	tctgagtgtt	gcacattatc	taattttaat	attaaatgac	69900
35	ccctacaaaag	aatgcaataa	ctatcctcat	tttggnaagt	gggataactg	aggctatata	69960
	cacagggctg	gagtttcaat	ctaggaaatc	tacaactttc	aaactgtcaa	taacagttag	70020
	taacatctct	cattgattgt	ctatcaagta	cctgttttat	acaatttaca	gatgtaataa	70080
	cttacgtctc	accccaggct	tatgaggtag	acgttttcac	accattatgg	attggaaaac	70140
	taaagcatgc	ttaagtcaca	catgtaataa	gtaggtcaga	actcacagcc	aagaagattg	70200
	gtcccaaaag	ccaatttctt	ctccaaatat	ctgaaatatg	atttttttgg	aaactttttc	70260
40	atgtagacag	agtgttatct	tagacatttc	tgctattgta	tttttaaaag	tatttggaa	70320
	taaaaatata	tgtaattttg	atgggtcagt	agacccttcc	ctctctgaac	ttcaccttgc	70380
	cttcaagagt	aaatgaagaa	ctagggtgat	catatagtat	ctcttagctg	catagtctta	70440
	tgaacatgct	aaagtctctt	ctcctctttt	aacaagtctt	tattgttctg	tttttcatg	70500
	ctgggattta	tgctacattg	tattattgta	atgattaata	atcatttaga	tcaagcatta	70560
45	tttgagtaca	gtacttgcaa	cacattaggt	gctatgcaaa	gtgcattact	tggtttactt	70620
	tacttaaccc	tcacatgagc	tttgctttta	attatgatta	ctctctgtac	cttacagatg	70680
	aggaagctga	gcttagagcc	ccttagagcc	ttatttaagt	cacacaacca	gtaaaatggca	70740
	gagctgggat	caaaccaga	aagcctcact	ctgaaactca	gaagcccagt	ctccttacca	70800
	tcttactgtt	atattgtagg	taccaaatac	ttgatgacaa	gcacgttga	tgaggttaat	70860
	agtattttga	ccacacattc	tgaacagag	tcagatcaga	ctgaagcaaa	gatgaatcat	70920
50	ttggcctaca	tgtaagaatg	agaaatgggg	agatatacac	gatgtgtctg	tctaaaataa	70980
	tatctttctg	acccacccaa	ttgtggtaac	ttccacaatt	agagcctttc	ccttgggttt	71040
	tacagatggg	gtccaaaagg	ccagcttaaa	atatgactag	agggagcaat	gatttaacca	71100
	cttatttctt	gagaccagca	gacagatgag	ctcatctgct	gctgacaaa	ggcagaaccc	71160
	taaaggaaata	gcttaggggtg	tttgaatcat	gggtgaagtt	tctggagctt	tggttatggc	71220
	tgagaagtgg	gcaaagtatc	accagccatg	gggtgtgtgt	gtgtgtgtgt	gtgtgtgtgt	71280
55	gtgtgtaaaa	ctatgtacgt	gtgtgtatgc	gtgtgtggcag	caaataagcta	agggatttga	71340
	caattagggtg	tcagacttta	gagaaagcat	attataaaaag	ggatgggaagc	agcaactgaa	71400
	cataagaagg	tattaaagaa	aaagagtcac	ctggtaagtc	tacctcaatt	tggtcagaaa	71460
	ctcacgtgac	tgaggctgtc	ttagggttgt	tctccattta	agaaattcct	agaacatttg	71520
60	atgtagtggg	aaattagtgt	aacacaatta	tggatttaga	aggcttctga	aatcatcaag	71580

ES 2 271 092 T3

5	cccagacttt	ggcgctctgct	caatctgtgt	gggatacctc	agatagcagc	tatttggggt	71640
	ccatttttta	ggtaaaccca	gaatgagagt	ctacagtcag	cagtcctatg	ttatctatac	71700
	ttgctgtcag	gaaagccatt	acatatctaa	atcctttata	tcaagttgat	atccaacctt	71760
	ttcttaagaa	ggataaaaa	gggttatgtc	attatccacc	taaaaggattc	ttatatctct	71820
	agagctatca	ctaaatcacc	tcataatctc	tctttcctat	gggatacctt	gagttccttc	71880
	cattttctct	tatttgtctg	gttatctcta	aactagacac	cttccaacac	tcagaaggac	71940
10	aagtatcatt	gatgagtttc	gtagtattcg	tactgcaaag	aaaatgattt	tcacatgca	72000
	acattgctta	gaagtgggga	agtaaaatgt	gtgcccacag	tgagacaaga	attttgtgaa	72060
	tcacaatgac	tcctcagaca	agttaacgtt	ctttgcaa	ctgtagaaaa	attccttctc	72120
	ttgcttatct	gggtctcagt	ctgtaatggc	aaaaaacgta	atggtgatag	tattcttata	72180
	aagagctatt	gtggggatga	atcagatata	atlttgagaat	gtttaatatg	taattaatgt	72240
15	tatgaatata	atttatggat	tatgaatctt	aaaactatat	tcagatacac	atacacaatt	72300
	ttgcaataa	catcatatat	atatatatat	atatatatag	agagagagag	agagagagag	72360
	agagagagag	atagagagag	agagagaaa	tctctcaagg	tctcatatat	atattaccac	72420
	ttaccacagt	tgggtggggc	agaaagatat	gatttttagac	agacacgtca	cgtatatctc	72480
	ctcatttctc	attccttatat	gtaagccaaa	tgatccatct	tcgcttcagt	cttaactgac	72540
	tctatatctt	aaagtgtgtg	gtacaaaat	tattaacctc	atcaacaatg	cttgtcatca	72600
20	gtgatttggg	atctacaaca	taagagcaag	aaggctctct	aaggctctct	tttctctctc	72660
	tctccctctc	taaatatata	tatatatata	tatatatatt	ctctttgctg	tactcttaga	72720
	tagatagata	gatagataga	tagatagata	gatagaaa	gcaaagggtct	ctcaagggtct	72780
	tgctctgttg	cccagggtag	aatgcagtg	catgatcata	gttccactgca	acctcgaacc	72840
	cctgggctca	agggattctc	ctgcctatgc	ctcccaag	gcaacgatta	caggcatgag	72900
	caacctcatt	tgccagagata	catagatat	aatgaagggt	aattacatta	ttcattgtaa	72960
25	tcaacattta	tgattgttga	aattgtctaa	cactttcatg	tggtgttcac	aggaatgtaa	73020
	cctggaatag	tttagctatt	ccagacacac	actgctcacc	agagctagaa	gaaggctacc	73080
	agtggccacc	tggatttaaa	tgcatggacc	ttgaagatct	gggacttagc	aggcaagagc	73140
	tgggctacag	tggtcttaat	gagataggtc	tgtcttactg	gtaaaatacg	ttttaagttt	73200
	ctattttgtg	atgtttatga	agtggacaga	ataattaaat	aattgatact	aatattttga	73260
30	ctggctgtag	tatagaagaa	atacaaatat	aaattttaat	tctatgccta	ttttataata	73320
	tattctaccc	gacagtgcgt	agcatacaag	ctgtgtatgt	atatgggagc	cagtgtttgt	73380
	atggagtac	agattctctc	tttttgacta	tttcgattct	caataacrgc	atttaagcat	73440
	ttaaaaatat	ttgtttgttg	aacagggttc	tgggtgtgtg	actcaaagat	aaacaaaatt	73500
	tggtttccct	tcatatgtaa	ctatgttaact	atacccta	aggcaaggta	agtccttaaa	73560
	actgtaatac	taggtattga	tgagtgcatt	agagctgaaa	agtgtcctct	gattagaata	73620
35	caattaatga	actcatttag	gaatatgcat	caactaagta	ataaatgtat	gggaaatgct	73680
	tgtgcatgag	aactatgtgc	tcaaatgtgt	acattctctc	tggcttgcc	tattaagtcc	73740
	taaaatgtgc	cattacatac	ataatgaaag	aattttagcat	ctgccattta	gttgatatca	73800
	ttgtattttt	ataattccat	gcaagttg	catattatat	tattaaagca	aaaaatgtat	73860
	aaattccaa	aagtatttta	tgctctgaga	attgttatca	gagtaatttt	ttaaactaaa	73920
40	atctcttcaa	gtgtcaggcc	tgctgtctaa	accataaagt	tacagctttt	atatagaata	73980
	tagtactgaa	cgtgggctga	tgggtatctt	ttaaagtcag	ttttgcaaat	aacatctcag	74040
	gttttctatc	ttatgtttta	gtatttctct	atattttatt	tcaagcatta	tagttagatg	74100
	gcattcttcc	atctcttttg	accagtaata	ttgtctccta	tttcacaaaa	atccagaagc	74160
	caactgatgt	gaagcaattt	caattttcta	tactctctta	aacttatcca	actttgtaat	74220
	tagtctttaa	tccttccctc	tgtctcaaaa	gtacagaggc	atcatgaatt	ataccaataa	74280
45	cttttaggca	tgaggaagaa	atcacagatg	tggatggga	ggcgagatgt	atataggctg	74340
	ataggctgtg	cgaataaagc	ttcaggagtt	ccaacagctg	ggcatgacta	gaatgcattg	74400
	cttatcagag	tctgcagctc	ttctcttttag	ggtctgagtg	tatccatgtc	ttctatggag	74460
	agtggctacc	attccagggt	taagggttgc	cttacagaaa	ataacctcca	attttttaaa	74520
	atcatgtagc	taaagcacct	cataccctca	ccgtttttta	tgcaacaatt	gtaccccaat	74580
	tcaaaatgca	gcatttatatt	caagttgatt	catctttctt	cactctgact	tacaatggct	74640
50	ttgcttaata	tagggtagaa	tctctttttg	agagaaaaag	tctccttgta	ctgtgctgac	74700
	ttgagaggac	cagttctagg	aggaaaatgc	cttgagggca	gtcgccccct	actaaagcaa	74760
	ttatcttact	atagctgtac	tgtaatttta	tctcccaagg	atttaagctc	cttgaacaca	74820
	ggaagtgcac	ctttctgtct	tcaagtctcc	agggcacagg	gctatgcctg	gctcacaggg	74880
	agccctccat	aaatattttac	taataggctc	aacaaagcgt	atgtcttttt	aattcattgg	74940
55	taaccaggca	tgttttgtatg	aggaggcaga	gccacaatag	agaatttagt	tgttttcttg	75000
	ttgttctttt	gcctgatttt	gtctgttttt	gttggcaata	ttcattatct	ctcatgactc	75060
	cttccctttc	atacaggctt	aatttcatcc	gtttgcttat	ttttcccaaa	ttcatcatca	75120
	ctgtatgact	aattgttaga	taatgaaatg	ttgatcttgt	accataacca	aaacattttt	75180
	aaatggtcgt	tataatttag	atcgaaatg	atagctgctt	cctgatatta	tgatctctctg	75240
	tagatacaca	aactactata	tttaaaagtt	cttatggaaa	caaaagacaa	ttttttgccc	75300
60	aaaatgagga	aaataaata	ttttattaga	cacatgtgat	catctcttca	tgcatgcatt	75360

ES 2 271 092 T3

5	tgaattttaa	acataattag	gtgcctaatt	atgcatatga	atttggttaa	tatacttgaa	75420
	tatgtaagta	atttatggta	gttaaaaagg	agcccatctt	cttttcttac	taatcaaatt	75480
	accattcaaa	acatgaattt	caattcactt	ataaaaattt	tggcagaagt	agctttatgt	75540
	ctcatttaaga	tttaacactg	atgatgttga	aaaattcaaa	ttttaaaata	tattaaaage	75600
	cagagtcattg	gagtagaaaa	aattacaagg	aaccctgtt	gtaagattga	agagtaaaga	75660
	catcttttccc	tctttgtgtc	cccaaaatca	tccaaatac	aagaagattg	agaaacagaa	75720
10	atgaaatttt	catgttttaag	aactctgaaa	agctgttaact	ataaaccaca	tcacaggact	75780
	gggcatctaa	cagaaaactt	cctgagaaga	ttctgcctac	tgtggatctc	agacagcacc	75840
	agcaggatag	caatattcta	agataatgca	tgttcctgga	ggaacacac	tgtctcatat	75900
	ttgagtcagg	gaatcagagc	aaaggctgat	tgtggaggct	tactaggacc	ccatgcagca	75960
	tcacaaggca	gaggccctca	ttcttcgagg	cagttaggtg	ggagatagag	tggaggggac	76020
	acgaactctt	tgttgctgct	gatctgggtt	ggctagaatg	ggataaaaag	taaacgggaag	76080
15	gttttcatgg	ccactataac	ttaggatgac	ctggggaaac	ttttaaaaca	aacagattct	76140
	caagcaccat	cctcatgtca	attaaatcac	aaccttagag	tgatccaagg	aatagatggc	76200
	ttttaaaggc	tctccagggtg	attaatttat	gtgcatgcag	agttagaac	cattggacta	76260
	aagaaataca	catatagaca	cacacacacc	tgtattataa	aaaccttcaa	ttccatcttg	76320
	atccattttg	gttggtgtaa	caaaatgtca	cagaatcagt	gtctcataac	caagagaaat	76380
	ttattttctca	cagttctaga	gtctgggaag	tccaagagca	agacagcagc	agattttcatg	76440
20	cctgggtgaag	gctcacttcc	tggttcacag	aattggcacct	tttcaactgtg	tcctcacgta	76500
	ctagaagcag	taagggttct	tccttgaaac	tccttcataa	ggttactaat	accattaatg	76560
	tgggtctccac	cttcatgatc	taatcacacc	caaaggctcct	accttctggt	agcatcacc	76620
	ccatgggggt	tagaaattca	acaaatgaat	ttgggggaaa	catcagcatt	ctgtccattg	76680
	cactatcccta	gaacattacc	ctgttcctcc	ccaaaagtga	acagtgcag	acatctggtc	76740
25	taacaaaaat	ttatttcaaa	gatgagtcac	aattgaaaga	atgaggacca	catctatata	76800
	aatgtacttt	gagggtactt	taaaactgaa	aaaaaatcat	gatataaac	tcataaaagc	76860
	ttagtaggaa	acagagcact	gaattacaga	ttcgaaggat	gcagcttttc	tcagtaagtg	76920
	aacatagaa	agtcaacact	gagacacac	ttagttaaat	tgttggaat	caaagctaaa	76980
	gaaaacattc	attaggcatc	cagaaaaaat	aagggtcaagt	tagctataag	gagggtacac	77040
	agagaggcct	gaaacttcat	gtcaaatatg	aactctagaa	tgtaatggca	caatgcttac	77100
30	aaattcttta	gggaaagaat	gggtcaagct	ctttctgaat	atttttgaag	aggcaggaa	77160
	atagagacta	tattttgcat	tgaaatctcn	ttgaaaacat	tcagttaatc	aagattttct	77220
	tatcatgagc	tagtctctag	tatctatttg	ttttaagaac	aaagctaata	taactgtagg	77280
	atttacaata	tacaatgtaa	atattataaa	ttatgaatat	ctagaagaga	taagatgaaa	77340
	accgggggag	atagtgtgat	tatgttgata	ttcttaacat	tcacatttta	gcagttaaaa	77400
35	aagttaacatt	tatacaatat	atgaaatgta	taatatagat	atgtgcatac	ttgttcagag	77460
	atgagaatgc	atgataaact	cagnaaatta	ctttcttttag	aaataactca	aaaatccaaa	77520
	taatatattc	tatgaccacg	tcccaaaaaa	tcatttcaat	atgagtaata	atattggaat	77580
	caattctttc	taaatcttga	taatagtctc	caaaagaaaa	gtaacaaaca	gtatatTTTT	77640
	taacctctga	atagagttat	gctatttgct	gtagcatgtt	taaaattatt	agggggacat	77700
	gactcctttg	tggttaaagt	tgcttgaagc	acagttgttc	aaaagaatgg	ccctggggtt	77760
40	tagatcatga	ctccacttta	tattagtgtg	acagccttag	gaaagtaatt	aactctcttg	77820
	cctcaatttc	cccacttagg	aaatggggta	agtgatagac	ctaccttata	cagttaatgt	77880
	aaagagcaac	ttagaaaacta	cacttagagt	acgtgtagcg	tagaacaac	gcagaatgaa	77940
	ctagaaattg	ggatgcacgg	gcaaaatatg	aatgtatctc	tgtgttattt	gagggaaaa	78000
	gggtgtaata	taagggaggg	caggacatag	atatcttcac	actcacacac	tgcattctgat	78060
	atgattccct	ttgtttacag	acatttaacta	tgcaggtttt	ccagtatctt	attcaaggga	78120
45	gaggcattgg	ggcaggggca	cggtgttttt	tgtttgtttg	ttgtttgtt	tgagatggag	78180
	tctcggtctg	tcgcccagc	tggagtgacg	tggcacaatt	ttggctcact	gcaaaccttg	78240
	cctcctgggt	tcaagcagtt	ctcctgcctc	tgccctccag	ttagctggga	ctacaggcgc	78300
	ccatcaccat	gcctggctaa	tttttttgta	tttttagtag	agacggagtt	tcaccgtgtt	78360
	agccaggagg	gtctcgatct	cctgacctcg	tgatccacc	gcctcgccct	ccaaaagtgc	78420
	tgggattaca	ggcgtgagcc	actgcacccg	ccggggcagc	gtgttcttaa	ccttgcatct	78480
50	tgccatagtt	aactcatatc	ttccatttca	ttttattcca	atcaatgact	agcattctag	78540
	aaggcaagtt	tttggtgatg	tttggtcttt	attcatcaat	tattccctc	ccctctcaca	78600
	aatgtcctga	cttctgtgct	tgtaccaatc	tctctagaat	ctgatcaaca	tttagccctg	78660
	gtcattgaat	tttctagtgt	gatgaagcat	catgcataatg	tttaatttta	tttattttatc	78720
	catatacatt	cgaatctgtg	acccctggat	tggagcctct	ccctttcagc	gcctttcaan	78780
55	caggtgctcc	ttccacagag	cctaagtaaa	gcaccagctg	gggcattgag	cagaaggcac	78840
	agccatgctg	tgatgtgcag	gggctccagc	actaagtgat	ttattttccg	nacctcctct	78900
	aattccttga	gccacgtgac	aactgagata	ctagttattt	ctgtctcttt	cttccatttta	78960
	tgcacctttc	catctttatt	tctggatagc	tttctctgtg	ctccttccta	aggaccccca	79020
	actgactcat	ccctgctaag	acattagccc	gtgcactcaa	gatatacac	actcccatg	79080
	ttgcaagctt	cctgagtagt	agacataatc	taaaggacat	cttgcaaaat	cgcaaaattt	79140

ES 2 271 092 T3

	atcttagcaga	cattgagatt	ccgtgattgc	agtatgggtg	gcaagggtggg	taggaatcat	79200
	acagtggtaa	gggttgggga	ttgacaacat	cctaaaaagcc	acactgtcga	agtgcacaaa	79260
	aatcacagca	acttacccta	tttagaaaaat	gtgtcttccc	ttttctgaat	acttacccca	79320
	ctttcagttc	ctacttcocg	tgnttccccc	ttgtctcataa	acatatgaga	cataaaaagct	79380
5	gagacataaa	agaggcgaca	ctgtgattttt	ctgtaataac	actggaaatg	aaattacaga	79440
	agtttagagc	tggaacagat	aatgcagtc	tacattttac	ccacacaggt	ggggatctga	79500
	gagtcagagt	gagtgaggat	agaattacag	agaactccgg	gcagaggcag	gctgaactca	79560
	cttctccaga	tttgcatag	tccaccatac	ttgctgtttc	caccaaaccg	tcttacaact	79620
	caaaaatagtg	tttaagaaga	aaattcaaaa	acaatttgca	aagcttagtt	ttattcctaa	79680
10	ttttctagtg	gaatgttagc	attatttccc	tttagtgaaa	tgctgatggg	gaagaccgtt	79740
	atccaaacag	agggtgatgtg	ccagtttagaa	agaaagcaac	acaaaatata	ccatatatgc	79800
	gaataaatac	acagcaaaaa	aacaccatcg	aactgggtgat	tccttgcat	gaccttttaa	79860
	aagaaagtaa	aacatttggg	acaagagatg	agaacaaaaac	tattcagggtg	gttatttgaa	79920
	cccttcattc	attgtacagt	caggtaaaaa	ataaaaaatg	ttcagtttgg	actaaacaac	79980
15	ttaatgaatg	tcattggatg	ataaaaactca	tcctgaaaag	tcacttagga	agtaaatacgc	80040
	tatcatgcat	tttttattag	tcctttagaat	catcagaata	aatgacaaaa	gcccattttc	80100
	aaaaaaatcc	agaataaatg	aaattcaact	gaaacagctt	atagcagagg	aagcccacaa	80160
	gcaagataaa	ctatgaatca	agacattctg	aaaataaacta	atagaaaaga	catacaacat	80220
	atgcccttaa	cactcacaga	gctgtatatr	gtggatcact	ttgcctgttc	tatatattca	80280
20	aaagtgcgaag	gtaaagccag	gaaataataa	acactgtatt	cttatgggtga	ctaattgtcc	80340
	atcagacagt	cgttactttt	gtaattactg	tcattactta	ggacaactgt	tggntatcat	80400
	ttatcgattg	catattatgt	gcctggcacc	agtgaanaag	ttttgcatcc	attgtgtttt	80460
	taatcctcaa	aatcagccca	tggggtatca	ttatccctca	gctgatgagt	ggggagaatg	80520
	agataagcaa	gaatgaactc	tcctcagagcc	tcctaccagc	cgcatttgga	agccatgtct	80580
	tgctgccccg	tgtgctgagg	ctgaagcctg	tgctcttgat	ctacaaacta	ctacgttacc	80640
25	agagtagcca	gccatgagta	accttcattc	ctgtggcttg	tcaggacacc	tgggtccatta	80700
	taaagtctca	ttatgatgat	ggaagaaaca	catcttccaa	aagagtgaac	tgccatagtg	80760
	gcatactctg	caacatgggtg	acctccctct	tgctctgaag	tccttagaca	agtcttagaa	80820
	aaaagaataa	atgtgggctg	ggcgtgggtg	ctcaagcctg	taatccaagc	actttgggag	80880
	gctgaggcag	gcagatcacc	tgaggtcagg	aattcaagac	cagcctgggc	aacatagtga	80940
30	aatcctgtct	ctacagaaat	acaaaaatta	gctgggcatg	atggcggggtg	ccagtaatcc	81000
	cagctactcg	ggaggctgag	gcaggagaat	cgcttgaatc	tgggaggcag	agggtacagt	81060
	aagccagagt	tgagccactg	aactccagcc	tgggcaacag	agcaagactc	tgcttcaaaa	81120
	aataaataaa	taataaataa	aataaataaa	taataaataa	aataaataag	agtaaatgtg	81180
	aaggaatgtg	acgtccactg	caaactgatg	gccccttaag	gggttggtct	ctggctttaa	81240
35	gtctagtccc	ttgtattctg	tattctgtga	gacagagagt	tggtgcataa	tatatgttag	81300
	ttgaatgaaa	gaatataaat	attaaacaat	gtacctggga	ggcaatgcag	ttttataagc	81360
	tactgagctg	taaacatctg	ggcaaggatt	agagataatg	ccagaaaaaa	ttagtaataa	81420
	ctacttttga	tgtaaaatta	ggtggtagac	acatcatggc	tagagatgtg	ggagagaact	81480
	tagcaagcaa	aagaaaatat	gctatttggg	atattttagt	aagttttgtg	tgtatttgaa	81540
	ctaaattcaa	aatgccgtga	taaggcatgt	gtttgtctata	tgtaatgtat	agctacatgc	81600
40	attaatttct	gttgtgtatt	tgaatttact	ttctttgaga	tatgaatatt	taaatttgct	81660
	ttctaaatta	tcacaaatta	accaacaaat	ttatacaagg	tgtttttgga	aatccacatt	81720
	aattaatttc	tttattagaa	tgtgacataa	acagtattta	ccttattagt	ttntctttac	81780
	gaaaaaatta	taaanctttt	tctatatata	tcctccttaa	aatatttagat	aagaaaacta	81840
	caagtgcgtca	gctccacagg	agttaacatg	tggatttttg	atgctaagaa	caaatttaag	81900
45	atgatgactt	gtaatcttca	tgaattgctt	ttggcaacaa	taaatataat	gggcctttca	81960
	agaaaaatgca	gaaaactaag	gtaaagggtg	attgagtcct	ccagatttcc	tatatccca	82020
	actcacttct	gaagaacgta	attatgagta	ttgaaatttg	ggactgggtat	tttttacaag	82080
	aagaaatata	ctgtagctgt	tatttacttt	tgtgggtatt	ttcttctttg	aatttgggta	82140
	gtattgacta	taagctatgg	actcagctcc	ctgtgtgggt	cataaatcag	ttttatttaa	82200
50	tattgattta	gaaatctcag	ttattatttt	cntcactggg	ggagtctctgt	gcttcgggact	82260
	acccctgtat	cttgcgtgaa	taggattgac	aat			82293

<210> 2

<211> 237961

55 <212> DNA

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> exón

60 <222> 43726..43868

<223> exón 8

<220>

65 <221> exón

<222> 43998..44102

<223> exón 9

ES 2 271 092 T3

<220>
<221> exón
<222> 52093..52179
5 <223> exón 10
<220>
<221> exón
10 <222> 77568..77699
<223> exón 11
<220>
<221> exón
15 <222> 98226..98393
<223> exón 12
<220>
<221> exón
20 <222> 106567..106758
<223> exón 13
<220>
25 <221> exón
<222> 144109..144246
<223> exón 14
<220>
30 <221> exón
<222> 159794..159868
<223> exón 15
35 <220>
<221> exón
<222> 191292..191428
<223> exón 16
40 <220>
<221> exón
<222> 192967..193108
<223> exón 17
45 <220>
<221> exón
<222> 211540..211613
50 <223> exón 18
<220>
<221> exón
<222> 225006..225107
55 <223> exón 19
<220>
<221> exón
60 <222> 225544..225613
<223> exón 20
<220>
<221> exón
65 <222> 228450..228541
<223> exón 21

ES 2 271 092 T3

<220>
 <221> exón
 <222> 228630..228752
 5 <223> exón 22
 <220>
 <221> exón
 <222> 231289..231345
 10 <223> exón 23
 <220>
 <221> exón
 15 <222> 231589..231709
 <223> exón 24
 <220>
 <221> exón
 20 <222> 231813..231944
 <223> exón 25
 <220>
 25 <221> exón
 <222> 232900..233067
 <223> exón 26
 <220>
 30 <221> exón
 <222> 235355..235459
 <223> exón 27
 <220>
 35 <221> alelo
 <222> 51090
 <223> 99-79335-60: base polimórfica C o T
 40 <220>
 <221> alelo
 <222> 61293
 <223> 99-79336-369: base polimórfica A o G
 45 <220>
 <221> alelo
 <222> 80602
 50 <223> 99-79338-332: base polimórfica C o T
 <220>
 <221> alelo
 <222> 100485
 55 <223> 99-79314-201: base polimórfica G o T
 <220>
 <221> alelo
 60 <222> 100509
 <223> 99-79314-225: base polimórfica A o G
 <220>
 <221> alelo
 65 <222> 106725
 <223> 99-79316-158: base polimórfica C o T

ES 2 271 092 T3

<220>
 <221> alelo
 <222> 166087
 5 <223> 99-79322-224: base polimórfica G o T
 <220>
 <221> alelo
 10 <222> 166336
 <223> 99-79322-473: base polimórfica A o G
 <220>
 <221> alelo
 15 <222> 235894
 <223> 99-79306-182: base polimórfica C o T
 <220>
 <221> unión_cebador
 20 <222> 51031..51051
 <223> 99-79335.pu
 <220>
 25 <221> unión_cebador
 <222> 51539..51559
 <223> 99-79335.complementario de rp
 <220>
 30 <221> unión_cebador
 <222> 60925..60945
 <223> 99-79336.pu
 <220>
 35 <221> unión_cebador
 <222> 61354..61374
 <223> 99-79336.complementario de rp
 40 <220>
 <221> unión_cebador
 <222> 80271..80290
 <223> 99-79338.pu
 45 <220>
 <221> unión_cebador
 <222> 80700..80720
 50 <223> 99-79338.complementario de rp
 <220>
 <221> unión_cebador
 <222> 91037..91056
 55 <223> 99-79339.pu
 <220>
 <221> unión_cebador
 60 <222> 91466..91486
 <223> 99-79339.complementario de rp
 <220>
 <221> unión_cebador
 65 <222> 100285..100305
 <223> 99-79314.pu

ES 2 271 092 T3

<220>
 <221> unión_cebador
 <222> 100764..100784
 5 <223> 99-79314.complementario de rp
 <220>
 <221> unión_cebador
 10 <222> 106568..106585
 <223> 99-79316.pu
 <220>
 <221> unión_cebador
 15 <222> 107000..107020
 <223> 99-79316.complementario de rp
 <220>
 <221> unión_cebador
 20 <222> 165864..165884
 <223> 99-79322.pu
 <220>
 25 <221> unión_cebador
 <222> 166381..166401
 <223> 99-79322.complementario de rp
 <220>
 30 <221> unión_cebador
 <222> 235713..235732
 <223> 99-79306.pu
 <220>
 35 <221> unión_cebador
 <222> 236190..236210
 <223> 99-79306.complementario de rp
 40 <220>
 <221> unión_cebador
 <222> 51071..51089
 <223> 99-79335-60.mis
 45 <220>
 <221> unión_cebador
 <222> 51091..51109
 50 <223> 99-79335-60.complementario de mis
 <220>
 <221> unión_cebador
 <222> 61274..61292
 55 <223> 99-79336-369.mis
 <220>
 <221> unión_cebador
 60 <222> 61294..61312
 <223> 99-79336-369.complementario de mis
 <220>
 <221> unión_cebador
 65 <222> 80583..80601
 <223> 99-79338-332.mis

<220>
 <221> unión_cebador
 <222> 80603..80621
 5 <223> 99-79338-332.complementario de mis
 <220>
 <221> unión_cebador
 10 <222> 100466..100484
 <223> 99-79314-201.mis
 <220>
 <221> unión_cebador
 15 <222> 100486..100504
 <223> 99-79314-201.complementario de mis
 <220>
 <221> unión_cebador
 20 <222> 100490..100508
 <223> 99-79314-225.mis
 <220>
 25 <221> unión_cebador
 <222> 100510..100528
 <223> 99-79314-225.complementario de mis
 <220>
 30 <221> unión_cebador
 <222> 106706..106724
 <223> 99-79316-158.mis
 <220>
 35 <221> unión_cebador
 <222> 106726..106744
 <223> 99-79316-158.complementario de mis
 40 <220>
 <221> unión_cebador
 <222> 166068..166086
 <223> 99-79322-224.mis
 45 <220>
 <221> unión_cebador
 <222> 166088..166106
 50 <223> 99-79322-224.complementario de mis
 <220>
 <221> unión_cebador
 55 <222> 166317..166335
 <223> 99-79322-473.mis
 <220>
 <221> unión_cebador
 60 <222> 166337..166355
 <223> 99-79322-473.complementario de mis
 <220>
 <221> unión_cebador
 65 <222> 235875..235893
 <223> 99-79306-182.mis

ES 2 271 092 T3

<220>
<221> unión_cebador
<222> 235895..235913
5 <223> 99-79306-182.complementario de mis
<220>
<221> unión_misc
10 <222> 51078..51102
<223> 99-79335-60.sonda
<220>
<221> unión_misc
15 <222> 61281..61305
<223> 99-79336-369.sonda
<220>
<221> unión_misc
20 <222> 80590..80614
<223> 99-79338-332.sonda
<220>
25 <221> unión_misc
<222> 100473..100497
<223> 99-79314-201.sonda
<220>
30 <221> unión_misc
<222> 100497..100521
<223> 99-79314-225.sonda
<220>
35 <221> unión_misc
<222> 106713..106737
<223> 99-79316-158.sonda
40 <220>
<221> unión_misc
<222> 166075..166099
<223> 99-79322-224.sonda
45 <220>
<221> unión_misc
<222> 166324..166348
50 <223> 99-79322-473.sonda
<220>
<221> unión_misc
55 <222> 235882..235906
<223> 99-79306-182.sonda
<220>
<221> característica_misc
60

65

ES 2 271 092 T3

<222>

5

10

15

20

25

30

<223> n=a, g, c o t

35

40

45

50

55

60

65

6485,14246,14248,14250,14252..14254,14256..14262,14969..14980
 17712,18786,19477,19496,21043..21064,21547,24607,24946,24974
 25072,25124,25136,25142,28843,31239,31372,37750..37751,40488
 46542..46557,49309,49326,49357,49395..49398,49400..49402
 49408..49409,56275..56280,61048,61050,61059,61856..61857
 61860..61861,64842,66307,66326..66327,69835..69840,70893,70905
 73279,76154,76354..76355,76371..76372,76407..76408,77095
 78933..78934,79363,89491..89492,95836,95838..95839,95841..95842
 95958,96966,97049,97067,97078,97292,98642,98712..98713,98716
 98740..98741,101368,101373..101374,101376,101378,101401..101403
 101406,110014,129061,129066,129973..129974,135336,135345,135359
 139924,147368..147369,147469,147507..147510,147767,151694,151729
 163111,164480,169764,173340,173390..173391,173398..173401,173407
 173414,173419,173426,174800,174894,175041,175486,176256,177240
 178864,181149,181154,181230,181287,183433,186606,186648,191065
 191267,193117,193203,193223,193380,194051,194053,194057,196577
 198388,198655,198828,198849,198862,199667,199693,199701,199704
 199747..199748,201117,201224,201226,201314,201410,202524,203887
 204396,204939,205891,205930,205998,206908,207363..207364,210938
 212018,214253..214254,217022,217333,219027,219909..219912,220924

 222620,222882,223870,224902..224903,224911,224914,226899,226915
 227232..227233,227415,228441,228446,229373,229471,233305,233405
 233512,233601,233629,236096,237468,237471..237472,237478..237482
 237486,237488..237490,237492,237495..237496,237498..237499
 237504..237507,237509

ES 2 271 092 T3

<400> 2

	gatgttaaat	aaggcgataa	aatatgagga	agaaaaatac	ttttattcaa	attataatgg	60
	gatgtaaatt	gaattttgtt	gatgtctgctg	ctaaaaattg	attcatcaga	gttaaatgat	120
5	attaaagcat	atttcattgct	accatatgtg	atatcagatg	agaactttac	aaataaatag	180
	aaaacagaaa	gttatatatc	tacaacccatg	atttattaca	gaacgtatat	ttttactgca	240
	gtcataaaag	aaaaagccca	gtaaagacta	atttgtaaaa	tatgtaatgt	agattttataa	300
	tgcttttcaa	aaaaaaaaaag	caccaagggg	tttttctgat	gcattttatct	tgatgtttac	360
	tggtgccata	ggaattactt	attgattttt	atgaaaacac	atatggaaga	gagaactaag	420
10	gcaatagaat	tcaactaaaa	gggcttcac	tatgataatt	ctggttgctc	tgataaaaaat	480
	tcctttatca	tggaacaagg	aaaacctgac	atatttttgt	tgagtcgagg	acaagatcaa	540
	gaaacatcct	atgaggaata	tttgtgaaaa	ctcttagcca	aatgcaagga	gtttttatcct	600
	tgtatcttga	atcataagtg	cccctagggt	acatgaaatg	tgtgcttgag	gattttttaa	660
	gggactgtct	ttaggtttct	cagggtctca	aataggggcca	cagacttact	taaactgaaa	720
15	ttaggtgtcc	agatatttct	cagaatgtta	ggaagaaaag	agtttaaagg	cagaaattgc	780
	aggcatgact	ttttaaaaaat	aagggtgtcc	attgtctgct	gaaagatgtt	taggagttct	840
	tggtgaatgg	atgagaaaaag	atagtacta	gaggagttt	tcacagaca	gtgaaaggaa	900
	attttaaaag	taaattttgg	agagcataaa	gtgatgatt	atttcatgtt	atatgtagaa	960
	gacagtgttc	attggaaata	tctagtggat	tccaagaaat	tagcattttt	atggttgtat	1020
20	tttaaacatt	tataagttaa	aaaagtaata	cttcaaataa	tgtaagagat	ttaatgattt	1080
	aagaaagtaa	taaatctctgc	catatataat	tccctccctc	cttccctctc	ttcctttctt	1140
	ttctcatttc	ttctcccttc	tctgtaggtt	tcattggtatg	ttataacatg	tttttcattc	1200
	ttcccttact	gatagacatt	taagtgggtt	tcagtcttct	cctgcaataa	gtaatgctgt	1260
	gttgaatata	ggcatatata	cattctgtgc	tcattgtgtg	ttatgcttta	gaacagattc	1320
	ctagaataca	tttctgggtg	aaatgatatg	cacattttta	atatgagata	gctggcgggt	1380
25	tactttttta	aaagataaag	attcatagta	ctgcctttat	tgctgtgagt	aatttttata	1440
	aatacaagg	attctttttc	aatatgcata	aatattgaag	aaaaaaaata	atgtaggcat	1500
	ttcgtatttc	gtactctgta	ctctcttgaa	cactggcagt	ccattctctt	cttgaatgta	1560
	tgatattcat	ccattcttcc	tggaatgcct	ctctccattc	tcttcttgaa	tgatgtgtt	1620
	catcccatc	ttcctggatt	gcctctctcc	taccgctccc	cctaccccca	tctctgtgta	1680
	ctcacctgtc	aggacctact	caggtaagtt	tcccttaatc	tgccagcagc	actcatctcc	1740
30	cttctgtctg	aactgtgata	gcaagggttg	tgcatcaaa	tggaacttcc	gttactctgt	1800
	tctacatgtg	tccacccgtc	tgggagtggt	tgtgtgtgtg	tgcaacagtg	cgtgctgtg	1860
	tggtttttac	ccttatgttc	tggaatcggt	cattagaccc	agttgtctca	gggtggagca	1920
	gagcctcagg	cacttctttt	gatgtctttt	ctcgctctca	ttgaactcgg	tataacttg	1980
	aggactggct	gatcacattt	atgagaattt	tatatgtgat	agattgcctt	tgaaaaatca	2040
35	tcattctgca	gaaattttagt	aattgaaaat	ttaaatcaaa	ttcaaatata	actctagggt	2100
	ctaatttcac	tggtcgtttg	aatgtatgac	ttctctgtta	agccagatac	tcacgtgaaa	2160
	caaattgtgaa	tagaatagca	tggaatcggt	gtatggacag	tcaaggaaaac	tttctctgct	2220
	ggcgacagca	gcctgcagaa	cataattccc	tggaactctt	atgaaatcaa	atccgtttta	2280
	tcaactaatc	agttggagca	aaaaataata	atagtgttat	ttaggaaagc	cgtaacacag	2340
	ctcttacctc	aaggctaatt	aagacctgac	ccttgaactc	taggggcttc	catgttccag	2400
40	cttgtgagcc	ctgctttgac	aaaacctgc	tgaagaggtg	agagcctcct	tctctggaga	2460
	gaaagccccc	agcctttgac	aaagtgttcc	tagcctgagc	catgtggggt	atgaaaaaga	2520
	agttggtcat	cccaggaggt	cactggacag	tggagagagc	ccatccattt	ttctccttta	2580
	ttcttcccta	cccctcagct	ctcactccct	taggacttgg	gattcttgga	tcataaaagc	2640
	aaaatatctt	aatatactta	aaacatgcta	aataacttaa	atatgctaaa	taaaatttaa	2700
45	actaaaaata	acgtatttaga	ataaatcatg	aatggctaata	aaatataagc	tgccaccatt	2760
	aaaacaaaaa	taacaaccac	taccacaatt	gtactataaa	agattattat	tgatcagctt	2820
	tatttttagg	taagtagaaa	agtgagatgt	atttctattt	ttctgagaat	gtaaccattc	2880
	tgaaagaata	ggagataactt	tctcacagta	agcagaagaa	tgagatgtac	tcataaataa	2940
	tatatccaac	aaacagttat	tttgcactta	ctctatatag	gtactgaaaa	tagaatgatg	3000
50	tttaataaata	tgaacagccc	tcaaacagag	atattaaaaat	aaaacaagaa	atgaagggtga	3060
	aataaattta	gaagaaacga	tggatcatta	acttgtagta	gttcttacag	ccatgtgctg	3120
	gatgcaggca	tccctgtctg	agtgtgtgctg	tgtgtacaga	cattgtttcc	aaactttttt	3180
	actataactt	tgttaaagtg	aagcgtgagc	actccacatt	tgctgcaagt	ctcacttccc	3240
	ctatttccct	tatttctcac	atttaccgtaa	cttgtctaac	ctctgaaaca	aatgttttta	3300

ES 2 271 092 T3

5	ttagttctgg	taatgcaaaa	taatcttttag	agaattacgt	ttttattttt	gcttttggtta	3360
	aataagatct	acagtagcat	aagttaagt	tgccaccttc	atthttgtagc	tggctaaata	3420
	tttctgcttc	ctgtgtactt	ttctgaaaat	ggctttaatt	tgtcttattt	ttgataatta	3480
	gcttcaatta	gtgcagaatt	ctcttttgg	attgattgga	cataaaacct	gagatatgtt	3540
	cgttgtatct	tggaaatctat	tactgccaat	aacaagccta	ccgtgagtcg	aatttttaagg	3600
	ctttctcttt	tttttttttt	tttttttttt	tggtcttggt	aatthgggtt	ttttttaaca	3660
	tcgtttttct	ctggtagttt	ttaaagattta	ccctttgtct	ttgctgtctt	atggtcttag	3720
10	tatctctgtc	ctaggcatgg	atthtttattt	tttatctact	gtgaactcat	tctctgcata	3780
	tgagactcat	gcctttcttc	aattctggaa	ggtttttagg	tattatcttc	tcaaaacagc	3840
	tctctctctc	attctctcta	ttctttgttt	tctggaatac	tgattaatat	ttgtttttat	3900
	catahththt	attctatctt	ccatgtcttt	aaatcgtgct	ttctaacttc	cctctatttt	3960
	cttgacttct	cttgttacca	cacaatgggc	gggttcagtt	gcttggcagg	tgggagtcca	4020
15	atgaccacaa	ccaaggagga	tttaaccaag	ggatttcatt	actggcaaca	agtaagtaga	4080
	acactgggga	tagttcccaa	agcagtgcc	ccccagacac	aggtggaaac	agggtcttgt	4140
	gggggctgtc	tagctgagtc	actgtgtgca	gaggtggagt	gcaggcaggc	acagctgttg	4200
	ttcatgtctc	ttcatatgtt	gcccatacag	aaaatggcac	ataagctctt	ccctgggcag	4260
	ggcatttagt	atggtaaggt	gaagaggtct	ccaaagtcca	tctccagctc	aggcatcccc	4320
	ggatgcctgg	gaccagtttt	ttgtgtttgt	tctttgtttt	gcaggggctc	ggcttcttcc	4380
20	cagaacactt	ttaaacaacg	gtgcaacagt	gtgcaacagt	taaaagtggg	tagtttctca	4440
	tagtgtgtac	ccaataaac	agggacctcg	ggttacactc	ttgatccttg	attagttgca	4500
	caaggaatct	tctatcattc	tccgtccctc	caagagttgt	ttacgtattt	tcaagctcaa	4560
	attctttgtc	gaactcttaa	ttttctctca	gtgtgtctag	actgctattt	atttatcgaa	4620
	tttcaacttc	caacatctat	aatttttata	cctaataatt	ctatctaatt	ctgtttcaca	4680
	cctgcctgtt	cttttatctt	agattcctgt	tcttgtctgt	ttctttctaa	tcttttcttc	4740
25	atctcaccaa	acatttttaa	catgcttatt	ttagaatttg	tttctaattg	ttccatattt	4800
	tctaactctc	ctttacaata	gttcattttc	ttgtgtgggt	tataatattg	gctatgagct	4860
	caattccact	ggctatgagc	tcatthttca	gggttactct	ggcctgaact	gtgactgggg	4920
	ttgtgtttgc	tcaggtttca	tggtatatca	ccgttcttac	tgatactcgt	gttacttttg	4980
	tggtctaaag	aatatattta	tggtttctca	tgctgctaatt	aaagacatac	ttgagactgg	5040
30	gtaatttata	aagaaaaaga	tttaatatag	tcacagttcc	acatggctgg	ggaggcctca	5100
	caatcatggc	acaaggtgaa	gaagtaaaag	tatgtcttac	ttggtggcag	gcacatctta	5160
	catgggggca	ggcaagagag	cctgtgcagg	gaaactgccc	tttataaaac	cgtcagatct	5220
	cgtgaggctt	attcaccatc	atgagaacag	cacaggaaag	actcgccccc	atgattcaat	5280
	tacctcccac	tgaatccctc	ccaggacaca	tggggattat	tatgggagct	acaattcaag	5340
	atgacatttg	gggtgaaaca	cagctaaacc	atatcaggga	aggagaggtc	cttgaactat	5400
35	ttgcattatg	ggggcactgt	aaaattagac	tacacacttc	agttggccca	ggctctggatt	5460
	ctgatttctc	tgaggagact	cttttgcccc	gcattggatct	ggacagaaat	caagcaacat	5520
	tctgtctttt	tctgagctgg	aggccagggt	tcttccagtc	cagataaaat	gcagaacaat	5580
	cctttgtaac	accagctttt	gtagagacac	ctcagctcca	acttactgtc	ttatatagg	5640
	tgcctcccaa	ctctctcttc	tattgggacc	cagaagccct	gaagatttat	attgactcca	5700
	agtacatctg	tgaaccattt	ggcttcagct	gctgctcaca	gctctgattt	tatatctctc	5760
40	caaaactctc	gaccgctgga	tagtttgctc	atgtagcttt	gagataattt	atacattcaa	5820
	aacttactct	cttttatcta	ttctcttggt	ttgatthggc	atagggtgag	gaggggtagg	5880
	gaaaaagggt	tctaaataag	catagtccaa	cacattgacc	taaagcccat	atatatatat	5940
	gctgctaata	acatttatata	tatgtatata	tatatatat	ataatttttt	ttgaaacagt	6000
	ctctctctgt	caccagggct	ggagtgcagt	ggcatgatct	cagctcactg	cagcctcctc	6060
45	ctcccggttg	caagcaattc	tcatgcctca	gcctcccaag	tagctgggac	tacagggtgt	6120
	agccaccacg	cccggttaat	ttttatattt	ttagtagaga	cagggtttca	ccatttcggc	6180
	caggctgggt	tagaactcct	gacctcaggt	gatctgcca	cctcagcttc	ccaagtgc	6240
	gagattacag	gtgtgagcca	ctgtgtccag	cctatgtttt	tatatthttt	ggatttccat	6300
	gtaatgatgc	aattttctct	tctttgatat	gatgcattca	tgattttata	ttctaaatgt	6360
	atthtttatc	ttatatataa	aatgcatttt	attaatttaag	cattagttct	taaaagtgtg	6420
50	tatttctctg	aactthttat	tttacaata	ttccatttcg	gtgttattat	tttttagatt	6480
	ttttngctgc	tgaatagtta	tgccaacctc	tgtgcagcct	gggaagacaa	cacatcagca	6540
	gtcaatttgt	gtaagacaa	aataatatta	gagagcaaga	gaatgagaca	agactgcaca	6600
	tcagcaatga	taattattga	gtactgagaa	caattccagt	ggatttaagt	ttgggatgct	6660
	taagcttctt	aatatttaatt	gcagcaata	ttcaaatgtc	ttcactttcc	atataagtac	6720
55	ttcagcaaat	aagcaaaata	tgaataaaa	accctaattc	agaattacct	aaataaaaa	6780
	caagtaaat	gtcctaggca	attcttacca	tcttatgtcc	agtaaaacaa	taacctatat	6840
	ttgtgcatac	agatatatta	tctcatttaa	aaactagcgg	tgattgtaaa	tcttgacacc	6900
	aaattgaagt	tgaactgaaa	gaggctttcc	tgtaaagata	cttaggattc	ttacattgta	6960
	tgttaaggaa	gtcacctagt	cctcacatca	acccaggtgt	tgacatgtta	ttacttattt	7020
	ctaattggtac	agattgttag	atgcagagaa	cagaagcagc	tcttagggga	cagagacagg	7080

ES 2 271 092 T3

	gctcagtgat	gattatattc	acctgtcatg	gggtagagct	acaatagtga	gtattctgtg	7140
	gatggctcta	tccagataaa	agaagggaatt	gggttccagga	catagtctgc	atcttactag	7200
5	gtgggggaatg	ttggacaagt	tacttaacct	cttctgccct	gtaaaatagg	gataaaaatg	7260
	gtacatatca	cagagtgtca	taggaagact	aaagttagact	attctcatcc	tcacacctaa	7320
	tgagttctca	atattttaact	gattataaatt	atctttacta	gatacataat	taattaaata	7380
	aattaaggaa	ttatagagca	aatagtcata	gggtcacaca	gatagaaagt	gggaaaaata	7440
	ggagacaaac	ctatgtctat	attcattcca	tggcattaga	tttagattac	ctccttttag	7500
10	tctggcaaaa	cactcatgat	tatacaatgt	aattttaaaaa	tatacagtac	tttgctgggt	7560
	gtgggtgggc	atgctgtggt	tcccagctac	ttgggaggct	gagggtgggag	gatggcttaa	7620
	gcctgggaag	cagaggttgc	aatgagccga	gatcacgcca	ccgactctca	gcctgggctg	7680
	tagaacgaga	tactgtctca	aaaaagaaaa	aaaaatacag	tactcacatt	ttactttgct	7740
	agtatatgct	gtattcactg	gtgtatgctc	tcttgcattg	agactttcat	tgggaataaa	7800
	atggttgaaa	ctattttact	atttcttgca	ctgctttgag	atactaccag	caaagctatt	7860
15	tctaagctaa	gacgctatgt	ccctgcagga	cttctaaaga	cttaaagcaa	tgctgtagct	7920
	gtgtatttac	aactgactag	agcagggatc	agcaaaccat	ggccagtggg	tcaaatcctg	7980
	cttactgccca	gtttttgtaa	acaaagtgtt	atcgcaactc	cctgcccatt	tggttagaca	8040
	tggtctgtgg	ctgcttttct	ccaacagcag	aaaagtccag	tagtttcaac	agaaaacctg	8100
	aggccataac	cttctaccatc	tggtccattta	tggtccattta	cggaaagtta	gccaaacccc	8160
20	agactagaat	aaaggtagga	aaaaccactc	agcccaagct	tcttttttga	ttctatcttc	8220
	ccacagctgc	ctagaatcct	ttgcagtctt	tatccttagga	ggctcagagg	ctataacaca	8280
	tctctaattt	tgtctagatt	tgtgagaatc	catttctcac	aaatccagtt	ctggccctct	8340
	ttccctgact	tgaactctct	acatgaattt	ttaaaagaag	gattacctgg	gattacctgg	8400
	gatgggtata	tccttgaaag	tcacctcctt	tctgctgcct	ctcacaataa	cacaggctat	8460
	gtgccctaaa	cctgtcattc	actttaagga	atttttgaaa	agtggataat	agggttagaca	8520
25	taaaattcac	tgaatctggg	ttaaatttaa	tcagtgaagta	ttcttttagaa	tgggaagcatg	8580
	agcctgaatg	attaaagaaa	ttgcttaaaa	aattagaatc	aaaatactaa	atatcatccc	8640
	ccccccaatg	tttttagctag	aaaaattact	tgaaaatgag	ccagagaagg	agaaaaataa	8700
	ttatcttaca	gaaaactaat	aaaaatacaa	taaactatca	tttatttaaa	tacaataaac	8760
	tatcatttgt	taaaatacaa	taaacatgca	aaagcgctat	cattgtagagc	acttttaaatg	8820
30	tttaaatcaac	ccactgatta	cttctctctag	tggattatatt	gcaagggtag	agtaagaatc	8880
	gttgcttctc	tggacacata	acccatttgc	catgtgacat	tgccctccct	ccaccaagaa	8940
	gtggaatgta	tttttccctcc	ccttaaatct	gatgcctata	actttctttc	cccttgagat	9000
	aatggcagag	tggcattgtg	caagttttgg	aaactaaggtc	ccacgaggcc	ctgcggtctt	9060
	ctctcttggt	tatttgagta	ctgccttaag	atgaccatgg	agagaagccc	agctagacct	9120
35	agaaaaggag	aagaggccac	atggagaact	gaggtcagcc	agccccagct	gcttgacttc	9180
	tgaacaaagc	cttctccgac	tatttggccc	tgtagagccc	agctgagatc	agcagaagaa	9240
	tcacccatct	gaccctagcc	caaattgcct	tctgcagaac	cacgggcca	taaatagcag	9300
	atgctttaac	ccaccatatt	ttgcagtgat	ttgttatatg	gcaacatatc	attgaaaaac	9360
	cctcatttta	ccaaagaagg	gggtcatga	cattaagcaa	ctacctaaac	ccacaatgta	9420
	aatggcaagt	cagggattta	gatgcaaatc	attccaacta	aaaatgtata	ctctaaatca	9480
40	atgccctgta	ctatactctg	tattttccaa	aaactaatta	gattgtgtca	tcagcatttc	9540
	tgaagacaga	ggtagtcgtc	tgggaagtag	agttttctca	accagtatatt	tgcaacttgtt	9600
	gggatttttg	agatcaggaa	tggtttggaa	aacctgagat	gtgcagtcac	atctctgagc	9660
	agtgttttaa	gtttattcat	tcactcattc	attcattcag	caaataattt	ttgagatcta	9720
	ctatatgtta	ggcactatgt	ttaccactgg	aaggcaggca	ccaggtaagt	acaaacacag	9780
	aaactgagat	ggatggcatt	gcattttcat	ttgattacaa	atttattctt	gcttataagt	9840
45	tgattaccta	ccttattaag	agctgatttg	tttcaagttt	tagaactcca	atttgtctct	9900
	taaatttttg	tctagcttaa	aacatagtcg	tagatttcaa	gaagtaaat	gtcaaacagg	9960
	tttgctgttt	agtttttgta	aaaaaggaaa	cctgtaggca	gaaacaaaaa	ccaaaataaa	10020
	taaaatctaa	attatggtaa	taactaaaga	tagttgaggc	attaacagag	tttgactgaa	10080
	ctctcaagtc	tcaagcaaat	ctctaaacta	aactgttttc	ttctgttaat	cagtttaaaa	10140
	gggaataacct	tgtgctaatt	tttcttggtg	ttggtaacat	taataaagct	ctgtgaaatg	10200
50	agggcagaag	gaacagaaat	tgagtcaaaa	taatgataac	acctcttaca	tattcttacc	10260
	attctgtctc	ctagccacac	acaccatgtt	taaacctaaa	aggagagaca	cctggagggg	10320
	ttaatttagct	tgcagctgtc	tgtgactagt	ctgcagagga	taaaacggat	atcagccgta	10380
	agaaagcagc	tagcactagc	ctggatgatg	aacaaagaaa	agaagcagct	gctgaggaaa	10440
	agcacatttt	gctgaccttt	gaggagggtc	taagaggccc	tttgccccct	gaaaatggga	10500
	cctgggaaga	aagtcttgat	ggcagacagt	acaaaatcaa	gggacagcag	ctggctgttt	10560
55	tgtgtaaggg	gcaaaattca	agaggatttg	tgaatcattg	tgatttacag	tgaccattaa	10620
	ctattgtaat	aaggagagaa	aaatcaacat	ccattcagtg	cccacattgc	aaattgccaa	10680
	gcactggagg	ggtactttca	cctaggccaa	caaacttaat	aagcagagaa	acccttcagt	10740
	gttttggtct	ctacagctca	agtgtactag	gttggcaagt	ggaagtccct	ttggtcatct	10800
60	ctgtttatac	acttgtttga	gatatttcat	aaagtcagcc	catttggttac	tttatctgta	10860

ES 2 271 092 T3

	gtatgtgctg	tttcatgttg	aagatgcttg	ccttttgata	gtattccaaa	ctgaccaacc	10920
	ctgtacggat	ttaagccact	gagaagctat	gaacagacag	gtgaagtttt	ggtattgcca	10980
5	ggaaccagct	tgtccagaag	tttaatcctt	taaggaaaag	gatagcaagc	ccaatgcaac	11040
	agcccttcat	gctaaaaact	ctcaataaat	taagtattga	tgggacgtat	ctcaaaaata	11100
	taagagctat	ttgtgacaaa	accacagcca	atatcatact	gaatgggcaa	aaactggaag	11160
	cattcgcttt	gaaaactggc	acaagacagg	gatggcctct	ctcaccactc	ctattcaaca	11220
	tagtgttgga	agttcttgcc	agggcagtc	ggcaggagaa	agaaataaag	ggtattcagt	11280
10	taggaagaga	ggaagtcaaa	ttgtccctgt	ttgcagatga	catgattgta	tatctagaaa	11340
	accccatcgt	ctcagcccaa	aatctcctta	agctgatagg	caacttcagc	aaagtctcag	11400
	gatacaaaat	caatgtgcaa	aaatcacaa	cattcctata	caccaataac	agacagagag	11460
	ccaaatcatg	agtgaactcc	cattcacaa	tgcttcaaa	agagtaaaat	acctaggaat	11520
	ctaacttaca	agggatgtga	aggagctctt	caaggagaac	tacaaaccac	tgctagacaa	11580
	ttgttaaaaa	ctaaagtgtg	tggggaacaa	attgtactta	aaataatatt	attgtgtaat	11640
15	ctgataaaat	attttaaat	ctgggtgtac	aaagatttag	tgcttctttt	gttcttttta	11700
	caaaacagaa	accactaaa	atgttaactg	attgacatta	tatttttttc	tttcgtcagt	11760
	gttaaatact	tggtgcacag	tagtatgagt	tgcttctatc	atttactctt	ctacaagcca	11820
	ggtgagacgt	gttacgagga	ctcaaaatat	tctaattggc	ggtgaccaa	tgctacacaa	11880
	ttatgaagta	tacaagccat	tctaaacctc	acagtaaat	tttttaccct	ctgggtgcat	11940
	acttaaatag	aattatacta	ataatgcata	ttttctgagt	gttaaatgtc	tgtaaatgtg	12000
20	ctactaagtt	aaacgttgct	tcccatgggt	ttctgggtga	tgggtgttta	ttctgcttat	12060
	tcagtgctct	tctacataga	ggaacctatc	tcagtaactc	ctatactact	ctacaacaaa	12120
	atggcagaa	aaaagttacc	catttgaaaa	aataccttat	tttccaaaca	gaagtcttca	12180
	gacaggcagt	gcacaatat	tgcttccag	aaaaggagat	tgcatataat	cataacttac	12240
	atggttagtac	atgtgactgt	ttccctgtct	tatcctgaat	gcattggaag	tcattgagact	12300
25	tatttttttc	ttctctactg	attccattat	aaaacctcta	tttgtatagg	ttataaatct	12360
	taaccaataa	ttgagcttac	tatgttgagg	ctgtaggcag	aggataagat	ttacatgtca	12420
	gactttatgt	tctgctcttt	ggattaggct	aattttcaaa	agtatttgac	tgtaaaataa	12480
	taatcatgca	ctgaggaat	acaatatata	aataaatttt	gaagaagatg	gaattatagc	12540
	aggggacctg	tggaaataga	atctaagaac	atattgtaca	tatgctgaat	taatagagtt	12600
	gcattgtgtc	gttcacatag	caaattcagt	acagattgtt	tgtaaatgtc	aacagattat	12660
30	gccgtaaaat	ttgtaatttg	tttggcaaat	cttgacaatg	ctgagacatt	tattctagtt	12720
	aatacaaatg	gctaaggctc	gtaattatga	gttatttaag	ctaagaaatt	tggcaagttc	12780
	attattctac	agctcttacc	tactattcca	aattaattga	ctgttttata	tactgatata	12840
	attaatagta	aactttttat	attaagtata	catatgtgaa	ataaaatcat	attattattg	12900
	gattataaga	tgtaataaat	ggtaagtcac	gactgttatt	ttgttgaaat	gatttttttag	12960
35	aattttttaa	ggtttattca	acaaaataga	gttatcttac	ttaaaaatgg	atgcttaggg	13020
	ccaggcgctg	gtgctcacac	ctgtaatccc	agcactttgg	gaggcccaag	cgggcagtat	13080
	cacctgaggt	cacaagtgtg	agaccagcct	ggccaacatg	gtgaaaccct	gtctctacta	13140
	aaaatacaaa	attagccggg	catgggtggt	ggcacctgta	attccagcta	cttgggaggc	13200
	tgaggtagga	gaattgtttg	aaccggggag	gcggagggtg	cagtgaagcg	agatcatgcc	13260
	actaaatttc	aacctgggag	acagagtgag	actctgtctc	aaaaaaataa	aaaataaaaa	13320
40	aacaacgctt	agagattttt	aaattaaatt	agtttcaata	cttctataat	agttaaaaca	13380
	agtggtttct	atttaaatca	caaattgatg	aggtttagag	tgaaactaaa	catatgagat	13440
	catcaagtcc	aaccttctgc	tacgatatta	gacttcaaat	ggaaagcaca	tcaaacgtta	13500
	accagatgat	ttcttttgata	gtctgtttta	aaatattgaa	ttataaact	ggaaacattt	13560
	taaaaattgc	tggtcttttg	gaattaatat	aaaaacatat	actttaaagt	aagggaatttt	13620
	atactgatga	agttatacac	tgcttagcct	agcatgtgta	tggtatactt	aaaaatgtgc	13680
45	attgtacatt	gtcaataaat	ttgcacacga	tcattttcac	atctgtattg	ttcacattga	13740
	cgtactttgt	gtcatatata	tttgtgcatt	atcagttgat	ttgcacattg	cacaccagag	13800
	tcacacagtt	atagatctgt	gtgaattccc	tatattccac	atgcatggac	atgttcatat	13860
	ataccacac	aaatacaccc	catgaaatga	tatccagtta	atgaatacaa	aggttttttaa	13920
	aggagaaatt	cattagaaaa	aaatcctata	agcctctagt	tttcccaatg	aattaatcta	13980
50	agaatggata	ttttattttt	tccatgtttg	acttgtaaa	taaaacttta	gtaataaaga	14040
	gtgtctgctt	tacagtctcat	atatctcttg	aatttataaa	actcaattac	ataagaataa	14100
	cattaattct	tttcttttaa	ctattaagac	agcaaagtct	tttttatgat	tatctacaat	14160
	tcgggtctct	ctccgggtat	ctccaagata	acatgattat	gagtttaaat	tatgacattt	14220
	aaaactttga	aactcacttt	catatngntn	tnnnnnnnnn	ntacataga	atatatggag	14280
	tggtgtttac	atattattta	tatgaataaa	tatacaccta	ctccaggtaa	tttagtggtg	14340
55	actatcacgt	attttatttg	gtcattctac	aatgtattga	tgccctttgt	gtgtgtgtga	14400
	ttactaatac	tggagtatta	atatacttgc	atgagctctc	ttgtgtacca	tgggaatagt	14460
	tctgtatttg	aaaaataga	tactgggtat	gcacattttt	aatttttaat	atatacttcc	14520
	aaattgttcc	tgcatactcc	caccagttat	aagaatgtat	ctgttttctc	cttagcatgt	14580
	caatatattga	tataatgaaa	cttgtaaat	ttagccaact	aaatgagttg	gatttctatt	14640

```

cctttatagt aactgatgag gttataatca agttaagcat ttttttatat gtttattggc 14700
cactcagggt tttttcttct acgaattgct ggttcacatg ctctgcccat tttccttctg 14760
gacttggttg tgtgtctttt tcttacatat attggtatat ttgacttttg tctattattt 14820
attttaaggt tataggattt tagagttaat gaaaggataa aatgctggag gcctagaatt 14880
cagaatcgta cataggattc taacacagaag ccatgttcta aataaggatt tggcttgttg 14940
gacaaaagaa aaatgtggaa tttcacagnn nnnnnnnnnn acatttatgg gcaatagaga 15000
atcaagaatg actttgtcat aacatcgga tcatggaatg gtattgtcac ctataccatg 15060
atcaagaaat taacggtgtt gctctgcaga ctggcaaatc tcattgccct tcttctaac 15120
cctgggaaag tattattaca atggaaaaag atatgcgaca agatattgta ttaatagggt 15180
gttagaatca aataaaagga gggatagatg tagtaagaga agcagatttt atagctatcc 15240
ccattccaag aataaaaaac aaaaaataa taggcgagtt cattgtgggc atctgtcagg 15300
aacaagggaag gatagagctc tgaagctga ctgcagtcac taacaaaaac ccttttgaga 15360
catattccaa gaacctgaaa aactggtaat ggacccttcc ttatactcgg tgtcttgaag 15420
ggcagtaaac tgtctaatgg gaataaaaa tagagtcttt ttttctccc ccactctaag 15480
atttctctat tttaaaaacc tcttttatat ggcactgcaa ataatagcac acagcaagaa 15540
ctgtactttg cagttatttt gagcatctca agtgtctgaa aggtacaaag ctaacaacca 15600
aatgacttca gaatggaaaa tgtcccgaaa tttttaattt tcttctctaa acagaaatat 15660
aggggaagaa aaaaacaacc taattctaaa tccagcttaa aatgacaacc agaggttttc 15720
tagcttatat tttatttcag aatgcttagc aaatttcttg actttgtatt aatttttagt 15780
agttgttaatt tgaggaaact catggttttc taagatcctt tatacctgaa aagttgtcgc 15840
atacgtgtaa gacttgcttt gttattgttg ttgtaaatg aatacctgaa ggtagatttt 15900
agtacactaa ataactcatg tgttctattc gtgctaatag gcaggaaaga tggacaatat 15960
aacttactgg gatgccaggg agtgctctga tccccagga gtgagacatg agatgggcag 16020
aaagaacaag attagttaac tatcatggga aacataagaa gaatttggct ttagggattg 16080
tgtgtttgag attgattttt aaaagaaaaa gacctattta aaaatccaca gatgcttagg 16140
gaatagaata gctatttttt taattcataa attttatatt ggttagtttt cacagcagtg 16200
aattatcaac tttatataaa agtaaaatga taatttgata tatttcttga tatgagtcca 16260
cattttcaga gccatctaaa ttcagccttg tttgttcatt atacatatat aagaaaatcc 16320
ttcttctatg caacaaatgg ctgtatataa aatatacatg acttgttgat ttaaaatctt 16380
ttaccttttt ctccagcctg aaaggtaaaa cacatgcatt tcataaatgt ttgaaaatgg 16440
gaacgtatgt accaaaaaaa tcacttcaaa atcatgggtt acgtatcttc taaaaacatg 16500
taatcaataa taacaaagta tatttaggcc aatattttga ctatgatana atcgcctttg 16560
ttcagaaggt attgtgtttt ctgagtattt cattatttaa agcagaaggt ttcacttttc 16620
agaagtgtca ctccagcctg ggtgtctctg gtggttgagt caaatcagtg ctccactat 16680
cagtaggttt ggcacaggat gaagcaagaa catcaaacta aaggggccaa gaacaatagg 16740
tgaggagagg tgcaggagga gcagagaggt cctgataatg aggttccctg actatagcag 16800
gttaggacta gacaagocct gtgaccaaac gaggaaagag tttctgagca ctttctatat 16860
ctggctgtac cttgggggac ttcctccatt ttgtctgggc tcateccacg tccctgctaa 16920
agattctgca aaatatactg cagttctcat tcatgtgcc cttgagatgc atttgagctg 16980
caggtatttt ccctccagtg gtaccagtt tatttttct agtccattca actcataaca 17040
acatccagca gcactttacc cacaggtggg tgtttattag gttttattt cttttgtcca 17100
ggtttattga ctttgaagag taggcaggga tttctgtttt tatgagtcac ttgtcagctg 17160
taatgaagtc tcttctacta aaaaaaagat gtgaggacaa tcttgcgcag tgtcataatt 17220
atttcaaaaa tacatcatgc ttaattgtat ccacaaaggt tttaaaaatt taaacatcag 17280
ttttgagttt tagggccttc ttattgggtg attatcaata attgtagtgc tttcttgaag 17340
agttccctgg ggtggatttc cttagtgtga tataattcta gcctcttcag cctactaagg 17400
ataaaaggga catgaagtac acatatctgg gaattaatga catttttctg ctcaagagcc 17460
aagtcatttt cagaaattga tgtcaaatag gtcttccata gctgaaagtg ctagggtgtc 17520
cttcacatag ttaagatttc cccctattca gaaatattag tttctgatga caatggaaaa 17580
ttccaaatgc agcagcttca ctgtgttcta ataattgtca tgcttaggga tccctgaaacc 17640
acttgcagta tgcctgggtc agccacagca gggagccggc gcccatgcca gttcccagag 17700
ctgaccaccc cnaccgcagc cagcgtgtct ggctgtgcac catggccaga ctccatgctc 17760
actcactcat gcaccccgca ctgctcccca cctggctcaa ccttgggtgg catgggatcc 17820
aggctggtag tgaagtcaa atgctgcctg ccaggccggg tgggcagaaac gagccagcgy 17880
ggtagaaaaa acttgggcaa acgtgccact ggctacagag gtttccggct ggtgaagtga 17940
cacctaagg attctgtgac aatgggaaaa ggggtaatga agggatagag cagattaagg 18000
aatttaaaac ccagttgagc aagtatatct gtaataatg tacttttcta tactacaaa 18060
ccacaaagaa aggatctccc tctctattat tcacagggtc atcccggag aactgacatt 18120
tcaatcgtt aaaaaataag tagataatgt ttttagcttt aaaaaaaagt ggaataatct 18180
atgcataat aaagaataaa tgcacataac atttatgtgg gttatgtaag cagaggtaag 18240
cattataata aagcaaacac tgatgagcca cgggtgagga aacataacct tcctaactct 18300
ctgaggcttt cagagtggct cttggcccat gtgagggtaa ggggttgaaa gaacaggaa 18360
agagggcgtc catgtttgag aaaccacaaa atcacaggag tcgctaaagg agtagtttaa 18420

```

ES 2 271 092 T3

5	ttggttatat	ggaggaaatc	tggagtgatg	ttagaagatg	caattgacca	gatcagggtgg	18480
	atcacagagg	ccatcctgag	cagtacaata	ggaaattaat	cagggatccc	ctatgggttac	18540
	cataccttat	gggtttaaac	caatgatgct	tacgagggag	aagttagctt	ttctggacaa	18600
	tgteecttgg	gtgcactttt	cagatggaga	ttggcaagcc	aatggctaag	gaggggtgaat	18660
	cagatcaaaa	ttcttccttg	actttcatag	catttccaga	ggatgtctag	tttatgagta	18720
	aaatgtcttg	ccttcctctc	ataaaattat	ctctatgtcc	tcacctgtaa	agatgttcta	18780
10	tatcanaaca	ttattattta	tacaataat	tatattttct	taaaaagact	tttttgtaaa	18840
	gtaaaataag	tggaagcaaa	cttaaatgat	tcagaacaac	tttctaata	tttgactaaa	18900
	caatttcagg	aaatagccat	ttaatccctc	gaaaaacaaa	tttggtctcg	gttaattttt	18960
	agaaaaatc	aagatgagga	gatgaagcta	aaaaaaatat	attgaacact	gtgcattttca	19020
	ataaagaatt	tacagaatag	ctggaaaatt	aagggttaagt	atacaaggta	atttatatttt	19080
	tattttttaa	atgaaaagcc	atttaacaat	ctaaaaacta	catcaaatat	atttatattta	19140
15	gcatcatgaa	actacttaat	tatctgcacc	tatcagtga	gcattttttt	tctcataaat	19200
	ctgttctatg	ataatctaca	ggaaagacata	atttttaaat	ttgtaaggat	tagagtggat	19260
	ggtcacctgg	tcccaacctt	tggaacattt	gaaaagcaag	gaacatataa	actgaacatt	19320
	aattttttcc	ttgcaatgta	tacaagaaat	ttaaaaaaga	attttccaga	gtacagggtat	19380
	aaaagggtat	attcttgaca	gggaatcaga	gtgctgacag	atggctaaga	tttccatcca	19440
20	agaaaaat	gatgtttgaa	cttaagaaaa	tggaantttt	ctttgctgga	cctcanataa	19500
	tatttttcagt	aatgacagaa	agtcaggaaa	gatgaatgtg	gaaacaaaat	gttcttgaac	19560
	acatgaaata	aataggtaat	ttagatacag	tggtgtgtgc	cagtatgtct	tgtaggtgaa	19620
	gaataaatct	ggaatccctag	gaggtgcgcc	taaccagtga	ggtctctctc	acttatgaac	19680
	ataaaatgtc	tgggtactta	ggactcctct	aggcaataaa	tgaccttcag	ttagatttgag	19740
	ggctgatcga	actgagaggg	attagtacat	aatttaatct	atttgcta	tagcatgatg	19800
25	aattaaacca	ttgtcatctg	ttgctgtgtg	ggagaggaag	aggacaaggc	atttaagttt	19860
	tgatgagaag	gacatttatt	gaatagcatt	gtacacttta	agagtggatt	ctcatatatg	19920
	atctaagtat	cttagtctat	agactaagtt	tgattctctc	ctttcattag	tgacagagct	19980
	acaactgtca	cttgagtatt	gggtgacttg	acttctcttc	caagtgcga	acactgcata	20040
	acatggaaag	aaggcaagga	agaggagaat	atatcttctg	ccatcactgg	tcattttcagg	20100
	ggagattttg	gcactgaaga	cagatcagga	gcataatcaga	taggaacaaa	aaaaacaggc	20160
30	ttggtagctt	aaaaggagga	gtcaagtctt	accaactctg	aaactcacc	tcagtagtga	20220
	tgtttctatt	ttaccctctt	agggtaaaag	agtctggtat	ttctaagtat	atgctttcta	20280
	gtgtttgtgt	ttactatatt	taagaacac	cattagatca	attcttatta	atgattactt	20340
	gatattaatc	attatgatta	gacactagtt	taaaagcata	gattagtctt	attaaagact	20400
	tttcttgaga	gattatatat	taaatgggtg	gtgtacacat	tcttactaag	aaagttttct	20460
	gctgtttata	tctttaaatta	atgtagaatt	tctcccttaa	ttctacata	gaaacttagt	20520
35	atagataagc	ttgtgcagtc	agctgtgaat	tcactcaggc	ctactaccat	ttcttctact	20580
	cctctaaaga	ataaaatatg	aactatcttg	ttgaaattaa	gtgctactag	atctatactg	20640
	ctagtgatcc	tgtaatatca	atacatgcat	gcatacatat	ataaatattt	taagaaggaa	20700
	aagaaatctg	gttggaaactg	atgccttccc	agtgagcctt	tgctggctct	tgacagtttt	20760
	cgctctcttc	tttaagggtg	ttcagattat	ctagacttct	tagaattaat	gattattttt	20820
40	tcgttttgac	aatttttctt	tctaagttta	aaccacattg	gcattttgtg	aatatgatca	20880
	tatttctcat	tttgaccaat	ttttccctag	cattacagtt	cgttaattta	ctggttaatta	20940
	aataatgatt	aaacatatata	attaaacaaa	taatgattat	ttatttttgt	attacgtttt	21000
	attcctttaa	gcctctcttc	atcggttaacc	cttttctctt	gtnnnnnnnn	nnnnnnnnnn	21060
	nnnnaagccc	ttccttagca	tctcactgga	ggtagcttca	ggcagcatca	ctttagttat	21120
	tcgccagcat	tgctctcttc	ccgccagtgg	gaaccaacta	acaagtacac	tctcaggtat	21180
45	gaacttaagt	acaggcaagt	caacagattt	catatgcac	caaatgacac	gttaaatata	21240
	aagctttgct	cacctgcctt	tgtacaggag	tctgctgctg	ctgggtttta	atgaaactta	21300
	aaggctgaat	caaagcctta	ttagtgggag	gatctttgac	atgaaattct	ttttgttcag	21360
	tataatttgc	attttgtatt	catttgaaaa	attgtcctgt	gcattttgtt	gaatatcgag	21420
	aatagagAAC	tgagtgatcc	ctgggtttat	gtgggtgata	ttgtggaaat	aagagggtgt	21480
50	gtggtatgta	cagctagtcc	ccaaatatga	ttgtatttta	ctagagatag	agaattcaca	21540
	gtgactngaa	ctattcaggc	tgtaaaatat	aggaaccatc	tgccatagaa	taagcatatt	21600
	aggaaaatgc	cacctattcc	tacattagtc	tggcccttgc	tcacaaattt	cacatgtact	21660
	catatgtttg	ttttccgtgt	ctctgattga	tgacagctagc	taatgcctaa	tgacagtttt	21720
	tttaatcatt	ccctatatat	atttttttat	tttattatta	tactttaagt	tttaggttac	21780
	atgtgcacaa	tggtcaggtt	tggtacatat	gtatacatgt	gccatgttag	tggtctgcac	21840
	ccattaaact	gtcatttagc	attaggccta	tctccaaatg	ctatccctcc	cccctcccc	21900
55	cacccacaaa	cagtccccag	tgtgtgatgt	tcgcttctct	gtgtccatgt	gttctcattg	21960
	ttcaattccc	acctatgagt	gagaacatgc	gggtgttgat	tttttgtcct	tgcgatagtt	22020
	tgttgagaat	gatgggttcc	agcttcatcc	atgtccctac	aaaggacatg	aactcttcat	22080
	tttttatggc	tgcatagtat	tccatgggtg	atatgtgcc	cattttctta	atccagctct	22140
	tcgttgttgg	acatttgggt	tggttccaag	tcttctgtat	tggaatagt	gccacaataa	22200

ES 2 271 092 T3

	acatacatgt	gcattgtgtct	ttatagcagc	atgatttata	atcccttggg	tatatacca	22260
	gtaatgggat	ggctgggtca	aatgggtatt	ctagttctag	atccctgagg	aatcgccaca	22320
5	ccaacttcca	caagggttga	actagtttat	agtccctacca	acagtgtaaa	agtggtcctg	22380
	tttctccaca	tcctctccag	cacctgttct	ttcttgacat	tttaattgatt	ggtgtgagat	22440
	ggatctctat	tgtgggtttg	atttgcagtt	ctctgatggc	cagtgatgat	gagcattttt	22500
	tcattgtgtt	tttggctgca	taaatgtctt	cttttgagaa	gtgtctgttc	atatccttca	22560
	cccacttttt	gatggggttg	tttgtttttt	tcttgttaaa	ttgtttgagt	tcattgtaga	22620
10	ttctggatat	tagccgtttg	tcagatgaaa	aattttctcc	cattttatag	gttccctatt	22680
	cactctgatg	acggtttctt	ttgtctgtga	gaagctcttt	agtttaatta	aatcccat	22740
	gtcaattttg	gcttttgggt	ccattgtctt	tggtgtttta	gacatgaagt	ctttgccc	22800
	gcctatgtcc	tgaatgggtat	tgcttaggtt	ttcctctagg	gtttttatgg	ttttaggctt	22860
	aacacgtaag	tctttaatcc	atcttgaatt	aatttttgta	taagggtgta	ggaagggatc	22920
	cagtttcagc	tttctacata	tggttagcca	gttttccag	caccatttat	taaataggga	22980
15	atcctttccc	catttctgtg	tttgtcagg	tttgtcaaa	aacagatggt	tgtagatag	23040
	tggcattatt	tctgagggtc	ctgttctgtt	ccattgatct	atatctctgt	tttgggtacca	23100
	gtaccatgct	gttttgggtt	ctgtagcctt	gtagtatagt	ttgaagtcag	gtagcttgat	23160
	gcctgcagct	ttgtctcttt	ggcttaggat	tgacttgggt	atgcgggctc	ttttttgggt	23220
	ccatattgaa	tttaagtag	tttttccag	ttctgtgaag	aaagtcattg	gtagcttgac	23280
20	ccatattgtt	ggaatgaaag	actctcagc	aaatgtaaaa	gaacgaaat	tataacaaac	23340
	tgtctctcag	accacagtcg	aatcaacta	gaactcagga	tttaagaaact	cactcaaaac	23400
	cgctcaacta	catggaaact	gaacaacctg	ctcctgaatg	aatactgggt	acataatgaa	23460
	atgaaggcag	aaataaagat	gttctttgaa	accaacgaga	acaaagacac	aacataccag	23520
	aatctctggg	acacattcaa	agcagtgtgt	agagggaaat	ttatagcact	aatgcccac	23580
	aagagaaagc	aggaagagtc	caaaattgac	accctaact	cacaattaaa	agaactagaa	23640
25	aagcaagagc	aaacacattc	aaaagctagc	agaaggcaag	aaatagctaa	aatcagagca	23700
	gaaactgaag	aaatagagac	acaaaaaac	tttcaaaaaa	ttaatgaatc	caggagctgg	23760
	ttttttgaaa	agattcaaca	aattgataga	cctctaacaa	gactaataaa	gaagaaaga	23820
	gagaagaatc	aaatagacgc	aataaaaaat	gataaagggg	atatcaccac	cgatcccaca	23880
	gaaatgcaaa	ctaccatcag	agaatattac	aaacacctct	acgcaataaa	actagaaaaa	23940
	ctagaagaaa	tggataaatt	cctcgacacg	tacacctctc	caagactaaa	ccaggaagaa	24000
30	gttgaaattc	gaatagacc	aataacaggc	tctgaaattg	tggcaataat	caatagctta	24060
	ccaacaaaaa	aaagtccggg	accagatgga	ttcacagccg	aattctacca	gagggtacaag	24120
	gaggaaactg	taccattcct	tctgaaacta	ttccaatcaa	tagaaaaaga	gggaatcctc	24180
	cctaactcat	tttatgaggc	cagcatcatc	ctgataccaa	agccgggcag	agacacaacc	24240
	aaaaaagaga	atattctttg	aatatctttg	atgaacattg	atgcaaaaat	cctcaataaa	24300
35	atactggcaa	accgaatcca	gcagcacatc	aaaaagctta	tccaccatga	tcagggtggc	24360
	ttcatccctg	ggatgcaagg	ctggttcaac	atcgcgaaat	caataaatgt	aatccagcat	24420
	ataaacagaa	ccaaagacaa	aaaccacatg	attatctcaa	tacatgcaga	aaaggccttt	24480
	gacaaaattc	aacagccctt	catgtcaaaa	actctcaata	aattagggtat	tgtaggggag	24540
	tatctcaaaa	taataagagc	tatctatgac	aaaccacag	ccaatatcat	actgaatggg	24600
	caaaaantgg	aagcattccc	tttgaaaact	ggcacagac	agggatgccc	tctctcacca	24660
40	ctcctattca	acataatggt	ggaagtccct	gccagggcaa	ttaggcagga	gaaggaataa	24720
	aagggtattc	atttaggaaa	agagggaagtc	aaattgtccc	tggttgcaga	tgacatgatt	24780
	atatatctag	aaaaccccat	tgtctcagcc	caaaatctcc	ttaagctgat	aagcaacttc	24840
	agcaagctct	caggatacaa	aatcaatgtg	caaaaatcac	aagcattctt	atacaccat	24900
	aacagacaaa	cagagagcca	aatcatgagt	gaactcccat	tcacanttgc	ttcaaagaga	24960
45	ataaaaatcc	tagnaatcca	acttacgagg	gatgtgaagg	acctcttcaa	ggagaactac	25020
	aaaccactgc	tcaatgaaat	aaaagaggat	acaaacaaat	ggaagaacat	tncatgctca	25080
	tgggtaggaa	gaatcaatat	cgtgaaaatg	gccacactgc	ccanggtaat	ttacanattc	25140
	antgccatcc	ccatcaagag	attttttttac	acattccata	tgtgaatata	ctattttctg	25200
	attcagttct	gacttttatt	ccattatatg	tgaatgtgtt	tctttactat	ttttctatca	25260
	gtttccctcc	tgggtcaattg	actatatggg	aaaatatatt	atccattcaa	tattcaaaaa	25320
50	tagttttattg	aggacccact	atgtgctagg	catttgatca	caacagtga	aaacagagaa	25380
	aaaatccttg	ctttcatgga	gtttacaaat	tctaccaaag	gaaacaggaa	ataatgaaaa	25440
	taagtaagta	aaataaatag	catgctacat	agtaataagt	gtcaaggaga	aaaggaaagc	25500
	agacaaagag	aggggaaggt	gtgagcagga	attgcagttt	cagataaggt	ggccatgaag	25560
	gtgtcccttc	aaggaaaaatg	tagtagttgg	gaaggggcaa	gtcacatggc	tctctgggga	25620
	agagtgtgca	gggcatcggg	agcagccctt	gcaaaggcct	tgagaaggaa	gcattgcccc	25680
55	tgctctcctc	ctcatatgag	gaggccaaca	ggctctgaat	gaagctatgg	agaaagagaa	25740
	aggggaatag	attggaagg	taacaaggaa	tggatcacgt	agagccttcc	agggcaacgt	25800
	aatgaccttg	gctattcctt	ttaaatgaga	tggaaagccc	gtggagcatt	ttgagttagag	25860
	gcgagacaaa	actgatcagg	acaactctgc	ttgctgggca	gagaatagaa	tcaagggaag	25920
60	caatgacaga	agagactgtc	ctaagagctc	aggcgagaga	tggcagtggc	ttggacaaag	25980

ES 2 271 092 T3

	gtggtagcag	tggagggtcac	agaagatgct	gaatatagtg	ttcatgttta	ctttatggga	26040
	tttactaaga	gattgggtgt	gtgttaaaag	gaaaagatca	ttctaaagct	tctggcctca	26100
5	gtgattagat	agacttgcca	ttaacttcca	gaagagcatg	tttgagggga	aatatgagga	26160
	tctcggtttc	attacatgtt	aagtccagtg	aatgtgatta	gattgaaaat	gctatagctg	26220
	gtagaatttt	ttcacttttt	atgtcaaaac	agaaaacatg	attgaataat	gaaaactaca	26280
	catgctcaat	ttttttaaaa	ttgttttctt	tgacacagta	aaggatcaat	gagacttgct	26340
	taattcttgt	caagaataca	aagtcaccaa	tggtgagat	gaaaatattt	tccataaagt	26400
10	aaaatgatca	aatttgcaaa	agcttggtta	catgatgtga	atttctactca	aaccacaagg	26460
	cattacacta	gagtcctgct	gaaatttaag	acagactgtc	ttaggaatta	tttgccaata	26520
	gacaaaatga	atatggggtg	gttgatgtgc	tgaagtggcc	aatgagcatg	ctttgattga	26580
	cagatgagga	aatgtatccc	tacattttat	caaactatgt	ggtgtctgat	ttatatcact	26640
	gaggtggcca	ttcattatgg	tcatgaaactg	tgaggtcaaa	gcacttgcaa	aaacttgcca	26700
	aaatacttcc	tattccagta	ctaaatattt	ctcatatttg	tttgccctaga	ataacaagat	26760
15	gcaggcttgg	tagtccttcc	aagaatgtga	atttcttttg	tatgtctgag	tttagtaatg	26820
	ttgaattgtg	tgtgtgtgtg	tattattctt	aagactttgc	ctgtatttta	acattttatt	26880
	tggttaaaat	agcattattt	tggaagatt	tttaaagcct	tgaaatggga	caaattaaag	26940
	tataatgctt	ttctttgaga	aataatttat	tgctccatgt	tggtgaatca	taccattagt	27000
	catgaaacca	aaaccctata	tttaaaaagt	aacaatctca	tattcaaaagt	atctcctttg	27060
	aacattttcaa	agaatcttaa	gcaaatcttt	atgtgacatt	aaattgtaca	ttttaccttg	27120
20	ttatttttaga	tctatgggtg	gagttcattc	ttcgggctaa	gtgtaggtat	gaagtgtgaa	27180
	tttctgtgtc	ttgggtatgc	agtaacttag	ggcaagggtta	gtagagtggc	ttttgtgaga	27240
	aaaaaagagc	tgttttatca	gacatcagtt	ggaactttgc	cttgttttgt	ttccctgaac	27300
	cgctccaatct	gcttcataata	cttgtgtgaa	atcctaaaat	gtctgtatgt	caataatttt	27360
	tagttagcat	attttttcca	aacagacatc	cttgtgaaca	tcagccgttt	ctgagaaactg	27420
25	ggccacgga	ccatagctac	tttgagtctc	agtctatgta	atagttgggg	taaagtaagc	27480
	tttaagagga	gaactcacia	cacaatggct	caagcaagac	acaagtgtat	ttctttctga	27540
	agctgccatc	ctgggtatgt	gggtatttgg	atgagctggg	ccccatgaag	tcaccccaaa	27600
	gtgcaggcct	ctgtggcatc	tctgccaaac	tcaacactta	ctctccaagt	ctgtcctttg	27660
	cttctctatt	tctagctggg	ggaagggaag	ggaaaaatga	gtccagggaa	ggagtttttg	27720
	tagatggcct	gggagttgca	tacatcagga	agaactttgt	cacaaggcca	caactccttg	27780
30	caggaaatct	taggaacatc	attccctcac	tgagcagcca	tgccgccagg	aagaagagaa	27840
	gaatggagtct	agagtcgcaa	gcagcaatat	ctactacagg	cttaataaac	caaaggacaa	27900
	aatgcccagt	ccattataaa	tattattccaa	aaatgaagcc	atgaaatttg	acttcatatta	27960
	ttgaagtcac	aaacaaattta	ttgttatgaa	ctaattttctc	tattttatat	ttctcaaagt	28020
	attacatttt	taacacagaa	caaagccata	gttagaattt	cagtaatcgt	atggaatctc	28080
	caaaagggtac	acccaatata	cccaaaagct	aaaccagagt	cactgctaaa	ttttatatattg	28140
35	ttctgattta	cctaacagat	tagtgaaaat	aattaaaatc	ttgctgcttt	ttaaattttta	28200
	aataatcggt	tttggttaga	actctaagaa	tatttaaaac	tatctttacc	tactcttgtt	28260
	ggacaatcat	ttagggagct	aagagtgcag	agaaggcaga	gaaatgttct	cctcaaccca	28320
	agcaaaagca	cagaagaact	attgctaact	caaaatgcag	gaaggaaatt	tcacccctcc	28380
	tcctctccct	ttctttgggc	tagtctgttt	aactttaaaa	gcagaatttt	tgctctcaca	28440
	aagtatacca	gacaggaatt	tgttcaaatt	cctcaaaacc	aagccaagaa	aagtttcaga	28500
40	aatgttcagac	atgcattggca	gagtggaaag	aacatagtct	gtggaggcga	gcacggattc	28560
	attggaatgc	cgctccagac	atccactctg	ggtgaactca	gggatgtgtt	tagtctcatt	28620
	aagccacagt	cttttctatt	ttaatgttaag	agtgtataaga	acgacttgcc	agtgtgttgg	28680
	tggagaactg	aaatagagaa	aggcctgggt	tgtaacagga	tgtttctctc	catctgtgta	28740
	atctgtgaca	gtcctaggaa	gttcaaagtt	atgactgttc	tggtgtttgtg	gccaacagtt	28800
45	gtctgtggct	tccatgggtt	ggagctgtct	aatggggccc	agnccaccat	cgctctgctc	28860
	agaagctaat	cataccaaaa	catgaggttt	ttctccaagc	gacaaagagg	ggctaagcac	28920
	ccaaggatct	ccataatagt	agcaggaaaa	tgaagctgag	accttaccct	gacttagaag	28980
	ttcataacaa	taatggcccc	aaacaagatg	ctcatgtcta	ttggtgtgtg	ttataaatca	29040
	tgcaacaaca	tgaacttcaa	acccagccta	tgcttggtctc	ttccaggggac	tgaaggcatc	29100
	tcagagcccc	accccttacc	tcagaaaccg	cagggaaggag	cctgggttct	cagagtccaa	29160
50	gaaaaatgac	ctgataatag	cactgaact	tcctccacac	aaagaaagcc	tgatagggac	29220
	aggggatata	gcttgcatgg	agggcaggat	ccaaccacac	gtagcacttc	cttgccatgc	29280
	gaccttagca	aatggcttaa	ctcgctttct	gtatcagtaa	aatggtgttt	gtagtactaa	29340
	ggtgtcagtg	aggattaaat	gagccaagcc	tgaccacacg	caattcatga	caagtctcag	29400
	ccactttaat	gaatgtgatg	atattctaac	gtttgggatg	ctgaggtgga	ggacgatggt	29460
	gtccacacct	ctgcamaatgc	catgtgaaca	ctgaagctac	acaagcaatg	gctctaaagt	29520
55	caaagccagc	atcaggactg	gtataaaaga	atcaccagga	caagggcagg	gcagagggga	29580
	ggccaaagca	gctttgtcag	tgccctgcacg	gctggacctc	gaggaaatttc	tcgacataga	29640
	gggttaaaaca	acccattggc	ccacatttct	gaggaccgac	gtgggagaag	ggtcacatga	29700
	ggccatgaaa	tgggcatctg	cagaggaaat	ggaagccagt	gtctggagac	aagtggagcc	29760

ES 2 271 092 T3

	attgagctag	caatgcgtga	tagatactgt	gggaagggat	gtggggaatg	cagcacctct	29820
	caagggaggt	ggctgagctc	ggcaatgagg	gcctggggca	tccttagtca	gcaaagcagg	29880
5	tctgcagcct	cgggagctct	ggcagctggg	gtgggtcacc	aactggcctc	gggcaccatt	29940
	catggaaatt	aatctggata	gtccccctct	ggagaccctc	caggatggca	gatgagcaga	30000
	ctggccgggt	ttcaaagtct	gctgacctct	ataattgttg	ctcttcacat	ggccaacac	30060
	actcttccct	tttacctgtg	tttctctctt	gaatatcttc	accagccctc	ctccctgacc	30120
	tctctctgct	ttgttacttt	cctttgccca	tttaactctac	atthttatgtt	ttgtccagat	30180
10	taacatacct	gtgtttctac	tgccaggcac	tggcccaggc	cctaggaata	tgggtggtgac	30240
	caacacagag	tggctgcttt	catggagttt	acaatctaca	aagggaacaa	aaggataaac	30300
	aacttttaaac	ttttaaattt	ggacaactct	ttataaatac	tgcatttttt	caataaaatg	30360
	agataaacia	tgggtataaac	tacattgtac	agaatctgtg	tctccctaaa	attaagactt	30420
	tgagataaaa	ggagacaaag	ggtattgttg	gacttgaatt	tgctcgtgca	ataagattaa	30480
	aaccttgaat	attagccttt	ctcttctttg	ctcttctttg	agtagagagt	agttgtgagt	30540
15	tctaggtcaa	aacataaggg	ttaaaaggct	ggaaaaatta	aataggccaa	atgaaagaat	30600
	tgtcttgcct	aaatgtctat	gtagatgata	aatgtcctct	gtgcctctct	aacttcaatg	30660
	atthttgtctg	gatattttat	aagcgtccat	taggcaatag	caaatthttat	caactataag	30720
	agaattacga	aacacaacta	tcataggaga	tacttattht	cttccaacca	ataagtaaac	30780
	accagtgtat	agaagcgaga	aagtgaacag	attaaccaag	taagagaggt	ggatacaaca	30840
20	ttcaactcca	tttcttcatg	tcaccaataag	agacaacggt	tgacctgccc	tctcattcct	30900
	aatcttctgt	aatgaatcta	gtacagagggt	tcataaaaaac	cgctcagggt	ataatgccgg	30960
	attttgtctaa	caacaataaa	caataatttt	ttctttaaata	attattccag	gccaggccgg	31020
	gtgccgtggc	tcatgctctg	aatccagcca	ctttggggagg	ctgaggcggg	cggatcacga	31080
	gggtcaggaga	tcaagaccag	tctggccaac	atgggtgaaac	ccccatctct	actaaaaata	31140
	caaaaaatcag	ctgggctgtg	tggcaggggac	ctgtagtctc	agctactcgg	gaggctgagg	31200
25	caggagaatc	actttaacac	gggaggcgga	gattgcagng	agctgagatc	cagccaccgc	31260
	accctagcct	ggcaacagag	caagattccg	tctcaaaaaa	aaaaaaaaaa	gaaaagaaaa	31320
	aaattatctc	aggccagggt	tgggtggctca	cacctgtaat	cccaacactt	tnggtggcca	31380
	aggtgggtgg	accgcttgag	ctcaggactt	caaggccagc	ctgagcaaca	tggcgaaacc	31440
	tggctctctac	aagaaataca	aaaatttaac	aggcgtggta	gtgagtgctc	gtagtccag	31500
	ctcctcatcc	gcctgtaatc	ccaggcgagg	attgaagtga	gccgagatgg	caccactgca	31560
30	ttccatctctg	ggtgacagag	ccaaaccctg	tctcaaaaaa	taacaaataa	cacaccaggg	31620
	cctgtcaggg	ggtgggaggg	aaggggaggg	agagcatgag	gacaaatacc	tagtgcatgt	31680
	ggggcttaaa	acctagatga	tgggtcaata	ggtgcagcaa	accatcatgc	cacatgcata	31740
	cctatgtaac	aaacctgcac	attctgcaca	tgtatcccag	aacttaaat	taaaaaataa	31800
	ataaaaaata	taacataata	aaataacaaa	aaagtcttta	catctgaaat	aagtgtactt	31860
35	aaaattaaaa	ataaaattaa	agtacaaaaa	cttaaaataa	aaatcatttt	agatatttcc	31920
	tcagatttaa	atggagggtca	ttgaagctca	aacacctggc	tgcaaagtga	tttgtatgac	31980
	gaacacctac	actctacaaa	aagacttatg	aataccctgc	attgggtgat	gaacaagaac	32040
	agtgagttat	accttctgaa	tagtgaatta	aataaaatac	tattaaagtt	ttaaataatt	32100
	gccaatgtct	ccatatttct	ctgcatgtta	gagtttagct	agtgtttcca	gggatgattt	32160
	ttctgtattc	ctccagtgca	ggaatagcca	gtcagtatta	ctccatcagc	cacagcaca	32220
40	atgtctgatt	gctctcttga	ggctcgttagc	ccagatactt	gctagaaagg	tatgattgct	32280
	ggccaaatga	gctctggcct	gggtgcagcc	tcttgccaat	gtgcctaata	agagcgcgga	32340
	aagacatttt	attccaggca	taagcaggcc	agatcacagc	tgcccaaagc	tctctggctt	32400
	tgattaaagt	tgtgtgtgta	ttatgtaatg	ggtagttgaa	ccatattccg	tgaatgaccg	32460
	ttttctcttc	tctttcgcca	ctattctaag	tatgttgtct	gtatctaata	ttgccttgca	32520
	gttagtttgt	aaaatcaagc	agaaaagaaa	acaggcaaat	attaaaacgt	aaatagaaaa	32580
45	agttgtctgg	ggggaataatg	acttataatg	cattattctg	acataaatgc	ttgggggtcca	32640
	ccaggagaat	cgccccatca	caattcagcc	tctctctgtg	ctaatagacg	ccttttctac	32700
	ctgtgctggt	agtgatgcct	aagccaaatt	gtgaccaggc	agactagacc	acatgtaagc	32760
	agagaaccac	gtctttgtag	acattaattt	aaaactcgtt	ctaatacaat	atgttccattt	32820
	atctgtacta	tttttgatct	atatcttaaa	tcaaaacgaa	gcttttttga	cttctgggtt	32880
50	ctgtttctgc	ttgtaaaagag	ccttggaggt	atcaatcctg	tcttcataac	aagaaaaatg	32940
	ctgagcacac	tgaagctcag	taactggaaa	tcaacagtg	tttaaaagtt	aattgggttac	33000
	aatthttctca	tattcttctc	tcacctctgt	agagttcttg	tctacattgg	aaatgctgga	33060
	aaagtaggaa	tatacagtac	agagctttct	tggcgacata	acttaataca	tgaaaaatga	33120
	tttttaattt	tagtttaacc	tttaaaactg	aatctgtagc	acattggaaa	aaaaaaacct	33180
	aaaccagttg	aacaaatttc	aatthttaaac	atgttttcag	gctttgggaag	cttactgaag	33240
55	aatgtggata	gcaaatacag	gaaaaattct	gtgaatattt	ttattcacat	atgtaaacgt	33300
	gaagttataa	gacagaacaa	tttccccatg	tacaagcttc	aaatthtttag	cagtttagtta	33360
	acattttctca	ttcagtttta	accatttaagt	tgtaatatta	ttacaaatga	tattagaaca	33420
	catctttgct	tttagtgctg	tattataaat	atttaaatga	atgacattca	gtgtaaatth	33480
	ggtagttatc	gtaatacaaa	taagaacttt	attthttagtt	aattccatgt	gttattttgta	33540

ES 2 271 092 T3

5	tttcttatct	cacatattatt	taaaattaca	tttgggtccct	atcactcagg	tatgtttctt	33600
	ccctcccacg	tagacctaat	cggatttttt	aaaattggat	tttaactctgc	ctttataaac	33660
	aaacgtcaat	tatttatttc	caatcttggt	tgatcttttt	attccgagat	tatttactag	33720
	ttcatttcagc	cttcctatta	aaaataaata	aataaataaa	taattgctct	tgtagctctt	33780
	ctgaggtaga	ctgaccagg	ctaccctatt	gttaattttt	gcattttcat	ttttattgaa	33840
	tatgtatgat	gatgcagata	tgaacccatgt	gcatactctca	gaataggagg	aaaaatatct	33900
10	tagtactttt	gccaaatgct	tggttctaat	ttttggacta	ttatgaattt	tttatgtcat	33960
	aactattatc	ttaacattat	gcgaacttct	agcccttttg	cttcaatttc	ctttgaaaaag	34020
	atttcccttc	aataaatctt	taaaatatgg	gtgacaaaaac	taaaagaccc	tcagaggaaa	34080
	catattttctg	gtatgacata	ttttgtgtac	tctttaggac	aattgaaaag	cttctaatta	34140
	acattttctt	agcgcccttag	tggtgatcag	cagtatcatc	actgccctag	tgcatccatg	34200
	gaagttgagg	tccagggtgt	actgactcac	acagggtacc	taggtaagaa	gtaatggatg	34260
15	actggaatgt	taggaactgt	aaatgacagc	taactgtggc	aaagcgtagg	gtttgtttt	34320
	tttttttctt	gtcttgtctt	tttttttga	gacagagtct	tgctctgtcc	ccgaggctgg	34380
	agtgcggtgg	tgtgatctcg	gctcactgca	ccctctgcct	cccaggttca	agcaattctc	34440
	ctgcctcagc	ctcccaagta	gctgggatta	caggtaecatg	ccaccaggcc	tggataaatt	34500
	ttgtattttt	agtagagaca	aggtttcacc	atggtggcca	gggtgggtctc	aagctcctga	34560
20	cctcatgac	cacctgcctt	ggcctcccga	agtgtctggaa	ttacaggcat	gagccactgc	34620
	gccccggcctt	tcttttcttc	ttaagacaac	taatggaaaa	taaacttcca	agaagctctt	34680
	ttgacctgac	ctcactgtct	ctcaaaggca	gaatgctgat	tcacaggctg	aggggtatct	34740
	gaccagggtt	ctttgctacc	cttactctca	gcctacctgg	aaattgccga	gcgagggggg	34800
	cgcaggaggt	gctgtagttg	gcgtgtggac	tgagcgtcct	gggaactggt	ctgctgtagt	34860
	acctacactt	tectgccaat	gtcagcatcc	ggcttgtcaa	cacttctttt	ccatttgtga	34920
25	atactatagt	gaaagccctt	acctctcctt	tctttgaagt	attctctgtt	cagaacttgg	34980
	aacttttagaa	attttctaca	tttaaggaaa	catattttcaa	ctatgattct	ttattactta	35040
	taaaaaatta	acttagaaga	tatatgtaaa	catgtgtatg	gtttaaggta	acaaagttag	35100
	tttaccata	tggcaagtgt	tgccaaaaga	gtgcttaagt	gtaaaaaaca	aacaaagaaa	35160
	ccaaatcaa	aattaaagta	gctcaaaaac	ataaagttta	taaatatttt	taaggcat	35220
	ataattttta	aaaagtcctt	ttatgtttgt	cccatgttct	ggaatagcaa	ataaaaaaatg	35280
30	tgtttttt	tttatttctt	tttattgcct	tgatatgcca	cgtggcaagc	ctcagctggg	35340
	gtgtgtggag	cacatgactt	gagtgtgtgg	acaagtgtgt	ttgaagatta	ttattacagg	35400
	cacaatgtta	cagcacagtc	tatcaggga	aaatctctaa	gtttattttt	ttgaggctga	35460
	gcgtggtggc	ttatgcctgt	aatcccagct	ccttggggagg	ctgaggcaga	aaattgggtg	35520
	aaccaaaatta	gtgaaggctg	cagtggagcca	agactgtacc	actgcactcc	agcctgggtg	35580
35	acagggcgag	actccatctc	agaaaaagaa	aaaaaggaaa	ggaagaaaga	aagagagaga	35640
	aaaaaaagag	aaagaaagga	aggaaaggag	gaaggaaagga	aggaaaggag	gaaggaaagga	35700
	aggaaaggag	gaaggaagga	aggaaagaaa	gaaagaagaa	aaagaaaaag	aagggaaggaa	35760
	ggaaaaagaa	aggaaagaga	aggaaaggag	aaggaaaggaa	ggaggatcgg	agggaagaaa	35820
	catgggtttac	agagggtttta	ttcactagga	tggtaacatc	ctcccaagta	atttagttct	35880
	agctgcttta	tcgttttagta	aatctctgca	attcaggatg	cacctttctt	gctgttgcctg	35940
40	gtctgctgat	ccacatgac	ttatttcatg	tatgtggatc	atccagccac	cgtgacaaa	36000
	gtttcattatg	ttgagtcag	atgtccacct	taagagtaca	caccctctgc	tgtctgcttt	36060
	ttttttta	tatgtcacac	taaaatacatt	tactttatga	taactactgt	tgggtgtacaa	36120
	tttactctta	ccacagaacc	agctctcagt	taagaagaaa	gtgctgagat	gggtgtgggga	36180
	aatttgggtga	agaaaaacat	tatagtaagt	tacagtcaat	ctcactactg	acctttggct	36240
45	aaaatttttt	ttaatatgtg	gctaaaatct	gcataacaga	tggtatatct	gagtgaagag	36300
	attatttagag	gatgagagaa	actgagagtt	caccaaaaat	aaaaactaat	aattgcaata	36360
	tagattttgc	catcaaaagt	gacctcaaat	gcaagtttgt	agctgaattg	aagagggtggc	36420
	cactttgttc	ttaatctggt	ggctgctgct	taggtttcat	tgtagaggct	actgagctgt	36480
	tttgcaagtt	tgtattatct	gtctcatgat	ccagacagaa	ccagagctca	ccaacgtgga	36540
	tttaagaatta	gtctgttttc	ttctgtgttt	ttctatgaat	atactgaatg	tctcatcttg	36600
50	attcagaaga	aaaacctgaa	agcttaccca	aaaacaaaca	aacaaacaaa	caaacaaaca	36660
	aaaaaaaccc	tgtgtgtggt	ttgtcttggg	acagttcaga	aggcagtcac	ttaatttctg	36720
	ttgggaacat	tttgacat	ttatttcat	caaaatatgt	taattttatt	tcgattttaa	36780
	ttaatgtact	tttgtaattg	cttattccgc	aagcagagat	agcctccctt	cccccaaat	36840
	ctaagatatg	catgtatata	gtcatcttac	tacatagcag	gaatttttaa	aagaaataag	36900
55	cttttcttct	cagtgcctag	ttgttaaaac	agcaaaatga	taaaaattta	tgtaatggta	36960
	ctattgagct	gtctactgtg	tggaacaatac	tttatacaaa	taagcaatgt	cttaggactc	37020
	aggcttttag	ccttcaaaaa	cttcaaaaga	agaatgaaat	gtcattttta	agtcttgtat	37080
	ttgatctcaa	gtgaagagat	tcaattcatt	tcaaaaatac	ttaatataaa	ttatatgcta	37140
	gacctgtgc	taggcactgc	agggcanaag	ctgaagaatc	agagaggctg	tcaagttaga	37200
	aaagtgttct	tcaattggca	atttttccaa	caagggccac	tggtgaatgt	ctacaagtat	37260
60	tttgggttgg	gggttgcagg	gactgttggga	atttagtggg	tagaggctcag	gggtgtggct	37320

ES 2 271 092 T3

5	acacatcttg	caatgcatag	gacagacctt	cccattaaag	catcatccac	ctgcagatgt	37380
	cactagtacc	aaacttacat	tttgtgtagc	ttcagcaagt	tctctcttaa	actattccatc	37440
	gctctctttt	ttcatttagt	ctgcagttta	ataagaatat	tgccctatgg	agcagttcta	37500
	gcactttggg	aggcccgagg	gagtggtatc	cctgaggtca	ggagttcgag	gccagccttg	37560
	ccaacatgac	gaaacccctg	ctctactaaa	aatacaaaac	ttagccaggc	gtggtggcat	37620
10	gtgctgttag	tcccagctac	ttggggaggc	tgaggcagga	gaatcacttg	aatctggagg	37680
	cagaggttgc	agtgcgttga	gatcaagcca	ctgcactcca	gcctgggtga	cagagcaaga	37740
	caccgtctcn	naaaaaaaaa	aaatagctgg	agattaggca	agttgtatat	atgtaaacat	37800
	aaaaagacag	aaacaataaa	aaaccaatat	agcacaaccc	accccatctt	gaacaagttg	37860
	tactttcta	catgcacatg	tgaaaaacatc	aagctcttat	ttgaccacca	ttcaggattg	37920
15	aatatttagt	cattgcaaat	gtagtgtgagc	aaataagtat	ctatttggag	tttaggatta	37980
	ggatcataca	cttccacagt	taaatctact	gactgacagt	agacagttca	ttgagacaca	38040
	ggtcctacat	agtcacatcc	gtagtgtggt	tgagttaacgt	gtaagtttct	tttcccttcc	38100
	aactgaaggg	gatgctcaaa	ctgagattta	accaggacaa	agtcaatcag	cttctctctg	38160
	aaaaggggtg	tgtctgatca	gagtcagctg	gaggatcaga	aagagtcatt	tagaaaagtc	38220
	tgagggaaac	tgatgatctt	gagtaacaag	aaagttgcca	ttttgttcac	cacagatgaa	38280
20	agtctattcc	agtcacagta	gtgaagccgg	ataatcaggc	caatttccata	aacagtagat	38340
	cagattggaa	gagttaaagg	accagataag	aaaacaagca	cctgtagcag	gatgaccgga	38400
	gtaacacaaa	ggatgattca	cgcaaaaggg	gtgcaaggac	taattctgca	gactcctata	38460
	gcttgttgtg	ccttgcaagc	ccaagagagg	ttcccaaagg	gactgaagcc	tggcagcatc	38520
	cagtgaatgg	gctctagcat	acctggttaag	gagctgtctc	agaagatggg	gtgttccata	38580
	tccctggagg	gggttaaagtt	caagaacatt	gctgaggatc	caaacactgg	gagagagaaa	38640
25	gaaatggatg	gtcataaaat	aaatcctctt	tgttctttta	aaaattctga	gtgtgggagt	38700
	gaaggtgatt	tttcagacca	agcccttggg	tactgactca	ttcttattcc	actgtctcgg	38760
	gcttcatctc	ccaattctaa	cttcccaact	tctgtcatgg	cagatcagg	attaccattg	38820
	ttagaatagt	actataggta	ttttgtgttt	ggagagaggt	ttagtggtag	gaccccgagt	38880
	ttgtagtgtg	ttgctagtta	tcatacacaat	tttatgaccc	tctcacttga	gagtggaatg	38940
30	acaatgtggt	tatgtaacct	aagactagaa	gaaacaaatg	ggagtactcc	caaaacacaa	39000
	atatctccacc	tcttttttca	tgggaaaaga	gtcagcagaa	gagggcaaa	cggtaaaata	39060
	aatcctaaag	gtaatcaaaa	cagatgggaa	tataattttg	ttcagagcta	taaaaaatat	39120
	cctctactat	tctcaataca	ggcagtggtg	agaaagtttc	aagggttagta	tttatcttct	39180
	aaacatagac	ttgtggtctt	cttatttaat	caattcaaac	caccagtggg	agaggtcaga	39240
	aagaatgaat	gaaatcagga	gaactgatta	tcatgagtat	cattgttgtg	attgcatttc	39300
35	ttgcacagct	ttaatttgtg	ccttgagagt	ttggggctctg	agaaagtagt	gctattccaa	39360
	gagctctcca	gggatatttt	tggaacaggc	cttattgttc	tctaaaaaat	taatgcgtta	39420
	tattcccgag	tgctgttgta	gcacatcttt	tcatttaaca	aaaatatggt	cgtttagcca	39480
	gaaatttttag	ttctataatt	aaaaatggact	aaaaatatte	tgtagccatc	ctagaaaaaa	39540
	tatttttaaat	gtatcaatgt	tcttctctaga	aattttccat	gttggatcaa	acagtagatg	39600
	aagacttttc	tggtgtgata	gcacgggttt	ttatgtttat	atatgagtg	gcaggtgttt	39660
40	taagagaatt	ttgaaaatca	gcaaagcaaa	gtcaattcac	tacaaaatag	tttccaaatt	39720
	atctgtgcag	tattataatt	gaggaagaa	taatacaaaa	gcaaatattt	gagaaatgct	39780
	ttcctatgtc	tgtaggctac	aaaatcattg	tttaatttat	caacaatctt	tgagtgtctc	39840
	tcagtgtctg	gtacagaaat	gaaagataca	gttttaactt	tagagtgtct	acacctactg	39900
	agggaaacaa	acaaggtaga	gaattcagta	tgacgagtg	catgagacag	ttgaatggga	39960
45	ggctctctgg	gagttactaa	ggccattggc	tagtgtagct	gagggcacag	aggagctgag	40020
	ctgggcagcc	caggagtctg	tcaagagggc	cagagggaa	cagtgcaggg	ccagcagcga	40080
	gagcgggact	gtgcaaaa	agtttcagta	gctacagttt	cttctctcag	gtcctccact	40140
	toccaaagaa	aatgaaagga	acatacattt	gattttttgt	agtttaata	ttggtcgacc	40200
	atttgaaaac	cattttttgaa	aagtgtattt	ttttgtctat	tttggcaaa	ccaggagtag	40260
	taaagagatg	aggaaggacc	atcttctgtc	attgcctttg	cctttgtaac	tgtaactttc	40320
50	tcacagcctt	tctacccagt	gtagtctacg	tatgggaaac	atttcttttc	atcgtcagcg	40380
	ttctctctgg	gagtggtttg	gttatacttt	cacgaattgt	tcacctcttt	gtgtcaacaa	40440
	accttctctc	ttgagctgta	ctgtgggttt	ctgtttcttt	cctttttntc	ctttgtccaa	40500
	ttagaaaaaa	aaatggagta	gaagtttcaa	ggctactagt	tcaatgtgct	cttttttact	40560
	tgactccaaa	tgacatcttg	cttcagatg	tgattaagaa	agatctggac	agggagaggg	40620
	aggataaatt	tcaatgttcc	tctcaaat	aactttatag	tgacaagctc	catattctac	40680
55	atgaaaatgc	tcagttaata	cagctattaa	acttgaatgg	tagataatag	tggattttctg	40740
	tagccactgt	ttggtttcat	tcaaaaacct	agaggaaaat	aagggatata	cattataaat	40800
	tgtttgttta	atgttaaaaa	tatgtttcat	attcagtgca	cataaagcaa	aggtattgtc	40860
	cagtgcttagt	acctatgaat	catcaataaa	aacagttgct	tctgtttgtc	gttgacattt	40920
	tatgtatgtg	ttgttctctc	ctgaaccttt	ttcttaaaag	tcaactttta	agaaacttat	40980
	aagtttactg	tggagagcct	atgaacagat	gcattgaggg	gcgcctgttc	atatggataa	41040
60	gatagggcta	taaatgccct	tatcttgcca	gggtctcttc	aggcctcttt	aggggttaagg	41100

ES 2 271 092 T3

5	catactccct	tctgagaatt	tgtgttgtaa	ccggttgtct	agcttcacgt	cctgtttcta	41160
	tggattgttt	gtaaccagct	tttgcctgca	ctgttactgc	tgattaatac	cttgctaatac	41220
	ataggttatg	gaaagactgt	tttctgtttt	aaggctctgt	tagaaattgc	tgatgcacac	41280
	aataattgtaa	attctttatct	ctgtatactg	tacttctgca	tacagatatt	atgtttaaaga	41340
	attacttcat	ccccatgtga	ccatctcact	tcataatcaa	atgactctaa	atccctcact	41400
	aaactacccc	cacctcact	aaacttaaca	ataaatgctg	gtatatccag	tacgttggcg	41460
10	gcatcacagg	accagaaggc	agtgatcccc	ctggaccag	ctttcactaa	aaaaaaaaaa	41520
	aaaaaaaaaa	agaaacaata	aacttagcca	ttataatccc	tcagaaaaac	attaactata	41580
	tttaaggata	ataagagaaa	ataatctctt	tttaacatac	ttattgatac	ataataattg	41640
	tacatatatta	tgggggtacct	gtgatatttt	gttttatgga	taaaatgtgt	aattatcaaa	41700
	tcaagatatt	taggatattcc	ataacctcaa	gcatttatca	tttctatgtg	ttgggaacat	41760
	ttcaaggacct	ctctgctagc	tattttgaaa	tacacaatac	attgtttgta	actataatca	41820
15	ccctcgtctg	ccatggaaca	ttacaactta	ttccttctat	ctaactctat	gtttgtacct	41880
	attataaatt	tcttttttaa	gccccagctc	caatcaagag	aaatataaat	agcatggtaa	41940
	aaaaaaaaat	tttttgacct	gatgatattg	gttcaatttc	tggttctacc	actttccacc	42000
	ttggagacct	tcatttaacca	gtgaccttca	cttttctttt	ctgtaagatg	gtattgataa	42060
	tatctgccct	catccccact	tcgccatttg	cctagctaata	aagacagaga	tttcccttagc	42120
	atgtttgtgt	aaagaggcta	gaaactcaac	atgctttaca	aataccagct	gtatgacaag	42180
20	gagttacagt	accaatgtac	aaaaatgat	ttttaaaatg	aaaggcagga	catttatgaa	42240
	gttatattct	atagaaagta	tattagcaca	cattaatgca	taataggcga	taggactgca	42300
	ctttgcttct	ttctcttagc	ttttctttcc	agcctctttt	tctcccttgt	catcaagtct	42360
	gcggctggac	ttgccttctg	ttctgcatgc	cttgggtgtt	gctgtgtgct	tgattcttct	42420
	ttctcatgca	caggctcaaa	gaaacagtga	ggctgcccc	acctgtgcaa	ctctctctct	42480
	tgttttggata	cttgggtcata	tgacacattct	agtttaaatt	tctgtgtaac	taaaaatgt	42540
25	atgagtggag	attgggtttta	tattctgtaa	taataaaaact	tatttataga	agtagaattt	42600
	attgaggtac	aaatgtttac	cagttttatg	aataacaact	tatatattat	ttataaaca	42660
	cttcaatggg	atatgtgtgt	gtgtttttct	acaaaagcat	attgagcaat	tattttcaat	42720
	tttatagtca	taaatgtatc	gtgaaatct	ttagaacct	acctgtgat	ttacaggaa	42780
	taagtcatca	aatcctttaca	acacagtaaa	gtctgtgtta	tttcccatct	tacagatgga	42840
30	gaaactaact	acagaaagac	tattaaagag	gcaagatata	atcacagttg	gatgtgtggg	42900
	gctttgttac	agaatgactg	agttaattcc	agttccctta	attattatct	ttgcattctc	42960
	agacaagtca	ctttatcttt	atatgcttta	gtttccctgt	ctgtaaaaca	tcttatagt	43020
	ttgttaggat	taaacacatc	ttttccctac	atggcatttt	aggttctctt	aaccaatgtt	43080
	aaaaaatcta	tccacatatt	tttagcttcc	ctttctttcc	attactagaa	gtactttcta	43140
35	tgaggtaatt	ctcccagaaa	atacaaatgc	ctatttgggt	attcactgcc	ttacattctg	43200
	gtgttcggta	acaccatgga	atccaaagac	aagctccatc	atatcaattg	tggagcctga	43260
	gatactttac	tctccctgtg	agaaagtgat	ttcaaatgaa	actcagttct	cccatattat	43320
	tcattttggt	taaaactata	gcaggtgctt	ttcagcttat	tgaatgtgtt	aggctccaag	43380
	tggcaagctt	taaatgtaca	tatccttttt	ttaatatac	atataatac	ttggtttgac	43440
	tgttttatttc	cttttccaca	ttattatttg	catttaacag	ctaaagggtat	aatatcaaat	43500
40	tattttatttg	ttagatgttg	aaattaccct	ggcttgaaat	cagaaacaac	tttattaaaa	43560
	ttttaagaga	acagtaaaat	gtgttgcatg	tgattctaat	caatttttga	agcacttttg	43620
	tcatttgagaa	ataaagtatg	gattgttttt	gattgttttt	ctggaaaatg	ctttcttatt	43680
	tcaaaagtca	gctgtgactc	agtctgtcct	cctctgtcat	gacaggaaact	agtatatcca	43740
	ccgtctatga	ggcgcctcca	cagggaaggct	gggtgttcc	catgtacaga	gcaattgaca	43800
	gctttccccc	ttggcgcttc	tacttctatt	tcactactct	cattttcttc	ctcgcttggc	43860
45	ttgtgaaagt	actgcgaaga	attgtactaa	gaaagtctat	gttctgtgat	agttctgcag	43920
	atcttttgtt	tgggttttgt	tgccctctgc	ttgtcattc	ttagactttg	gtaaatgtgg	43980
	tttgtgattt	ttttcagaac	gtgtttattg	ctgttatcat	tgaacattt	gcagaaatca	44040
	gagtacagtt	tcaacaaatg	tggggatcga	gaagcagcac	tacctcaaca	gccaccaccc	44100
	aggtaacgta	tcagcaagag	gatgttataa	cccattcgag	catgcacatg	tctcaccttc	44160
	accatcagtg	gaccttgggg	aagctcttgc	atgatgggct	tctatagtct	gactcaggaa	44220
50	gctgttttaa	aatacagttg	ccagtccagg	acagtggctc	atgcttgtaa	ttccagcaat	44280
	ttggggaggct	gagggagagg	gattgcttga	gcccaggagt	ttgagatcaa	cctaggtaat	44340
	gtagcaagac	cctgtctcta	caaaaaatt	ttaaaaatta	gccaagagta	gtggcatgag	44400
	ctgtagtcc	cagctactca	gtaggctgag	atgggaggat	cacttgagct	caggagggtca	44460
	aaggtacagt	gagctgcaat	cacaacactg	caccccagcc	tgggtgacag	agcaagatcc	44520
55	tatccccaat	aaacataaaa	gaaaataaaa	taaaacaggt	tcaaaggccc	aaacacagaa	44580
	caatcaaatc	agagcttcca	ggcagtgagg	taatgacacc	tatattttgt	aacagctccg	44640
	tgggtgtgtt	tgatacaaaa	ccaagatcgt	caaccacatt	tattacatac	ctttgattct	44700
	gacatcacaa	atcctcaaat	ggcttgtgga	taaaatgcaa	ccactatgga	atttcttact	44760
	tttatgggta	tttattcatg	tacttgcaag	cctatgtaat	gtctatgtgt	aggattagaa	44820
	ttttgtaatg	gaaaatatat	ttcattcaga	acaaaccaca	gtacaataaa	ctatgaaaaa	44880

ES 2 271 092 T3

	gatccctcaa	ccccaatgc	atgtttgtga	ttttttaag	aatccctata	tattcagaag	44940
	gattcccata	agttccatag	caatattgtt	tccataaaac	cataaggctc	ctgagaattt	45000
5	gaaggtgggc	tacagatttg	ctaaaagcag	cagggcagtt	attacaaaag	agggcaattc	45060
	agatccaatg	cctttgtttt	tatttttggg	tttgtttcac	gtgtgtgttt	ttgtgggtgt	45120
	aaaaaaagga	agggcagatt	tgtgtatctt	cttctagcgt	gaatctttat	aaaagagaga	45180
	gaaaatataa	attccagaat	caggaataaa	atgatataat	gccttgtaat	tattataata	45240
	ttaaatctta	aaggatattt	aacaactttg	taaaccacta	caaatactgt	taagacaaag	45300
10	gtatctatca	aggagccgag	gtgtacaaat	tttacttttg	aaaaccctca	agttgagctt	45360
	ttaagtaatt	tttgttaaaa	tgcaattaaa	ccactaattt	tgggaaaagc	ctgggtgtgt	45420
	tgaggcatct	ttatgatgct	gtaaaagtct	gaattgtcca	gtcaattcat	tatagatgaa	45480
	atagtgtcag	tcttatttcag	tttttacaaa	caactgttca	aacttccatg	aaagggtttt	45540
	tgaatatgct	atccagggtta	tatcagaaat	gccatgtaga	aaagccttca	agaaatcaac	45600
	ctaagcaagt	tctcatctcc	tctctctctt	ctttttgcaa	actatgagag	ataagaaagt	45660
15	tcccggtcca	ttccgagggtg	gcagcctcta	gaaggacatg	ttttcagtta	tgactttgag	45720
	acctaattgg	aatatgggaac	tatgatctca	gcccttaact	cacatgcagt	gttctctggag	45780
	atgacctaa	attcctttta	aaccatagta	tgtttatgga	gtaactctca	cgtataaaa	45840
	cacagtaagg	aaaaatagtg	tttgggaagc	ccaccaagtc	aggcaatggt	tctaatagaa	45900
	agggaaatgt	gaagagactt	ggaacaaagt	tgtacagaat	cattttgatg	caaaattgta	45960
	cttaatcaag	aggaataaat	tggtaatcca	gaggtaatgc	gtctagatat	tcagcagttg	46020
20	taatcataca	gagaattgtg	aaaaaccttc	attaagaaaa	atgctatagc	tgaggacctg	46080
	gttgcttaag	aaccaaagct	cctgtctgtc	gcctctgggt	gaaacaccac	tcaggcagcc	46140
	tagcaacgag	cttcaggccc	cgccaccctt	ggctagccac	ttgaggagtgg	gccctctgat	46200
	gcttttatgt	gtagagaaag	gagagacata	atttgccatg	atgctattat	gtttgtaaaa	46260
	tatgaccaa	ttccgtgaac	agggacttct	cattcagttg	tttaaaacac	tagatcacaa	46320
25	gttactaatt	tgaaggaaat	aaaaataaga	tgattattat	aatgcacaca	gcttttcaaa	46380
	catggaagta	cattcttgcc	tttctctagc	atatggaaaa	tttgcagttg	ttaaatatag	46440
	gctattctca	tcaaaggact	aaagggtcct	gggcttggtg	gacttggtga	tgctctaagtc	46500
	tgagacttcc	ccataacagc	catgtgtata	gaaaatatgt	gnnnnnnnnn	nnnnnnntat	46560
	atatatatat	atcatatatt	atgcacattt	tcagaacaaa	gaaggggcct	tctgttatat	46620
	taggcagctc	actaggaact	ggctctgaca	gggaccattt	caagggaggc	gaaaggaaat	46680
30	ctgtgatgag	aactgtttct	ttaaaataac	gaagcaatat	ttttcaattg	aatgggtcac	46740
	accaaatgcc	tccaagacac	agcataggaa	caaattacag	agacattaat	gccaagggtc	46800
	tttagggagc	cataatataa	catgttaactg	gaaaacagaa	ggaaaatgat	gtagaaaaat	46860
	tcaaattact	aaatattgac	tctggcctct	gagagccttg	tgatttcata	cctgcctgat	46920
	tcttagacgt	gggtaaactat	tgcttctgtc	tcagttgtgg	attgggttga	aggataagtg	46980
35	attcatacac	actgatata	atccctgctt	ttgttaatcc	actatagggt	taccagggcc	47040
	acaacttttt	agtgatgtcc	catgactgga	tggtggggat	tgagggtgag	ctgaaagacg	47100
	aagtcttgag	taccgtatct	cactaacccta	gacctttact	cccatatttt	agatgcttta	47160
	cttcagatag	ctgttatgag	ccccatggtc	ctctgatcta	gactagctca	tgatggagat	47220
	gagcttatcc	cacttttgcc	ttgagtagaa	ctcaaagAAC	tgctaaattt	tagagccaca	47280
40	caaggctact	tttctgttaa	aatggtagga	gacagaaagc	aggcttctga	cagtcaatac	47340
	atatctaact	tttataaatg	aatcataatc	caataggatc	atattgaagg	tttggtaaat	47400
	aattaaatct	tctgattgca	caaagacagc	aatcatttct	gggtctgtta	ttatctctga	47460
	ttgagcactc	ttgctgacat	gtgttttctg	aattaatatc	ccctaattaa	cagagaagac	47520
	tgataaagg	agaactgggt	tggaagaagt	gggcactttt	gagtttttct	cctttgggtt	47580
	tccatcaaca	ttcttagaat	atgggttata	caatgcctaa	agcaacttgt	gcataaatgt	47640
	tcagtgtctg	gttaaaaaag	agagaaaaaa	tgagtgaaaa	gacacatgat	ccaaaatgga	47700
45	aagaattttct	cctccaaaaa	gaaagctaca	tataacttaa	tgctcaaaga	aaatacttta	47760
	gcaaaaaatgt	gtttactgtg	ttccaagacc	atttattttc	tcatgaatat	acatcattaa	47820
	aatatgtgag	aaaacaattc	aattaatgca	tttcagggaa	gggtgcttct	agcatgggtg	47880
	aataatgagt	gccttctaat	aagaaccat	aataatagaa	tagtacaatc	atcataggaa	47940
	accataaatg	agaattaaat	tttgtgaggt	tgcatcattg	aatatatatt	ttcgtaatga	48000
50	aatcaaggca	ggtatccact	ttcactattt	tctgtcatag	tgactattag	ctattttttg	48060
	aaaaaccata	aatttttcaa	gaatccaaag	agcatgcata	ttgcaaaagta	aatttttagat	48120
	tttctctgca	ttactgtgta	tggtgatgtg	tggtgtcctg	tcttgagttt	ggaattctaa	48180
	ttcagctgct	agtgaattctc	cattaccaag	attctttctc	ttaccactat	ccatttagata	48240
	acctgttatt	catgttgttg	atgatgatga	tattatgcct	ataatggaac	aatcccagaa	48300
	gcatttttag	ctacttttaca	aaccaaccga	ccagttataa	aactgtagca	gttgcaaatg	48360
55	gacaggcctg	agagaattct	caaagttgaa	atctccatgc	gcttccaaat	gattgtgcta	48420
	agaggagagt	gccatggaaa	ttcatttgtg	ttattgggtga	gattctacta	attcagaaca	48480
	tcttcttaca	gtcactccca	tatattgaga	tctgcactag	tctaattggct	ttacaaactg	48540
	tcttatttaa	ttttcataat	aatactgtga	agtgggcact	attaatgtct	ccactttgca	48600
	tgtaaaaaat	gacaatgatt	ggaaagttaa	ttatctaacc	caatgttata	taactggcta	48660

ES 2 271 092 T3

5	gtggtaaaac	tgggactcaa	aaccaggttg	ctcagctgca	agagcctttt	tattcagcat	48720
	gagatgctac	cacctttcaa	tttagccatt	acaagccctg	ctgtcaacat	gctgtctttg	48780
	ttctggcctc	atgttaactt	ttcttttctt	aaaaaagaca	gtatttattg	ctggctgaaa	48840
	gggacattcg	catacatgtt	tgccaagagt	atgaattaaa	acatcttttc	cagaaaaccg	48900
	tttggcaata	tgtatccaaa	agtaaaacat	acatactatc	tgaccaagaa	agtccgcttt	48960
	tagaaatgta	tcctaagaaa	aattgggggc	agtagccaag	ggcataatgt	tgaggatgtt	49020
10	tatgaggcat	tatggcaatt	ttttaaaaaa	ggaacaatc	ttagtctcta	gcaataagtt	49080
	atcgattata	aattatgaaa	ttggaaataa	tgcaaaccat	taaaataaga	attgaacttt	49140
	attgatgtga	agatatgctg	atgacatatt	agtacaaaaa	aagatcctat	gtttgtctgt	49200
	gggatgcagg	tgtgtgtgtg	tgtgtgtgtg	tgtgtgtgtg	tgtataatac	ctggaatgtt	49260
	aactgtaaaa	tgttagtggg	gggtgtctctg	gggaatgggt	ttaagctgnt	tcttttgcaa	49320
	ctcatnccct	attttctaag	cctttaatag	taaaatnatt	taattataga	atgagaaagg	49380
15	aaaattacat	cagtnnnntn	nnaaaaanna	aattaatgga	catttctaaca	gaaaccacgt	49440
	atactagtta	agttacattc	agttgcaagg	gacaaaaaag	cccaaaataa	gttgcttagg	49500
	tgacgatgac	gatgaggaat	cccattctctc	ctcatataaa	gttggagggtg	ctcatttcagc	49560
	tgctgtgtgt	tgctgtgtgt	gccacggatc	cagacacctt	ccttctctgt	ccactttgca	49620
	cagcccccat	taccacagtc	accttgtaga	ctagcatggc	tgtgttagct	ctaaccctca	49680
20	catccatata	ccagagagca	ggaagaagaa	ggaaatcacg	gaaaagaggg	tttctgcttg	49740
	catcctatag	tcctgtatgt	agttacatgg	tcaagctcag	cttcaaaaaa	agggcaagaa	49800
	ctggcctttt	ttcttggtag	ccttagggcc	ccatacagat	tctctttgta	aaacaggaaa	49860
	aagagataca	aaggaaagac	tggcagtcctc	tgccacgctc	cccgcaggga	tttgagtctc	49920
	tgaggattct	tggcttctgc	tagctagccc	agcttctgtc	tcaaagatct	actgtaatat	49980
	taaccaatct	aaatgttgta	taattcaggg	gattaaagag	aaattgaacg	tttttgcatt	50040
25	tcctttactc	atttcataca	aataagtgac	cttgggagaa	cacttttact	gaaaattaaa	50100
	ttgattcctt	tgattttggg	ctattgaaaa	aaaaatttaa	gagagaaaat	tagtctgcta	50160
	ctgatcaaag	tcaatatatg	ccccagggat	cctttatgcc	acaattagag	agtataggat	50220
	gtatcaacag	agggttttta	ttaataactg	gtgactggca	atgctggttt	tgtcttttat	50280
	ccttaaaact	agggctccag	aattttgaca	gaaactttac	aaggctctat	aacaggtttg	50340
	catctccact	gatgtctata	ttctcagaat	gagctattca	ggaagaatat	gcttgattca	50400
30	ccccaaaaag	agtttttgca	gtttattcta	aagaaaaatc	gaatcctgta	aatggacagc	50460
	tgagatgagc	aatttgacgt	tggcatcttt	gtcaaaaggag	ctttatgtaa	atgtgcacct	50520
	taattttgtc	atttaaaaat	acataatgga	ggcagaagct	gggggagtg	ctgagctcag	50580
	gagttcaaaa	ccaccctgga	caacaagctg	aaaccctctg	tctagtaaaa	aaaaaaatac	50640
	aaaaattagt	tgggcattgt	ggcgggtgcc	tgtagtccca	gctactcggg	aggctgagac	50700
35	agggaaattg	cttgaaccgg	ggaggtggag	gttggagtga	gtggagatca	cgccccatca	50760
	ctccagcctg	ggcgacagag	caggactcta	tctcccccca	aaaataaata	aataataaaa	50820
	atacatctag	ggactgtgat	ttttggcaac	tgtctctcac	cacctcactc	attttataga	50880
	aggcaagttt	attttccaca	aaggatctac	caccactact	accagggatt	tgaaactcta	50940
	attacaaatc	ctaggtaatg	ggatctttgc	atcatctcat	tcgtatttcc	atcagcagtt	51000
	accccttcga	atacagggtc	agactaacag	gaggacataa	ataagggtga	caaaggaaac	51060
40	atttatttct	gtaaaaacag	gacctcaggy	aggaatgaaa	cagtgagcac	ttgtatgtag	51120
	tatcattatt	tagaaaaaca	aaaatgttta	attttgccct	attcctacca	tacacacata	51180
	cacacacact	cgctcctaag	aactagaaag	aaaaatatgt	tagtgggaaa	atacgtgaaa	51240
	tggggaaatg	tcttccagct	gggtgtaata	ttgacacata	ggtaatatgt	gatgatacct	51300
	aggagataat	aggtacctag	gagataataa	cctagggtatc	taattcaatg	gatttcagat	51360
45	ttagtgggct	tgtagcatct	tgaatttcat	cacttgggtc	tttaatccaa	aagaaactac	51420
	ttgttccctt	cataatacgt	acataaaaat	tctgtctgagc	aggttaattg	ctgcctagtt	51480
	aaaataatta	cacaaagtgt	attaagcaat	gtggcaatct	tctaccatta	aaataacacc	51540
	agttcttttc	ctatgccaca	cgcacacttc	ttattttatg	gatcctgaga	atatttttat	51600
	taggtcagtg	ctcctgttca	gccttgaggg	taagatacca	tggtagtcca	agccagggag	51660
	tggaaagactg	tccactaaat	aaaaataaaa	atttgcaacc	tatagtaaaa	acacaccaga	51720
50	cacaatggct	taaaattctg	attttcatct	tctcccagat	ctaatagata	tttatcaata	51780
	taatgttggt	aaaaatactaa	agtatttctc	ttgtggagaa	gaatatattga	gcaatttatat	51840
	gcaaagcata	tgcaagacag	aaagtgcctg	acatagcaag	tagtcaataa	actcaagtta	51900
	ttatcattgt	tcttttttca	ttcattttaag	ccttcaatgt	taaagaacta	taattgaaat	51960
	gacttcattc	caaataataa	tccataagaa	gacaaatttt	tgataacata	aaaatatata	52020
55	aagctggaga	catagagttc	tcaatgttcc	atattaaatg	tctctgactc	atctcccttc	52080
	tttgtcttga	agatgtttca	tgaagatgct	gctggagggt	ggcagctggg	agctgtggat	52140
	gtcaacaagc	cccagggagc	cgccccagcc	tgccctccagg	tgacgtacaa	tgacattttt	52200
	aaaaatcgcc	cagcaaaagg	ctttgaattt	tatttcatcc	aagaaaatcc	acagctcttt	52260
	aagctctaga	tttgtccaaa	tttaaaatcc	tgaagttaga	gatgggtatt	cactccttcc	52320
	tctattccca	ggacctagct	tttttttttt	taacatacac	aatagggatt	tgataagttt	52380
60	ctgatggctg	caggcatgta	agagcatttc	agtggatttg	aatcaatgaa	gaatttttgt	52440

ES 2 271 092 T3

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

```

gacatgtgaa atcttataaa aatattcttt accgaaggac tgagttatgt ggcagtgggc 52500
aaattcattg ttctcatacct ccccgagtaa ctgggaaaaa tatgttaata catagtctct 52560
ctgtttttct gcattttgaa gctttcagag gaacataatg tagagggtgt tcttttagcaa 52620
agtgcactga tagcaaacat aaggattgca ggtggggcct gagagtcctc atgagataga 52680
ttctcacagt gattagaaga tggagtctca cgtccctgcc tgtgaacttt ctggaaaaac 52740
catctctctc aagctgccat tgacaacaat atggataaca ataataacaa taaggcccaa 52800
taaactcctt tatctctctt tcagggggcc atactgacat cttctctctc ttggtttccc 52860
ctccttgccc cctaaatata agtaactcat tcaaaaataat gtcaccttac caagagcagc 52920
acccctaact tcccataata ttttcaactt cattttccct ccaagcagcc cactcgtagg 52980
accggagaat tgattctctc acctggagaa ttttattttt tttagccttt ttggttttca 53040
gtgacaaatc ctctctctcg aagggttggt ttccatagtt gtttatatcc tgccctcata 53100
atlttgagaa gtgttcacat ctgccgtggg atgagactgt atctcttttc tttcttttgg 53160
gtctttctcc agatagggac ttcttatgca actcaaggat gggtagatga aaaataaaat 53220
tgtactctga gccattactg tgggctatgt ttatatggcc attttacat agagttattt 53280
acttcttttt gtctctatct gtattgaggt gtgatttaaca aataaaattg taaataactta 53340
aggatataca tgtgatgatt tgatatatgt acacagtgtg aaacgattgt tgcaaccaag 53400
cgaattcaac ccccatcac cgcatatatt cagtagttac ctctgtgtgt gtgggtgggg 53460
gggtaaacact taagatctaa tctcctagca aatctcatgt atacaataca gtattattaa 53520
ccattaatga atcactttgt ttattagatc ctgagaactt ggccatcttt tgactgtata 53580
cctaatactc ccaatttcta tggcctgtcc ccagccctcg gtaaccacaa tcctactctc 53640
tgcttcaatg aatttgactt tttgagattc catatataaa tgagattatg cgggtgttgt 53700
ctttctgtgt ctagtctcatt tcaacttagca taacgtcctc caggcttatc catatagttg 53760
tcaattggcag gatttttttc tttattatgg ctgagtaata tttcattgta tgtctatacc 53820
acattttttt tatccattca tccatcagta gacacttagg ttgttccctg tcttgacctc 53880
tgtgaataac gctgcagtaa acacggggct gcagatgtct ctttgagata ctgatttcat 53940
ttcctttggg catatatcca gaagtgggat tgtgggatca tatggtagtt ctatttttaa 54000
ttttttggga aacctccata ctgctgttca gaattggctct accaatttaa atccccacca 54060
acagtgtaaa agggttatct tttctttatg cctttgccaa atagttatct tttgtctttt 54120
tgatggtgac atttgtaaca gatattgaggt gatattotcaa tgggttttaa atttgatttt 54180
ccctgataat tagggatcgt atgcactttt tcatataacct attggccatt catatgtctt 54240
cttttgaaaa aattctactc agaatttgct catttataat cagattattt gcatttttgt 54300
tttggttttg ttttttagtt ttggggcttt ttgttattga ttgttatgag ttctttgcat 54360
cttttgaaata ttatctcctt ttcagaaata tgggtgttcca attttccctt gttccataga 54420
ctgctttttc attttgttta ttgttagtta tttattttctg tcagttttaa aaaatggagg 54480
gcaataagta gaaaagctta caatgaatat tgataagtat tatttttgtg tctctcttcc 54540
atcctatat tttgtttgac tatgtctgta atataaaact actacaacta cctttactcc 54600
tactatcact actaatagta ataacaataa tgacaaagat tatagtacta gcttcttacc 54660
taaaaagcac ttttattgac attatttttt aatccatcaa ctgatattta ctgagtacca 54720
actatgtgct agacactaag atagtcttga aagaaacatg cacagtctcc acactcatag 54780
agcttacagt atgcttgaga aaaaggcagc attgagctag caatcacaa 54840
agtgatgtgg gttttgaaag aagtaatgca agatgcaatg agaataata aattggggtc 54900
cgctttgaga ggtcagggaa ggttttagtg cataatctta aaatcaaaac cttgagtaat 54960
tccagcattt tgggaggctg aggcaggcag atcacctgag gtcattgagt tgagaccagc 55020
ctggccaaca tggtgaaacc ccatctctac taaaaatcca aatattaccc aggtgttgtg 55080
gtgcacgctt gtaatcccag ctacttggga ggctaaggca caagaatcac ttgaaccggg 55140
gaggtggagg ttgcagttag ctgagattgt gccactgcaa tgtagcctgg gcaacagagt 55200
gagactctgt ctcaaaaaaa aaaaaaaaga gagagagaga atgaggaaaa gaatgactaa 55260
ggatgaggtt tactacaacc ctgtgatgta gaaagacct catgcctggg cagccattta 55320
taggagaaag tgctgattca gagaacatag ggalgtgaat tacattcaac cagagggaga 55380
accaggact aatggctggg tcttatggct cctagcccca tgctttatcc agctgaaaaa 55440
aatatgcaag taatcataag ttctgtgatg agaataaact tatcagggtc actctgagt 55500
ccaaatcaga ctgctatggg atccagagct ttaaatctta ttaaatcctt gttaatagat 55560
gcctcaaggt ggccatctga aattaggagg caagttagcc tccttatcac aaagatttga 55620
gaataacaag ttggaatgga cagggtgaag tgtgatgaca aaatcgagca aggagatagt 55680
aaaataaaga ggtgaatggt gtgggtagat atgttgggct tgaagtgtat agatgtggca 55740
tctcagagac cctatatgta gatattgtgt atgaatatag cagcatgctt atgacatctt 55800
atgaatgtga ctcatatgct tagaaactgg ggggaaaggg gtcaggtaat tcagtgtgac 55860
acaagtttca ttcactcaa cttcatgtgt ttggccctga ataaagcttt ccagaggcag 55920
caatgaagag ttgatggaag aaaagtggga tggccaagaa gttatctgtt tgtaccgggc 55980
aggagctgtg attagagaga gaatacattt ctatgtctca gcaagaaaat aattaattaa 56040
ttaaaagaaa agaattaaat aaaaatatat tgaagataaa atggtcctga aatacttgat 56100
ggctttcact aatgattaat gccatctaaa actgggtaac aggaaaactt tcatctcagt 56160
cttccactcc ctggcttggg ctaccatggt atcttaccct caaggctgaa caggagcata 56220

```

ES 2 271 092 T3

	taccacttct	ttttatttat	ttatttattt	atttatttat	ttatttattt	atttnnnnnn	56280
	tttatttatt	tattttttga	gacggagtct	cgtctgtctg	cccaggctgg	agtgcagtgg	56340
5	cgggatctcg	gctcactgca	agctccgcct	cccgggttca	cgccattctc	ctgcctcagc	56400
	ctcccaagta	gctgggacta	caggcgcccc	ccactacgcc	cggctaattt	ttttgtattt	56460
	ttagtagaga	cggggtttca	ccgtttttagc	cgggatggtc	tcgatctcct	gacctcgtga	56520
	tcgcgccgcc	tcggcctccc	aaagtgtctg	gattacaggg	gtgagccacc	gcgcccggcc	56580
	ctttttattt	ttaaaacaag	caaaatgtga	acatgttctc	ataaaaaatt	aatatggaaa	56640
10	taaaattaaa	aggaagagtt	tacttgaaat	cttctttcaa	tgtatccttc	ctcattcttc	56700
	ttccaatgag	taacttggag	gttaatgttg	agtcgattct	tctcagactc	ctgcatttat	56760
	gcattttatc	tcacatgaaa	aagcattttct	gcctccagga	agcactgaca	ttttcacaga	56820
	atgtttctct	ttcctacacc	acttctctct	cactcatcct	tcagaactca	gctcaaacat	56880
	cactttctta	tcctcaaaaa	ataagccagg	tacctctgtt	acatgttttc	atatcatcct	56940
15	acacttttct	tttatgtctg	tcataatttt	aataaaataa	attaaggata	taattagtgt	57000
	ttgatgtctg	cttctccaac	caggggaaat	tccattactt	tagagaccat	accagtcag	57060
	gtcacttctg	caactgtgct	ttagacatga	gagatgatca	attatgttta	ttaaccgaga	57120
	acagtccagt	gaaagaagga	ggcagtagct	tcttggttta	tgaaagtact	tatttgacct	57180
	ctcgcttaga	agctgctctg	tttgtctctc	tggtctgtgc	tgtaagaact	agaaattgaa	57240
	tagactgtctg	caataacacc	cttttccata	cagaacactt	atttctatat	gcagtgcagt	57300
20	ggagtctaaa	gcaagcagta	cacttggagt	ttgcttccag	aaagtgcctc	gcagaggttg	57360
	taggactttg	gatctctctg	gatagttttg	ccaggatgtc	tcctctaata	tgtggtggca	57420
	gagccttggc	aggacataac	cctgacttct	gttatgtttc	acctctttca	gaactctttt	57480
	catcttgtaa	gcatataaga	taaaatttgt	ttatgtttag	aaatatagtg	ttaggaatag	57540
	catcattgaa	aagaacccaa	actcattctt	tttttttttt	tttttttttt	ttgagacaga	57600
	gtctcactct	cctgcccagg	ctggaatcca	gtggcacaa	cctggctcat	tgcaacctcc	57660
25	gcctcccagg	ttcaagtgat	tctctgcct	cagcctccag	agtagctggg	actacaggca	57720
	tgcgcacaca	cgctggctg	atttttgtat	ttttagtaga	aaccgggttt	caccatgttg	57780
	gcagtgctgg	tcttgaactc	gatccgccca	cctcgccctc	aagtgggact	tggtttttaa	57840
	gggattacag	gtgtgagcca	ctgtgccag	ctgaacccaa	actaattgta	tgtaaatgag	57900
	aaaacagagt	ttattggaat	gaaacatttg	aacggctgta	ctttgttaatt	ttgaaactgt	57960
30	tgaataaat	tagaaaaaat	gaggtatcaa	taatatctga	gagacagcaa	actgatgttt	58020
	tgatttccat	ttactactg	ggaactgttg	attttgttca	aagtgggact	tggtttttaa	58080
	atttgaccca	aagttaaaaa	accagagtat	ttacataaaa	aaccacacag	tcctacccat	58140
	cttgtaaaag	agaatgatct	ggcaataaag	agctctcatt	tcacactggc	tagagtttggc	58200
	cagagctgag	tggtggctgc	cacatgagca	gaggcagaga	ggcttttattg	tgcctcagtt	58260
35	tcaccaactct	cctattgtgc	tcacagctac	tggagggtgag	tggttttacct	accaaagta	58320
	tcatacatctt	atttttctaa	gagtagagaa	agatttctct	ttgtccgtga	ctctatcgtg	58380
	tggaataaaa	taaaacaagta	ataaattcat	aaatatataa	atgtataaag	atacacaaat	58440
	gcatggatga	atgaataaag	aataaataca	aggcatttta	aaagcaccct	gtgattacag	58500
	aaaacaatga	gaaatgaacc	tagattttta	agaaaaaagt	tattccgtag	tggttaatat	58560
	gtaaccctaa	gcctagtttt	ctcattatgt	tacttgctag	gtctcaggag	gcacttgggt	58620
40	gggtgactca	cgaataaatt	gaaaataatg	taacttttaga	tcacaaagat	tatataataa	58680
	caattagtcc	acacatttca	gtgattccaa	aatagtattt	tcataatatt	tatgttttta	58740
	acatttctaa	atgttaaaat	cataactcag	cataattgga	agctggctca	agttctctta	58800
	taaatgaaat	gtactaaaaa	atcaaaactg	tctccattgg	tattatgtat	tatacttttc	58860
	accatatttt	ctactctgta	tcctcatcca	gttactataa	gtaattaggt	aatttaataa	58920
	aacaagattg	attaaggtgg	cttaattttc	ctcaccatta	ttaaattaaa	tacatgaagt	58980
45	aaccaatgct	tctgtgatgc	tgagtttttt	acgagtaata	atttattctc	tctttctccc	59040
	tctctctcta	tgtgtgtgta	tatatacaca	aacatatata	tacacacggt	tttatatata	59100
	catatataag	tgcatatgtg	tgtatatgta	tatgtgtata	tacatatata	tagaaacatt	59160
	gctggcataa	aactattagg	attttatata	tttcaatggg	cagtgattct	gatcacacat	59220
	tagcaactaa	ttttaaatgt	ttttcctaca	ttcccacatg	tgacataaca	tattttacct	59280
50	tatatcaaat	atttccatta	ttatgggtatt	tgtttctctc	tttcaaatat	tgcttatgga	59340
	gatagtcaat	gaattagggc	acataaaaga	tcttcttact	cttctacaga	aaaaataggc	59400
	tctattgagc	catttgtgga	ggagaatata	ggcatctttt	gtctgcagtt	tgaaaccaca	59460
	aatttatttt	gtgttctgaa	acacaaatta	caattacaat	catagctata	attataatta	59520
	gaataggaac	catatgcagg	cattgcaagg	aacgattcaa	tctgggtgcc	ttgaagtgt	59580
	ctttctgttt	ttataataaa	tgaaaatgca	catacttgta	aatttactg	caagaccaca	59640
55	agtttggagc	aggaggacta	gcagaaaggt	attgttagct	tggttaagtt	tatgtgtgt	59700
	gctctttaa	gccacttggt	aaaatttttt	gttaatcaac	ttaattatat	taatttgtct	59760
	aggtcatttc	tcatgtttat	ccagttatta	atgaaattta	taccatgctt	aataggcgtg	59820
	agtttaataa	gatactgagc	atggtaaatg	tgtgcaatc	ctaataaatt	tatctctacg	59880
	ttaaaacgag	taagcgaatg	tcctagaacc	cctgaaaaac	ccctcccat	cctctgtcat	59940
60	gcctgcaatg	tctttctggc	tctttctcat	ctctgtgcat	tgtgatgtg	cttgtcactt	60000

ES 2 271 092 T3

5	agggggcccc	cgtgcctggt	cctttttttt	tttttttttt	tttttttttt	ttgagaagga	60060
	gtctcgcgtct	gtcatcaggc	tggagtgcat	tggtgcgac	tcggctcact	gcaacctcta	60120
	cctcccaggt	tcaagcgatt	ctcctgcctc	agcctcctga	gtagctgaga	ctacaggcgc	60180
	ccgccacccat	gcccagctaa	tttttttgat	tttagtagag	acgggggtttc	accacggttg	60240
	ccaggatgat	ctcgatcttc	tgacctcgtg	atctgcctgc	cttttctgt	ttttgggtcca	60300
10	tactgtgggg	acaagatgac	tcgtggtgaa	aaagaaaagc	ctaggaacat	agataagcca	60360
	agccccatac	ctggtttctt	ttcctttttg	tgtctacaact	gcctaaatgc	gcatctccca	60420
	acatgacctc	ctcactcttc	ccttcttctt	ccccagctac	agatctcctt	atcttcaacct	60480
	gatgcataga	caccaaacac	aacatcttgt	tttgagacta	cacgctattg	tggtctgtta	60540
	gagataagac	tctgggaaaca	tatttcagct	acactaccta	ccagtggtac	gcgacaggac	60600
	acgtttatgg	aaaatgggga	tgagaatgca	gttttctctg	gtttgagaga	attattgagt	60660
15	atttatgact	tagtaaagaa	ttatttggaa	ggaacagacc	atctgctcaa	agggaaacatt	60720
	gattgcaagt	gtcattcggc	ctttctctgc	ctgtctctca	ctctccggtt	gagccacatg	60780
	atttctgtct	gtgagcctgc	ctctgttttc	tcaccttgaa	cactggcctt	attctgtttt	60840
	gttttgggtt	gtttctctcc	ttgcatatta	cccaagtatg	gctgattgtg	actgggtgta	60900
	atgacctccc	aatcaaaagc	cctaacgaga	ctccccagaa	aacacccaaa	ggtgaagggtg	60960
	cactgggaaa	aaatgaagtt	gcgtgggggc	atcagaaaca	ggaggcgtgg	ccgggagcag	61020
20	caggtcaggga	gagtgcaaat	ggaagganan	gagcaggtnc	tgctgaagcc	aagtattgga	61080
	tttccctgca	gagcaaaccc	aaagtcggtt	gaaaccgccc	tttttaatcc	tctctgaaag	61140
	ccttgcccca	tctctgctgg	aaccactact	caaccacctt	ccttagcttc	atggaatggg	61200
	aggagagagg	acacaactct	ttggccatac	taagtgtgta	gacttgactg	cagtacttac	61260
	aaactcaggga	tcattttttc	tgtcaaactt	ctraatctta	taggacttga	gaagtttatt	61320
25	aagagctaaa	aaaataggct	attacagtct	cacctgaagc	tcaaatcatg	ctgtataaga	61380
	tagtttcttt	agagaaacac	cacgtagtta	ctataaactt	acaaatggac	aatttgtaaa	61440
	ttggtgctat	tttcaaacat	aataatgaat	cgatttctct	gcatttaaaa	aatacatatt	61500
	ctgaataaat	ttagaaacac	agataaaaaa	tacctatgtg	tctgtcagaa	ataataatag	61560
	ctaataatga	tggaaccactc	actgtgtggt	ttattaggta	ttaaattatt	taatgctcac	61620
	agcaccataa	aggtagggtac	taatacgatc	tgttttacaa	aagaggaggt	tgaggcacag	61680
30	acagcataag	gaatttgatg	aaggtcacat	agttactgaa	tggggatttc	atctcaggca	61740
	gtccacgtta	gaattttaac	tacttcattt	tcacccctgt	gtattaccct	actgtgaaa	61800
	taacccagtt	tcttcattca	tttattcatt	ccactatcga	tggaacattga	gcttgnnttn	61860
35	nattgttttg	ctattgcaga	ccttcttaaga	cctttcttat	ccgtgccttt	gtatgcacac	61920
	gtgagagagg	tggtctaaca	tatatagcta	ggacagcaat	ttctgggtta	aaggatatga	61980
	gcacctttga	ctctctgaga	tatggcagat	ggctctccgg	atgatagggc	tattttgtat	62040
	gccttcttaga	aacgtgttaag	ggtgctcgtt	gtctacatct	tcactctgac	ttgatgttat	62100
	caggctttta	caccagatga	cacgaaatgg	tgtcctgtaa	tgtaaatgtg	catctccctg	62160
	atctccctga	ttaatggatg	ttgaacattt	ttaggttcaa	gggccacaca	ttttcttttt	62220
	tttttttttt	ttttttttga	gatggagtct	tgctctgtcg	cccaggctgg	agtgcggtgg	62280
40	cgtgatcttg	gctcactgaa	agctccgcct	cctgggttca	cgccattctc	ctgccccagc	62340
	ctcccgagtt	gctgggtcta	cagggtgcctg	ccaccacgcc	cggctaattt	tttgattttt	62400
	tagaagagac	gggttttcac	tgtgttagcc	aggatggtct	cgatctcctg	actgtagatt	62460
	gcttgtttat	ctcatttgcc	cattttatctg	ttgatttttc	taagtgatgt	tcagggaatc	62520
	tgagttgttc	ttaaagggtat	attgtttctt	tctaaataaa	aatttaagat	attagatata	62580
	aagacaaatc	taaaatatta	aatgcttgac	acatgtgcct	ttttcatctc	tcccatgttt	62640
45	agtcaataag	gcaattcttt	tatgtggtat	taaagaaacc	gattagaaag	ttgcttcggt	62700
	gtgtgcttaa	gtgtgagtc	tagaaagggt	aaaagttata	attgactctt	ttagcaccac	62760
	accaagcagg	tatatagctg	tttaaatact	atttttagcat	aagccatagc	tgtgggaagg	62820
	gtcactccag	tgcttgataa	atagaagtct	attcaattgg	accctcattc	ctcagcggct	62880
	gctgtgacaa	gcccgttttc	cgctgctgct	caggtagggag	ttttcatctc	ttgacacttt	62940
	gacagatgtg	gctgcacact	ttgaaccat	cttccaacac	acccccgtgc	tctattacca	63000
50	tgaggaaaag	ctctgacaag	agaatgaaag	tacatatgca	tgagacgtgg	tacaatggat	63060
	gtcagtttcc	ctctggtagc	atatctccacc	gcgtgcctcc	tgtagggaac	agagggaggt	63120
	aacagggtgct	tgctgaaaag	aggtcaaacy	gtggcgaaat	tattccttca	gtgttttaat	63180
	gctctttgaa	aacattttcca	ttgaaggcta	agattgaggg	gaggtggcct	gtgtgatgtg	63240
	agcattttcaa	gtgacaaaag	gacatcctag	gcactcctga	aactgtcttc	ttcgtgaacc	63300
55	ttcccacaaa	ctggcgagatc	atttcaagaa	ttgatggagc	ccatgagaat	gtaggttccc	63360
	tccagaacgc	agctctctcc	ccagcccat	cccacaaaga	aactagggtt	tccctgcatt	63420
	tccagaaacc	tccaaaccaa	cccattatgc	ttctcctttt	gtcctctcca	aattcaatct	63480
	gatctctctt	caattctgtc	attacttcag	tattttgata	ttttttgact	cattctctcc	63540
	actccatctt	catattcctg	ccctcaaaat	caggtcagtg	cttctctaac	agagtgatct	63600
	ctgattcctt	gatttatatt	ggtcattttc	ttttttggtt	ctctttcttc	tctattgctt	63660
60	cattcacgat	aggcatttgc	caaaaatttt	ctgaattata	cgtgattgta	catatccagc	63720
	tgcgttcacg	tgcaaaaaac	atagcctcac	acacagcaga	cccaaattct	tactctcccc	63780

ES 2 271 092 T3

5	ttaggcagggt	gtcaaacgat	acttccccca	aatgctcacg	catgcacgca	aacagagaca	63840
	cacagtcaaa	aacacagcat	gcattgtgtac	acacacatac	acactcatac	aggctcacac	63900
	atgcatgcag	agacacacag	tcaaaaacac	agcatgcatg	tgtacacaca	cacactcata	63960
	cagggtcaca	catgctcaca	cgcacacaca	cctcaaacac	acacagtgac	acagacacac	64020
	acatgcacac	tcgtgcacat	acacatgcct	acacacttat	acatgctcat	gcacgctcac	64080
	acaactcaca	tgtacataca	cacacagtga	cacacaatcg	cagacacaca	catgcacaca	64140
10	ggcacacaca	catacttaca	cgcacatgct	catgcacaca	cacttcacac	gtacatacac	64200
	acagtgcacac	acaatcacac	gcacacacat	atgcacacat	gcataatggct	acacacacgt	64260
	gcattgctcac	acacacctca	caatgcacac	tcacaaacgg	tgacacactg	acacacacac	64320
	acatgcatgc	acacagacat	gcatacacac	gcttatacac	acacacacct	cacgcataact	64380
	cagtgcacaca	gtgcacacaca	gacattttaca	tgcttatgca	cacatgcaca	cacacatgca	64440
	caaacacact	tgtacataat	catgcatgct	cacacataca	cacgcacata	cctcacacac	64500
15	acacatacac	tcacacacag	gcgcacacac	attcatttttc	aattttctcag	gggaatataa	64560
	aacaactgct	tggaggaaaa	gtttgttagga	aaaagtgaat	ataaaaatgg	ttatgcagta	64620
	attacctgga	ataaatatta	aaaccaggaa	aaataaata	gctacatgta	gaaaggggta	64680
	gctaaaatgc	tacttgaaaa	aggcctattg	taattttgaa	gtcagtgggc	aaataaata	64740
	acacagagag	ccaattgtat	aaatcctcag	ttctaaatat	cccatatata	tttatttttaa	64800
20	tatatattca	atatgtatct	aatatatcct	gattataatt	cnaaataata	attatatatta	64860
	gaatagacac	cagatgacca	ggcataggat	aatataaaat	aagattaaaa	tatcagtggt	64920
	atttttattt	attttgttat	ctgtcttact	ggcaattaaa	cagttttgct	tcttttgatt	64980
	ttaaacctca	ctgggaagaa	tatgcagaac	atttttaaat	tattttgcatg	ccacattatc	65040
	tcaaaactaaa	ttcctgtctc	ctattatatt	ttcatcctcc	agtttgaaac	agtcctataa	65100
	ctcttgaatg	tttacaatta	tatttaattag	gagacatgtg	ctaacttatg	ccaagcattt	65160
25	ttaaaaatgct	cattggagac	aaatttccat	caccaaaagt	ttgttgcat	gtcacctttg	65220
	gcaaaaatga	aggatgagtt	tttctgtttg	ttcgtttggg	ttgggttttg	aagtcttgat	65280
	ctccagggtta	aatacacagc	cttctttaag	acttaaaccc	agggtttgaa	agtgctgtgt	65340
	attttctcag	tgttcaacac	aatctgcagt	agaaggggtt	ggagcagcaa	tatgatgcct	65400
	tatgcactct	aaagctgctg	acaggtttag	acataatcta	aaatgtaagt	cactttgtgt	65460
	atcaggcagt	tcagtccttc	gattttgttt	taattgtttt	cctaataact	ctaataattt	65520
30	caaaatgagt	ctttccttaa	agattctaca	tagctcaaaa	ttattttatt	tatgtatgca	65580
	tttatataat	atcacaaagt	aggctcgtca	ttgcattaga	aatgcagtg	attagaaagg	65640
	acagctagct	tcaattttga	attcataatt	tgctctctga	gtttaaaaa	aaagttttgt	65700
	gttcaaatga	ccaccgtcca	atactaaaaa	taaaagatga	acataaaaag	caatcttgag	65760
	tgattctaga	tgtaggaatt	taattagctg	tgggaatgtc	aatgacatct	caaaaccatc	65820
35	atggcgctcgt	gtcacctgtc	tagcagccct	attgtagtcc	ttcctgactt	ctcactaact	65880
	taccatgaa	gacaaagata	aagaaaaact	cacaacaata	caggtaacta	agaaagcacc	65940
	ttttgtcaaa	gtctgttgag	attattcagt	aactatgtgg	ttggcggagt	actagttaga	66000
	aaaatataaa	acatcatgta	tattcaaat	gtttaatcta	atggcgtccat	ccttttagga	66060
	actcagtact	gaagtctagg	aacatcaggg	taaaaaaaat	aatgggttga	ttttcttact	66120
	ctttctagac	accaggggaac	atgagagaaa	attattgtgg	aaggactaat	attcttattt	66180
40	ttattattac	ctatgtccag	ccaagtcaac	aagggtcaaca	cttcaccgtt	gaaagccaa	66240
	gatttttagca	ttttcattct	taatttttac	tctagtattt	cactgacact	tgagtgtatg	66300
	tcagaantca	gagggtcagt	aagaannnga	cagccctggg	gactgccaca	ggctgagact	66360
	tactgctgga	acatgtatag	tgaggccctcc	tttggtgacc	atcacccctg	gtcttcttgt	66420
	gcccaaagca	gaatgggtgtg	gcttcctgga	ataggagatc	atattacttg	aagcaacaag	66480
45	attgtattgc	ttgaactcta	gtgtcctaatt	ttgttttact	cactttgtat	taatacatgc	66540
	caaagatagg	gaaggggatg	aaaggggtct	gggaccacca	tctagggttac	agcatccctc	66600
	ttttaggagt	ccttgctaag	acacctcagg	ggaaactgcc	tttctgaagc	ctggctcatg	66660
	gtccagttaa	ctatgtcaac	agtaccaaca	ttactttcat	ttaatacagg	agatagagaa	66720
	atgtttcacc	cccagggtca	ctttcctcag	aaggaggcag	aagatgctcc	atggccaatt	66780
	gagtacatgg	aggaaattaa	gttatatcaa	aaattattgt	tgaatctact	atgaatccag	66840
50	ccttgccagg	actgagtact	gaagcttagg	aacaccaggg	taaaatatat	atatataaat	66900
	atatatatat	atatgagctt	ttctactctc	ttctggacac	caaggaaact	gaaagaaag	66960
	tggtgaggaa	taactaatat	tttttatttt	tcttaccat	gtccagccaa	gtaagcaaa	67020
	tgaacacttc	attgttgaaa	agccaagatt	ttagcatgtt	tattcttaat	ttttcttcca	67080
	agtcaataat	gaagtcatgc	aggggtattg	agttcttaat	ccataaatta	taggttagtt	67140
55	aattgaaagg	tttttgtaca	tgtcatcatt	tacttttctc	ttctcctact	aatccataaa	67200
	tgtaggccac	aaagtgtgag	gaaaccagga	gatttttaagt	agtggtctat	aagatagttt	67260
	aaattgtgaa	tatccattat	ggcattgtac	tctaggaaat	acatgttgtc	ctaaattgaa	67320
	gctttcataa	agaaaatttc	ccatgtttta	aatcaattca	agacagatga	ttttattggg	67380
	caggatatag	gaaaagttct	gttttaataa	tttcttactt	taactgatat	atttgtatct	67440
	ctgtagtctt	agtggcagta	tcccaatgcc	cagaaatggc	ttttgtgtgc	tcttagtgct	67500
60	tagtaaggca	tcatagctat	gtgactgcca	tggcattatg	attgataagg	agtcctctaaa	67560

ES 2 271 092 T3

5	cagcagaaaa	ggactatatg	taatatatat	gacccagact	agagtaacaa	agctaaacac	67620
	cttagaaaaag	cccagaaaaat	agtcctcccct	tcccacaagg	gttattatttt	atgatcaatg	67680
	tatgagttttt	caaataccct	acagcagact	cagagatgcc	ataagagctg	ggggagctgg	67740
	gtggtgaaca	atcaagttga	agtcCaggag	tcctgactgt	tagcattttc	tgctttccat	67800
	aatgtaaatg	ctcccaccat	ggccaatttc	aagtcacca	catgacatca	gtaaacatga	67860
	aggtggagag	agatgtgatt	gcagctccag	cacaccacag	ctggggcaag	ctgcactccc	67920
10	actgcagtca	gagatggcat	atacatatat	acatgtcata	catgtctatg	taaacacgtt	67980
	gcataattttt	gtttgcagaa	agtggaaattt	ttgatgcctc	catccaaagt	acctagtttc	68040
	caacatcact	gtagagggaa	agagagaggg	agactttcga	gaaggcacac	cctttctcaa	68100
	agtgcacat	ccaaagtgat	gcatcacttc	catttctgtt	ctgggtgtga	gaaccaatca	68160
	cattgtctcca	cttcagtaat	agtaagctga	gtgatgtaga	tgagctatat	gccaggaaga	68220
	ggaaaccagc	ttgttaggta	taataagcttt	tgctaaacca	caaggcatcc	taaaacttaa	68280
15	tggtctggac	agacactaac	tcttgctcat	gaattttgcgg	atcagttgaa	cagccctgct	68340
	agtcctgagcc	aatctcagct	gactacagct	gagctcacc	ctgcctctgc	ggtcagccac	68400
	tcgtcagctg	gcctctctga	ttttgggtgt	ggctcgccat	taattggaat	gaagagaatg	68460
	gcaggggcca	tggtccacctg	gccaccatgc	aacaggctag	gctgcagggt	tgatgtggtc	68520
	gctcgggggtt	ccaagagcag	caagagtaat	ttctaataca	caagtatttt	ccaagtctct	68580
20	gcttacttca	cctttgtctac	catctcactg	accaaaataa	gtcacatggc	tgagtctgga	68640
	gttgggtgtgg	aggatactgc	caaggatgtg	tggatacagg	gaggtgaatt	caattggagg	68700
	ccactgggtt	ttttcacaca	ggctaagagg	aatttgaaaa	tcactggctt	ggcatcataa	68760
	tcaatcctgc	ttagaggtga	tttctttcac	accagccatt	actgggtgctt	tttcttctct	68820
	gttaaaatct	agtttgtggt	gtaaagtcaa	gaggagctgg	tgattgaaaa	aaataacatc	68880
	cacatgtgtt	tggtgatttg	tgattttcaca	tctaaccctta	ctcttacaga	gtagagtga	68940
25	agctatcttc	actggccta	gagataaagg	gtctgtccag	gattccctta	ctcggctctc	69000
	cattccaata	aagagagcca	gccactgata	gggctgtggca	gctggcagg	tgtccactga	69060
	aatcataggc	tcttgggtacc	tttgtggaga	tggacatgtg	gattcccttc	tgtcctgact	69120
	ctctaaggac	gcatacaggaa	cagacagatg	ggaaaggcag	tctctaagga	tatccactgg	69180
	ttatgttttc	agtgttgata	taagtgttac	ctttttcata	taaatctctt	gtattggaga	69240
30	gaataaattgt	gaagcatgat	agtagaagta	atgaatatcc	agatgtcttc	taataaagg	69300
	aagcaaaaga	tgtccacttc	gcaaatggga	gatttatattt	agggttttatg	catttgggtct	69360
	tttacattgt	gtccttggtc	ttatgttcat	ggctcatatg	caagatgggt	tctgagaatt	69420
	tcacatgta	attgcattgt	tctccaaata	agtttatctc	aaaatccaat	taaaacacaa	69480
	gttttagtac	atggctgatg	cagtattcag	tggaggagac	tttgttttac	taagttaggt	69540
	tgttttactc	actcaagcag	caatttaaag	acagatttca	tttctgagct	gtactattca	69600
35	ttatcctaata	ttatatttat	tgcaacctct	gagaccacta	ttttgtctct	ttgcctacag	69660
	cttccagaat	ccttaagtta	ctgtttcata	ggaaaaatta	ttggagaaat	ttaatagaaa	69720
	gagcttttat	gaagtactta	agcattttata	ccacaaaaaa	agataagata	gcttttagatc	69780
	attttgaaag	tttataaatg	ttcacggctc	atttcaagat	tactaatctc	ttccnnnnnn	69840
	acctgatttc	ttatgtttaca	ccttcaggcc	ttccctgtaa	gcaactgact	gcatctctac	69900
40	tttcaaatcc	ttagagtgtc	ttccaagact	gaaataatga	gagttacaga	gcacacgggtg	69960
	tcacttggcag	gctgactctt	acactgaagt	ctcattttat	ttcgttttac	agccaaaaga	70020
	tgtagatgtc	atcatactca	tttctctgt	gagaaaactg	agtcacagaa	agggtgaaatc	70080
	cagcacagag	acaagattta	aactcagttc	atcctgtctt	caaaattgat	attccattaa	70140
	accatggcaa	tcttaaatct	ttctgtgaaa	aacagattgt	cttcagcttt	cagattttagg	70200
	gttcttagtac	ttataccttc	tatccaacca	caaatacttg	gtgagggaagc	tgctgtcact	70260
45	cttttttaata	atatagagca	atgttgactg	atgaattttg	actgtctgat	acaaggcaag	70320
	agactacctg	gtttgggctc	acaatgtcta	agatgtttct	atctctgtgg	gcctagaaat	70380
	ctacttagac	tttctgagcc	tgttttctcca	tatgtaaaag	gggatgcaaa	agtatctacc	70440
	tcacagagtt	gttgaggatt	aaagatgtta	ttacatgagc	aagcaacatc	tttggaatga	70500
	atcttggcac	aaaccaagca	ctccagaaaa	cagtagctct	tattttcaata	atccatctctg	70560
	ttggtgtcca	ttttaattgc	gtgagaagcc	ctcccctgtg	ttggcttaga	cttccacagt	70620
50	ctcctggggag	gtttgctttc	atggcaggac	tcagaatcaa	tgccgggaaa	agtgaccttt	70680
	cttggtgttc	gtcttgagtt	tggaactcag	cccattgttc	cagactcatt	gtctcattac	70740
	acttttggac	acaaagcaag	atgaaagcgt	tggttgctgt	tatgagtttt	atatctgtag	70800
	ttgtcaaagt	tacagagacc	ccacgttggc	aagtcacctt	gtgtggaacc	ctatggtcag	70860
	gtaccatttt	gtagccctgg	gcacttttat	acnaatcatg	tttctnataga	agggtgattt	70920
	agctgggata	caagacagtt	tgagctgggt	tctgtcaaaa	tcgttgacaa	tgctgtgtta	70980
55	gtttctctgtt	gctgctgtaa	caaataacca	caaattcagt	gacttaaaac	cacacacatg	71040
	tattctcttta	gaactctgca	gttagaagtc	caaaatggac	ttccttaggc	taaacacaa	71100
	gtatcaacaa	ggctgcattg	ctttgggaga	ctctggagaa	gaaatggctt	ccttgctttt	71160
	ttcacatctc	ggaggccacc	tgcatgttga	tttcttaact	ttatgagagt	ctgtaatgat	71220
	gtctttataa	tgctcccaaa	tggttgcaaa	actaacacac	gcttttgttt	ttatgaagcc	71280
60	aaacagattt	agttagattt	tgaccatgga	gttgggggtat	ggggacaagg	ttggcagcca	71340

ES 2 271 092 T3

5	tttttatgtt	agtgtagtcc	aacatattac	attccagcca	gcatctgtgg	tattctattc	71400
	tagtcattat	agacttttag	aatcatgaaa	ctgtgaagtt	gcaataatc	ttataggtca	71460
	cccgatgcag	cctgctatta	aggagtatcc	cctacaacag	tgcttctcaa	aattcaacat	71520
	gctcacgaat	cacctgggaa	cctgtttaaa	gatacagatt	ctgattcagt	aggcctggga	71580
	tggggacctga	gacacctgcat	tcttaataat	tgcttccagg	ttgctgctgg	tccagggacc	71640
	acacttttag	taacaatgct	cattcctgac	agataatgct	gccttgggga	ttaatctagt	71700
10	atagactctt	tgtattttga	aaattcccag	tgcatataac	acagataaag	aatttttggg	71760
	tcaagccaa	actaaaaaca	tatccaaaac	tcctctgctt	ttaaaaaatg	taaacaaaa	71820
	tgacattgca	attaaaggaa	actttaaaaa	atcaaatgtg	tatgtggagt	ctgaaggacc	71880
	ttatattaaa	atatataaat	aaaaaagaat	atgcacacac	atatgtgaat	ccacatatgt	71940
	atgtactcac	atcacatat	actagagatg	tatgtgttca	tctgtctaca	tagataggta	72000
	gagggataga	tcatgcatcc	atatataata	atgcaattgt	gaagacctca	agtcataata	72060
15	tatttttggg	tactgactca	gctttaacat	ttccttttat	attaattttt	attagaaaat	72120
	aaaaaattga	aaagtataaa	tttggacttt	cctgtagata	caaggatgaa	tctaaatgta	72180
	atgtctcag	cctttttaca	ttaaagaac	tgatagccag	tttcaagcac	tggtgagagt	72240
	gaatttgagtt	gaagtgggccc	atgccactag	ctctaacttt	aaagctggag	ttactgattt	72300
	taatatattaa	atgtaggtac	tgacacatatt	tatcacctta	attccttatt	aatatttgaa	72360
	agttactgct	ttggagaaag	tcagctaagc	aatgggtgatt	atagtgtatc	aaaatccatt	72420
20	ctaagtgaat	attttaataa	acagggacat	acagggacat	gtagacattc	agacaaaaa	72480
	caacctaaat	ataatgacag	caccaaagtg	aagctgtgac	agttacaaaa	ccaattttaa	72540
	agtttctctga	cagccatggc	taaaagcttt	gtttggatct	ttcagtaata	acagtttact	72600
	taagacataa	atccacagct	aaggaaaaata	gaaaaagaaa	gttgtggctt	ttctgccatg	72660
	cagatgaaat	ggaaatcagc	agaatatatt	ctaatagaac	attatgctga	aaggagtaac	72720
25	gaaaagggaat	aatagtaatg	gaattttaat	ctcacatgc	aagaaagact	aaataacaat	72780
	aaaaatttta	atgagcatag	aaatgtgcca	gatgatttgc	ctatctgtgt	tatgaaggtc	72840
	agtcatttct	gcaagtaaat	tgtatgtgat	ataaacatgt	tgattggcag	ctctgggaat	72900
	tgatttttgt	attacctgta	aaataaagtc	aaagggaaac	ggatattgat	caatagccac	72960
	ggtgacagga	agccttaata	aaagtctact	ttcccgatgt	cactggcatg	tctcaaatat	73020
	ttagatcctt	atcaatgtta	cttacctcac	tagactatgg	gctgagctcg	atatgcaaca	73080
30	taattaatte	ttcaacctcg	ggtaattaat	ttctcattcc	cgaacagaaa	aatgcttgat	73140
	tcacaaaatt	gcattccctt	ttctgttaaa	cctttgtaga	atatttgtaa	gtgtaatcac	73200
	tgttctaagc	cctttacata	tattgactca	tttaaaatta	ataacaagtc	tttggagtag	73260
	gtactatttt	ctccacttna	tcaatgagaa	aacagagggt	taagtaactc	ccctggggcc	73320
	acagtgcag	taagtgggtg	agttacggct	ccaggcagtt	tgggccagag	cacctgatgt	73380
35	aggataagga	agaccccatg	aaacacatc	atagagtcac	ggagacattg	gcagtgcctc	73440
	gaagaggcag	ttcttgttct	cttaccocat	tttagtaata	acagtttgc	taagacataa	73500
	atccacagct	aaggaaaata	gctcttttag	ctgcaaggac	taaaggattc	tcaggtcaga	73560
	ccagacagta	agggcatgtg	tttaataata	cccagaagaa	atgaaacctc	agaaagagga	73620
	tgtgtggtgg	cgctagtccc	tgggcagatg	tggtctcagtg	gtgtgttgtt	tgtgtcagtg	73680
	tccttcccat	aggtctgctt	ctctctctct	tttctgtctg	ccagggcctt	cagcctccac	73740
40	tctctccatt	taagtattct	ctacccacac	gtgggcagcg	ggccccagaa	tggaacttaa	73800
	atagactagg	gtaaaatgac	ttagtctctc	tgaactgtgt	gaaatgtgag	taatatatct	73860
	caccatagag	agctatggtg	gatattaaag	tagataaaac	aaataacatt	tgaatattgt	73920
	ggattatgac	aggtcggat	ttatccctgg	gatacaagga	tgattcaaca	tatgcaataa	73980
	aatgaatgtg	atacatccta	tcaacagaat	gaaggataaa	agctatatga	tcatttcaat	74040
	tcatgtctaa	aaagcatttg	gcaaaattca	acatctcttc	atgggtaaaac	ccctcagcaa	74100
45	aactggggat	agaaggaaca	tacatcaaca	taataaaagc	tatatatgac	agacccacag	74160
	ctagtatcat	actgaatggg	gaaaatctga	aaagcctttc	ctctaatacc	tgcaacatga	74220
	caaggatgcc	cactatcacc	tctgttattc	aacatagtag	tgggaagtccc	agctagaata	74280
	ataggacaag	agaaagatta	aagggcatcc	aaattggaac	ggaagaagtc	aaattatcct	74340
	tgttttgcaga	tgatatgac	ttatatttgg	aaaaaccta	agactccaca	aggaaactat	74400
50	aagaactgat	gaacaaacct	agtaatgttg	caggatacaa	aatcaacata	caaaaattag	74460
	tagcatttct	ataagccaac	agcaaacagt	gtgaaaaaga	aatcaagaaa	gtaatcccat	74520
	ttacggtagc	tacaaataaa	ataaaaattc	ttgcaattaa	ccaaaaaatt	gaaggatctc	74580
	cataatgaac	actatcaaac	agtgatgaaa	gaaatcgaag	aggacacca	aaatggaaaa	74640
	atattccata	ttcatggatt	ggaagaatca	atattgttaa	aatgttcata	ctacccaaag	74700
	cagtctacag	atgcaattga	atccttatca	aaataccaat	gatattcttc	acagaatatg	74760
55	aaaaaaattc	taaaattata	tgaaccacac	gaagagccaa	atctatccta	aacaaattga	74820
	acaaaagctgg	gggaatcaca	ttacctgact	tcaatttata	attcaaaagc	acagtaatac	74880
	aaacgcccgtg	gtactgccat	aaaaacagac	acatagacca	acgaaacaga	atagagaacc	74940
	cagaaggaaa	tccacacacc	tacagtgaac	tcaatttttaa	caaaggtgcc	aagaacatac	75000
	actggggaaa	agagagttcc	ttcaataaat	ggtcctggac	atccatatgc	agaagaatga	75060
60	aactaacccc	tatctctgta	aggtacaaaa	atcacatcaa	aatggattaa	agacttaag	75120

ES 2 271 092 T3

5 ctatgacctc aaactatgaa attactacaa gaaaacactg gggaaaatct ccaggacatt 75180
 ggactgggca aagattttat gagcaatacc cccataagca cgggcaacca aagcaaaaat 75240
 ggacaaatgg gattacatca agttacaaag cttctgcaca gcaaaagata caattaacaa 75300
 agtgaagaga caacacacag aattagagaa aatatttgca aactaccctt ctgacaaagg 75360
 attaataacc agaatatata aggacctgaa acaactctat aggaaaaatc taataatctg 75420
 atcaaaaaat gggcaaaaaga tttgaataga catttctcaa aagaagacat acaaatgaca 75480
 10 caaacaggca tatgaaaagg tgttcaacat cattgatcat cagagaaatg caaatgaaaa 75540
 ctacaatgag acatcatatc acccagttta aatgggttta tattcaaaag tcagggaata 75600
 ataaatgctg gtgaggatgc gaagaaaagg gaacccttct acactgttgg tgggaaggta 75660
 aattagtaca atcactatgg agaacagttt gaacattcct caaaaaacta aaaattgagc 75720
 tgcgtgtaatt tagcaatccc actgctgggc atatacccaa aagaaaggaa ataagtatat 75780
 ctactaagaaa tcttcaactcc catgtttgct gcagcactgt ttgcaataag atttggaagc 75840
 15 aacctaaagt tccatcaaca gacgaataga taaagaaaat acagtacata tgcgtaattg 75900
 agcactattc aaccatagta aagaacagaa tccagtcatt tgaacaaca tggatgggac 75960
 tggagatcat tatgttaagc gaaataagcc aggcacagaa agacaaacat cacatgttct 76020
 catttatctg tgggcatcaca aatcaaatc atggacatag agagttaga 76080
 ttggttgcca gaggtgaga tgggtactgg ggggacgggg ggaggcaggg atggttaatg 76140
 ggaacaaaaa aaantagaaa gaatagataa gacctactat ttgctagcat aatacagtga 76200
 20 ctgcagctcaa taataataac tgtacatttt aaaataactt aaagagtgtg acataatcat 76260
 ttgtaactca aggtatcccc catgttccat gatatgctta tccccattg catgctgtga 76320
 tcaaaacatc ttgtgtactc cataaatata tatnngtgta tatatatata nntttatgtg 76380
 tgtgtgtata tatatatata tatatanuca ettactatgt acccacaat attttttaag 76440
 tgaataatat ggcctggaac atagtaaccg ttaatacat gataaccttt ataataatac 76500
 25 tcattatgag caggcatggg ggctcatgco tgtaatccca acactttggg aggcgaggc 76560
 gggcgggatc tgaggtcaga agatcgagac catcctggct aacgtggtga aacctgtct 76620
 ctactaaaaa taaaaaaa ttagccagac gtgggtggcg gcgcctgtag tccagctac 76680
 tcggggaggt gaagcgggag aatgacgtga atccaggaag cagagcttgc agtgagccaa 76740
 gatcacgcca ctgcactcta gcctggcgga gagagcgaga ctctttctca aaataataat 76800
 30 aataataata aataatactc attatttttt aatgtttaat tatctttatc ttaatgtagg 76860
 cagtagactt ggaccagact tgggttccag tattgagtc atcttcaatc cctgtttgac 76920
 agtgggaaag ttacttaacc tctttgagcc tcagtttcct tattagaata ggttccagg 76980
 gctgttatga gtcaatttat gtaaaagcacc tagaaaaact ccaggtagag agcaagtatg 77040
 atgtacatgt cacttactag aagttgtagt aaaattttca acaaatattt atggmaagta 77100
 ataagtaaaa aataaatctc aggtttctct tacttttcca gttgtataat aatcatctct 77160
 35 aaaaattttt catctgcagt attctcccta aacacagaat aaagaaatc ttgtttgtg 77220
 ttactagctt tttaaaaagc atttatccat acagtcagaa ttaaggataa atactacca 77280
 accaaccaat taaaaattaa gatgcaagcc atacacaaat gatatatgtt tccattttt 77340
 agtcaaaagt ctctgaaacc atcttccctag tcaactgttta gctgcctgaa agaaaggttc 77400
 ccttgctcgc ccagttcagc agtgtgggac atggatggct ttatcttgga agccctgtt 77460
 40 tgcatagcag cacatcacia aggtgtgtgc agccaaggac taagtcaatt acacttaatc 77520
 atgagggttta tttctttgtt aagagtctgt ctgtttcgcc cctcagaaa atgatcggt 77580
 catccgtttt ccacatgttc atcctgagca tgggtgaccgt ggacgtgac gtggcggtc 77640
 gcaactacta caaaggagaa aacttcagga ggcagtacga cgagttctac ctggcgagg 77700
 taagcagctc tccaccgtgc agatcgctgg gcaaggagca ggtgaaccgc ggacagtgc 77760
 tcttagagat gcaaaaagtga agtgtagcct gttcattact tgactttcac caaagctgaa 77820
 45 tcattgtctg cttcttaagt ggttctctct gtcacagtgt ggctgtatc atttctctgc 77880
 accgcggggc tgagtcactc tcttcacagt atgtcacgtt gccagggtaa cctttttccc 77940
 ctgggtctta ctctagaatc ttgctgtttt cctatccacc tcttattatc tctccctttc 78000
 tcagcgtaca ttagtttgtt tcctactaag tacaagcagg cacagattca gaagatcata 78060
 aataagctgg tcagctcagc aatacgtaga agagggctgg aaggacatat agagagatgg 78120
 50 taatgataaa ttactcctct agaaaagggt gttacaacct acattaaaga caccaattaa 78180
 aggtagggtt catgattaaa taagcatctc cctagcactc tacatatcat attacagttt 78240
 tggaaatagta cttctattg ataagtaaat tttgttaata cctgattctt aaaatatttt 78300
 aatttttatt tctttcaata agcattttgc atttatatta aagcatttta ataatttttc 78360
 aagatctttg tttttttaat gtaaaaactt acctaataa tatctcagaa ttcaatggtt 78420
 55 acatattttac aaaaaaattg attgacaacg tagaaaccca ttcattgtgt gagtgggta 78480
 tacatacaca gttgtacaac gcttcaataa atccaaccta tgaaaaagta aactgaaaag 78540
 acagaaaaaa gtcaacaattt tattattttt accaaagcat ttttcacata aaaaaaatc 78600
 atttgccata taatttaagt ttattacatt cctagaattc tctcagtaca tttaaaaatt 78660
 gatttggtta ataaaaattt agtctaccca cgcacaagct tttctgaaaa agaattgatt 78720
 gcatgtacct aacgagcata gacatctacg tggatatcaa gaaactttta agtagtcgct 78780
 60 tctgaattct cctcttcatg gaagtatgtc tcctgaaaca aaataccggtt aatacaaaa 78840
 ttttactggg ctacagtctc tgtgatgcaa catttgccca atggccacct ggtatatgga 78900

ES 2 271 092 T3

	gcttacaatc	tagcaaaaaa	aaaaaaaaaa	aanncaataa	acaataagag	ttttgtgcta	78960
	tggagaacta	atgacagggg	ctgatgaaga	aatttatatc	agcccagcct	ctgaaaaata	79020
	gggtataat	tgctgaaat	ccagcacacg	atgaatggat	tgtaataaaa	agcagagaga	79080
5	aggtcgggta	tggtggctta	cgcccgtaat	cccagaactt	tgaggagcca	aggcggtgg	79140
	atcacgaggt	caggagttcg	agacaagcct	ggccaacatg	gtgaaacccc	atctatacta	79200
	aaaatacaaa	aaattagctg	ggtgtagtg	cgggcacctg	taatcccagc	tactctggag	79260
	gctgaggcag	gagaatcact	tgaacctggg	aggcgagggt	tgcagtgagc	caagagcgca	79320
	ccactgaatt	ccagccaggg	tgacagagtg	agactccatc	tcnaaaaaaa	aaaaaaaaag	79380
10	cagaaagaag	cctagactga	tactaatatt	tgacaggtaa	tttctaacac	agggaagaa	79440
	gaatgaagga	agcctcatca	agttatttct	gtttttccca	ggaagtagga	agcaaggctc	79500
	gcatccagcc	agatgatgag	acagtgaagt	gggaagtgg	caaagaaagg	ggagagggaa	79560
	gaggtgcctg	gggttaggca	aaaaattaac	aatacagcaa	atgcaacatt	aaagatccat	79620
	ttaggactat	ggattttacag	tgataccaat	tcagatagct	ctgcgacttt	ttagccctgt	79680
	ataagaagag	ggaaaagcaa	attttaaatc	aatccacctt	tagggatttt	tttcagggtta	79740
15	ggggaactga	gaaacaagg	gaaaagatgg	attgctggca	aaggagttga	aatgatgacc	79800
	ctgtggtttc	tggtggatgt	ggaaatggga	ggagaatgga	ggagtgaagg	tgaaggatca	79860
	atggtctcta	tatggttaaa	ggacgggtac	caccaaagt	atgggaataa	agaaccagaa	79920
	gaggttatga	tcagagagtg	gagtcaggga	ttttacaatt	ccagggtaat	tctaagttat	79980
	gaaatataaa	atctagggtg	tcacgtgaat	gtgggtggct	taaaacattt	gatggagtca	80040
	aggcagaaat	ggaaacgact	gttgaagcta	aggcgctggc	tgagtcttca	catggacatt	80100
20	gaagtcactc	agagtgaagg	cagttcttgg	agagaagagt	ggagtcaagg	agcaaaagtca	80160
	cggggaatga	gcgagtgact	catgaacaga	tgacagaga	gacagaagac	agctacagg	80220
	acagtgagtg	acagcatggg	ttaacctcat	ggaatacgtt	gcaaaggagt	atcaaggagt	80280
	aatggatggg	cacctcttcc	tcgtctacat	gttctactag	aaagggctgg	aaagggctgc	80340
	aggggtaact	catgtatttg	agagagaatc	agttgaggca	cagacagaaa	gtagattctg	80400
25	ggaacagaga	ttgataatgt	agaggacatt	atttaacgta	ggagagactc	aaagattagt	80460
	tcaaggctct	gaggagggag	aagtgggaag	atcgatgaga	cagaagaatg	atacaagagt	80520
	aatagcatca	gtaggtaaa	atttgctggc	aaaaatgcc	ggaaacaaaa	gcagaaatga	80580
	ccacaagaga	ttacagttat	gyttatctct	ctgggaggag	gaatctgcat	ctgctcctga	80640
	gggaatcttg	acattagaga	ttacagtaac	attgcttttg	tgatctagca	cagggtgggg	80700
	aggtgggtcac	actaaatcag	tcctggagca	taagtgaata	ggccctccac	actggcaca	80760
30	gcagggaagg	gaattcttta	gtaaatttta	cctaactttt	tcattgtacag	aattgatcct	80820
	ttcctaattgt	gtttatgtat	ggtagatgat	ttatcctcat	accttaagaa	attccaacaa	80880
	aatgtcaaat	attgaaatgt	tgtagagttg	actgggtact	atttaagtgt	attgttaggt	80940
	ccaggggtag	ttggtaaatc	cttgctcttt	ttctttttta	tataatatta	aaaataaaaa	81000
	caacctcaac	aacagacaga	caggatttga	tggtggaatt	cagtatatat	tatgtgtcca	81060
	ataattgttg	tcacctgaca	ataataataa	gaaagggtgt	gggaggaaac	tttgagaggt	81120
35	ggtggatctg	tcaatggcat	tgatggtaat	ggtttcacag	gggtacactt	attcccaagt	81180
	tcattcacatt	ggtacattac	atgaatgcag	cttttaacat	gtcattcatt	cttttttttt	81240
	tttttttttt	ttttgagaca	gagtcctcgt	ctgtcgccca	ggctggagtg	cagtggcggg	81300
	atctcggtcc	actgcaagct	cgcctcccg	ggttcacg	attctcctgc	ctcagcctcc	81360
	caagtacttg	ggactacagg	cgcccgccac	tacgcccggc	taattttttg	tatttttagt	81420
40	agagacgggg	tttcaccggt	ttagccggga	tggtctcgat	ctcctgacct	cgtgatccgc	81480
	ccgcctcggc	ctcccaaggt	gctgggatta	caggcgtgag	ccaccgcgcc	cggccacatg	81540
	tcatttcattc	ttaaacaaagc	ggcaaatcag	ttaacacagct	aaaaactaac	ttgaaatcct	81600
	ggaaaaataa	ataaataaat	aaactaggta	gtgggtgattt	tggtgactta	aacaaccaga	81660
	tagaccccat	cagtgtactc	ttgaactact	taagcattct	gaatttggtc	cactctaggt	81720
	tttgggtgtt	ttttgttggt	gtttttgtct	cctttttttt	tttttttttt	ttttgagaca	81780
45	gtcccactct	gttgctcagg	ctagagtgca	gtggcaccat	ctcggtctcc	tgcaacctct	81840
	gcctcccaag	ttccagtggg	tctcttgctt	tagcatccca	agaagctggg	ataacaggca	81900
	cacccagcta	atttttgtat	ttctagtaga	gatggggttt	cgccatgtta	gccaggctgg	81960
	tctcaaaactc	ctgggctcga	gcgatccatc	catcttgacc	tcccagagtg	ctggaattac	82020
	aggcgtgagc	catcactcct	ggccgttcca	ctctgttttt	gattttgtgt	gtttgacttt	82080
	ccccaaagtat	gtttcgtttt	tattcagatt	acattgccat	ttctctttgt	atcagaaact	82140
50	tatacatgag	acaaagtgat	ttgtttcaaa	tgaatgtgaa	aaagtcactt	taattaaact	82200
	tacttttttca	taatatattc	tatttttata	aagtttataa	agatgtcttg	agtttagggc	82260
	agggtttggc	aaactctttc	ttgcagaccc	agatagtata	cattttgcct	tttgtagacc	82320
	accctctctc	tgtctcaact	actcaactct	gaaattgtac	aaaagttagt	gtgtctcaga	82380
	atgggtgttt	tccaataaaa	ctttatttac	aaaaatggat	cttggtttta	gctatagaaa	82440
55	cagagagcaa	tgtcaataaa	ttgaatatgg	gattatatct	aattatttaa	aatacaataa	82500
	aataataaca	ttttgtgtta	aagtcataaa	ttttaatact	gacaacaata	aagctatgat	82560
	ttttgggggg	cccattatgt	tctaagtgtc	ttaaaagaat	tcattgtctc	atttaattct	82620
	caaaatagtt	ataataacag	caattcaagt	ttatagacta	taatgatgca	gtatgttaagg	82680

ES 2 271 092 T3

	caatagcatt	atgtaatat	ttgaaaagtt	tatttttaaaa	atggatcaca	acagggtcatg	82740
	agctttttaa	gaagttattt	tttaagttcc	cacatattcc	agaataaatt	atttagaaaa	82800
5	tctaaaataa	agcactttac	ccattaagag	ccaactcaca	gtctaaaaat	caccctttta	82860
	gaataaatta	agatacttag	cttctgttgt	gaagctgggg	acttgttttg	ttacttttgg	82920
	ttaatttaacc	tacattttaga	attagtttaag	aaacaggaaa	cagttttacct	ctttttgtagc	82980
	ctatgcataa	acagaaaaag	gtaaaagtta	ttttcctctg	taagaatttt	aacttttcat	83040
	tgtgatctaa	gagaatatat	tattattgca	cattaaatca	tatgttataa	tgaacatgat	83100
	tacatttttaa	aatatatatt	attttcttaa	gaaataaaat	ataagcaata	tttttcttat	83160
10	tatttatatga	atgtatttgt	atccattaga	ctgtacattt	aacaaaaatt	atcagcacag	83220
	cacaggagat	taaaaagcttt	atcttctttt	atctcaattc	ttcttttgag	aaactcacia	83280
	acagatggga	gagatacaac	aagggaaggca	acggacctac	agagaggccc	aaagttagct	83340
	ctgtgtcacc	ccctagcatt	atccccagct	atgttctctg	atttctctta	gacctatctg	83400
	aatggggagc	tcaatcctct	tcccctcctc	gggtgttaagt	attaatgagg	acagtcattgt	83460
	tttccaatga	agccagaggg	gagaagaag	tcctaggact	ctgtgtctaca	tacccacag	83520
15	ttaacttaact	ggaactcctc	ttaccctcaa	ctctgtctat	ccctcctacc	cagcctactc	83580
	ccatatctcc	ccaacttgtc	atcagccagg	caggctcttc	ccctgtctact	catgcacagc	83640
	aattccactc	cacccccaga	cttgcattct	cacttgcttt	ttgttcagca	aaacaaaaag	83700
	ctctgtctat	aagaggatct	agatttctca	gaaaagaaag	tatcatctat	tacttaagcc	83760
	ctcttagtcc	ccacagggaa	atattttatt	ttaataacatt	cagagtttct	ctgcaaagat	83820
20	ttcacatgga	tataaaattt	ttcatctcat	ttcaattata	aagtcagaga	acagagagga	83880
	agaagggcct	agtatccttt	cttcatatgg	agttgtgtct	gggtatgggg	aatcagaggt	83940
	aaataaagta	aataagatat	ggccatcgat	gtgtgactct	aaggacctct	ttctactctt	84000
	agaagctata	gttctgtgag	attatctggg	gtaactctga	gtgaggtgta	tacctaataa	84060
	ttgtggcaat	aacatgattt	atcaaagaaa	ttttagtga	tctacaagaa	gaaattaaga	84120
	acaattttcca	agtcagtggt	tgtctcaaca	catcatatcc	atatgagcag	ttttagttat	84180
25	taaatccgtg	tttccaatag	atctaaaaat	cattctctat	tgtggtagac	ttaatatgta	84240
	ttaagtttgc	tttctggagg	gaatgagcca	ttaactgcca	aggtgctagt	tcgctgagag	84300
	aagttacagc	ttgagagaat	gttgtttcta	aaacagatta	ttgatgaagc	aaaacgtgct	84360
	gagactaaat	taattttaca	caaataagat	ttgggcagga	ttagacttat	ttatgtcaga	84420
	tacctatgat	gtcagaagca	accattagcc	tttgtgtatt	aatatgatta	ttttgcagga	84480
	ttctttttct	ttgggttatt	ttccttcttt	ttgaaatttc	tatcctttga	aaatctgtga	84540
30	ctttctttta	tttctctctt	aattagaaag	tatttcataa	attcaacaca	tagagaaaat	84600
	attataacca	atattttgtg	gtccgtcacc	cagattttta	aaaaattaat	agtttttcat	84660
	ggttgggtca	gggtttttcaa	tcagaaataa	aaactcata	gtagagtaga	agatccctgt	84720
	gtaccacttc	ttgatctcct	ccttctccct	aatccacaga	gaactatatt	catcatatca	84780
	atgcatgctt	tataatagta	tgaagtatta	aggtgccact	ttttcaatcc	tcattatatt	84840
	tgggaaattg	attcatgtcg	attgaagcat	gaattttatt	gttctgcatg	taagggcaat	84900
35	gggtattttc	attgctttca	actttttgct	gttgaataca	atacttcagt	aaacattgtc	84960
	attagaattt	ctgtgccaca	tttgggagag	ctcttttcta	atatatacct	agacttaaaa	85020
	ttgtgaattt	gtcagatatg	ctcactttca	actttgctaa	atattgttaa	attgaacttc	85080
	aaagtgtctg	tgtcaattta	cattcctacc	aggatatatg	agcagctcta	cttcatacta	85140
	cttttttttg	ttcaggattt	tcaagtttct	tacaatctca	tataatcatt	atagtcttaa	85200
40	tatacatatt	cttgggttacc	atagagattt	gacctttttt	tcgtattctg	tcagccctga	85260
	atttctctct	ctataatttt	gcctgtttta	tctgtaccct	aatgtatttt	tcagtttatct	85320
	agtagtatgc	agtgcagaca	tctcccagcc	ttcagcttgt	cttttaactt	ttattttgtg	85380
	tcttttcttc	aatagaagtt	attaatttta	acactgttaag	atatagtcat	ctttaatttt	85440
	tgattcagtg	cttttttgtgt	cttatctata	ccagagtcac	taaagacatt	ctcttatagt	85500
	aaaggctaga	gtttttcaagt	tgtgcttttt	caatttttaga	ctccaatata	tttggaatga	85560
45	gataaggact	tgattttttc	cccatatata	aacaattgtc	cttcgaagat	tcattgaaaa	85620
	ttcattcttt	cctcactcct	gtagtgcaat	ttctgtcata	tatcagggtt	acacatgtgc	85680
	acaattgtgt	ttctggacac	ctcagctctgt	gtctatacat	caaagcttta	gttgataaca	85740
	tgttgtcata	agtgtcatcc	tttataataa	accttgagat	ctattagggc	aagctactga	85800
	tgttgatatt	cttcttcaga	tttgttttat	ctgttcttgg	tcttgctatt	cttgctctac	85860
	attatgaaaa	tttaattcat	tttagtaatg	agattttta	tgatgttaag	aacatctcta	85920
50	ttcagttatt	ctaacccttc	ttagtgtttt	ccaacaatgc	tttataattt	tctccaaagg	85980
	tcttccacat	ttttttgttac	attcatgcct	acatatcccta	cagttttctt	tgtgaatgaa	86040
	ataattttcaa	ttacattttt	attgatgtag	gaataatatt	aattttttat	attgacctaa	86100
	ttcatagcca	gcaactttac	tacaattggg	tgtttgtgat	catccataga	cttgattgga	86160
	atttctatgt	agataattgt	atcttctgaa	attaaggttt	tgtctttcca	cgtctaatta	86220
55	tcatatctct	gatttttttc	ttctttttat	atccgggtgt	gggtctctaa	taaaatgttg	86280
	aatagaggca	gtgatagtgg	acatgctggg	tgtttttcta	tatttttgata	cgaatgctta	86340
	tgattttcatc	tttaattgtca	ttttaggttt	tttatagatg	cctttcatca	tgtttaataa	86400
	gctcacttct	atttcttaggt	tgccaagagc	attttctcatt	atgagttgag	tattcaatct	86460

ES 2 271 092 T3

	tcttctacct	atactgagct	gactacacag	actttccctt	ttaatttctt	agtgcagtat	86520
	attagaataa	tagataat	gatactgaaa	ctatttttaga	ttcctgaaac	acttgatttt	86580
	atagcattac	ttttaataaa	caaatacaat	aagctgacat	tataattagga	attttcaatc	86640
5	ataaggatag	tagttctgtg	attttatttt	cttttacatt	gctagtctga	ttttgttagg	86700
	gaagttacac	ttcctttcac	aaatggaata	gacataat	tctctttttc	tcttctgtga	86760
	aagaatgaat	aaagtccctc	tggaaacacca	tctagggcta	ttgtttgtag	tgggatccct	86820
	gggtggagaaa	gggagaagag	agatcttgat	taatgactta	ttttatgggt	tgattattat	86880
	ggtttgtag	tttcatgggt	tattgtctgc	tatttataga	gtcatttaatt	ttaactaatg	86940
	tctcacattt	ccacagtttt	ctctcaggat	ttttataatc	tctattgaaa	ctgaatgtat	87000
10	aatccttttt	gctgccaata	ttgtttattt	ataactttct	tttttataga	agtaaatgac	87060
	ttctgatgct	aactacctgg	atttttagacc	aaacttcaca	gcacagaggc	acagtccctc	87120
	acaagattac	ccttactcga	gatactaaat	gtaagctcag	ggggttccag	ggcctccctg	87180
	acatatgaca	tatcatatgg	ctaataatgg	tgatatgaca	tatgacatat	catatgacat	87240
	atcaacaggc	taaaaactcg	gggggtttcca	ctagccttct	caagtttgat	aatgtgctag	87300
	aatgactcac	agaaatcagg	aaagtgtctat	acttctgatt	acatttttat	taaaagcaaaa	87360
15	aggttgtag	ttcagagccg	ccaaaagaag	agatgcagag	agaaaggctc	ggagagcctc	87420
	acatgtgaaa	cttgctgttt	cctcttttca	tggagttagg	acatatcacc	ctctcagcac	87480
	atggatgtga	aacaatatc	agagcgctga	gaaccaggga	agctcacctg	agctttgtgc	87540
	tgaggctctc	gattgggatt	tccttaggta	ggcatgatcg	ctggaatcac	tggccatgca	87600
	ccaagggttg	gagtttctga	ctggccagt	gctcatgaat	gatctcat	ccataaacct	87660
20	ccagggtcac	cataaataac	aaagatacct	atcaattggc	aaattccaag	gatgtagagg	87720
	ctacttccca	ggaacttgag	gcaaaagcca	gtaaaaatct	ttatttttca	ttcaaaagaa	87780
	cagcttttag	tttggttgac	actaacagtt	tctaattgtac	ctgaaattat	tggttctgtt	87840
	ccaatatttt	gaactattaa	gtccctttat	ttctttgttt	tttaaatttc	tcctctcacc	87900
	tttattattt	tctctttttc	atttatctct	ttggctcatc	ttaaacttct	tgaataattc	87960
	tactgggggt	ctctgggtgg	aatataaatc	attctattat	aaagatacat	gcattgcata	88020
25	gttcatcgca	gcactgttca	caatagcaaa	gacatggaat	caacccaaat	gtccatcagg	88080
	gatatgactg	ataaagaaaa	tgtggtacgt	atcacactatg	gaataactagg	cagcgataaa	88140
	aaggaaacgag	atcacatcct	ttgcagggag	atggatagat	cgggaagcca	tcattctcag	88200
	caaactaaca	caggaacaga	aaaccgaaca	ctgcattgtt	tcactttata	gtgggagctg	88260
	gataatgaga	acactgaata	gctgaacatg	gacacaggga	gaacaacaac	acacactggg	88320
30	gcctatcagg	aggtgggggg	aggggtagca	tcaggataaa	tagctaattg	atgtggggct	88380
	taatacctag	gtcatgggtt	tataggtgca	gcaaaccgcc	atggcacaca	tttacttatg	88440
	taacaaacct	gcataatcct	cacatataat	ctgggaacttt	aaatttaatt	gaatttaatt	88500
	taaaaaataa	aaataatgaa	aacaactaaa	tgatgggtga	aaaaaagttt	gacaaaatta	88560
	attttactga	tatcgaattc	atagtttgaa	ttttagaatt	ttgttttctt	tctcattaga	88620
	tttattttaa	atctttgcat	gctgcctcat	ttggcttggg	agattttctt	atttctctct	88680
35	ccctccctct	atgatcactt	ctactttctt	aggggatatt	cagttgcctt	aaccttgacc	88740
	ctggacccta	ccatccagag	ccagggtttt	aagtgtcatt	tggagaatgc	tagcccttgc	88800
	atatgtgtag	tatcacagtt	cttgctcata	gtctatatct	cataaaatat	ctgtttctga	88860
	tttttcagat	aagctgataa	tttctcctcc	tgctcttgga	ggcctgcagc	tgcttataag	88920
	gtcttagcct	tgggttagtt	gtctctgtcc	tttctctagc	agagaaaccc	attctagtcc	88980
	ctgtcttttc	actatgaagg	ttctcatctt	taccttatct	aagggtgcct	agtctcctca	89040
40	ccctatagga	agcaattgag	tccaacattg	cctgattcct	gacctagcat	atgtttctgt	89100
	tgcatttctg	gtcaacaaag	agggttaacct	cgtttagaat	tccttcctgc	ctctttgggt	89160
	tcctgttttt	tcctttgcat	acagtatgtt	tgaacacaga	gggggttcat	aaatcatgaa	89220
	ctcattttgc	cgctctgcag	ggagtccctc	tttctagaaa	agtgaattct	gcattcctct	89280
	gaagacattt	ggttttatga	tatttggtta	aatgaagagt	catttatatt	ggccccaaca	89340
45	aaatctgaca	cccacgtttg	agttcattaa	tcataaaaat	tggccaatag	aagaaaataa	89400
	tcaatcttgc	catagcagca	gtctttgaca	ttattggtga	gttttaattt	attttctggg	89460
	aaacttcaag	taaataggtt	tcttctgaca	ntacttttt	gggggtgtgt	tctaaaagat	89520
	ctggacatta	tcttggttag	taaaaaataa	atacaataat	gacaactctg	acttctcaac	89580
	catccatctc	aaaatttgct	ctttataaca	tactgatata	cactataagc	taagagttag	89640
	tgattttacag	acagctccag	actgatagag	gtaatcagta	atcacttttt	gttggttatg	89700
50	aatctgaatt	tcatgtaaga	gaatgggatt	gcctgaactg	attttcttgt	gagctttgtc	89760
	ctgtaatctt	cctttgtgat	aaatatgcat	ttttttctca	tgatatccat	catgattctt	89820
	tgaatttaga	aaacagagac	tgaacacaaa	atatttagata	acacatttca	aatatctttc	89880
	cactcatggg	caatgtccat	ctctaccatt	ttatctcata	ggcctgtgtt	tacgagatta	89940
	gtttaaactct	gctgtgtgta	ctggtagagg	gtctcgactg	caagttgtcc	aggttcttga	90000
	cgttttgaat	aaagaactgg	acaaaacgca	cagcaaaagca	aggaaagaaa	gaagcaagga	90060
55	aagcagagat	ttattgaaag	tgaaggtaca	cttcacagtg	tgggagttag	cccaagcagc	90120
	agctcaaggg	ccccagatac	agaatcttct	caggtccaaa	taccccttag	agggttccca	90180
	ttggccacct	acttggtggt	caccccatgt	aaatgaagtg	gttgcgccga	atcagaggct	90240

ES 2 271 092 T3

gaggtgaagt tacgaagttta cattcctagg caagtgtctg gttgggaaaa gcaaccgatc 90300
 agagggtactt tcaattatcc atctgccgca cagaaaaagg ggggggtttgc aaaggaggta 90360
 gcccctgggc cttttgtctac tcaggcatgg aaaggttaggg tttttcttcc aatttagttc 90420
 taagaagtca gtgtgaaatg gacttaggtt ccctgcctcc agaccctatt ctctgcctc 90480
 attatggcga catcaaacca ggtatatcgg ttgagcatgc attctcaaca gggagtaaaa 90540
 tcacctccaa aggggtgaaa atatgttctt agttgggggg tagaaaaatt tctcttttat 90600
 aatgcagatt gccttgtaga ccaataaacc aaagtagagt atgtaaaaag atatataata 90660
 tggtagaggt atcaaaactc catgaggtgg tgattaaaga caaaatctct aaaagacttc 90720
 ttagaagagg tgatttaaaa aaagattggg aaacactgct ttgggggtatt tgtaagaaga 90780
 aataaatatt tctcttcttt tctatgcatt gtttctaagt tttcttaaa taatgcaaaa 90840
 aaaaagaaaa gtttattata ctcttcaaaa ttttgtctta actcttaaaa agttaagttt 90900
 taactttagt gtactcacia aggtggaatg cactgcagaa tatgaaacag aagaagggtc 90960
 ccaatgagcc ctctctgtgt caggggctgc agactgagga gggccaaaagc agtggagggc 91020
 tggcaggcta agagtgaaca atggaagcca ccgttcact tttccacagg ctgcctgctg 91080
 aatgcctggg atttgcaaaa agccttgaga ttggacacct gcacagggtga ctttggtggg 91140
 agccctccag gcaactaggt tctgcagaga cccagttgc cttctccctt ttagatggct 91200
 ccagcatgc ccttggaaca ttccacctg tccagctacc atcaaggttg agttcactgc 91260
 aataatctgg agctgcacat tgagaagtgg ttactagagc ttgcctccac tgcttctatt 91320
 ttggttcttc taactatata tgcctctg aatttaagtc ctgtaccaa cccataaac 91380
 taaactgaaa tacttagtga tcatttaaac taatttgatt ttccataatc cttctcttaa 91440
 atcctgacac agttcttctc tatggcagg taaccatac cttcaagttt agtttagcat 91500
 atttttatgt gcatgtattt tccataaaat gttatcactt tggcatgaat atttcagaga 91560
 gctagagttg tggcttga aaagttacaa attatgttca aagcaagcca ttgtattcca 91620
 agagaatctg gaatcaggaa ttctaggggg aaatcagtga gactatagat atttaaatat 91680
 aatcacataa caatttgcta aatcttttag tgccttttag tgtctttcaa aagaatatca 91740
 ttttccaca gagaaaattg taatgcaaac agatccagct gcataattta ctataaatta 91800
 tgcctattta aacagttcat tccatctgtc cttttgataa tatatgcagt tagtaagggtg 91860
 attaatgtga tgtatacata attagacaat ctattggaat atcttttcagg cattcattag 91920
 tagttttctt ttaaaaaaac actttaaaat ggtaccacac tctttttttt tggaaatgaaa 91980
 atctcagctc gaaaatacac gtgaaggagg agatgatgta atgaatgcct attactgctt 92040
 cctctgtctaa tacagcaacc aggtcaggca tgtggatggg accttcagta cacatcaatt 92100
 tcagttttct ctgagattcc ctagtatcca taggagagaa aacaggttca agtcttcccc 92160
 atatcattgc aaggccagaa ctaagaagcc tgtgctagag aggaagtacc tgtcgcaggga 92220
 cttgcagcaa agtctgagtc ctctggtccc ctgaggccac tgcctcagggc agagagcctt 92280
 tcatctccc cagaggagct ggaacctgct gtatgctgct tgtggtccag gaggagctca 92340
 cagagtcctg tgggtctcag tgggcccagg agggagagct actagagact gaattactcc 92400
 aggtggagaa gggggctaat aaatgactcc actcatttct gggaaatcct gtcacccaaa 92460
 agccttctca ctatgttcag caaaggagct atggcctttc aggtccttcg cctccgtaaa 92520
 ctatgggtcc ctctactacc cctcatttgc cactgcttaa gatagcataa aagacaaacg 92580
 acaattacat caaaaacatg tatccatggt gaaggaaaga aaagtttaact cacacacaaa 92640
 gggagactca gaaactgagg atgaaactca gagaatcaag acaaatgtct agtctagaga 92700
 ttcccaagc aagtagaatt gatgggagag agaatccggt gttgttgttg ttgttgttgt 92760
 ctcaagaaaa agtaagcagg gcacaaaaata caatttctgt aacttcaact aaaaatgtcc 92820
 aaaaatgag ttaaaaaagg gcatagtcct tgagagctag tttttaatat gggagatgaa 92880
 gcaggaaaaa ataactcaaa aagtggtaga gatataataa taaggggcaa gtataaatagc 92940
 ctatccacac agctatgaat aataggagtc cctgaaggaa aaagcgaaca gatagaagaa 93000
 aagttgtcat aaacaacgga agaaagctta cataaatgaa aaaaaaaaaa aaacataaat 93060
 ctgcaaacctg aaagagctca ctaaatttta gtgagattaa atgaaaatag atgcttactc 93120
 atgtcctgggt gaccttctca ggttgcaagc ataaagaagt aaccttgttc agccctataa 93180
 caggctgaac ctaaacctga aaaagtaaaa taaatgtatt gtgcaatgga tgactcatct 93240
 acaatactgg aaagtggag gtaatgaatc aatatacata gactactgag agaatagaac 93300
 tgcactaca gaactgaac acagacaaca tgttcatctg tcagtgttaa aatgcattt 93360
 tatatacaaa aggactaaga gagcataaaa cctttgtat ttatttgaga aaactacttt 93420
 aaagtgtgct aatcacaga taagtaatt gcaatctcaa tgactagaca aaagaagaga 93480
 gaattgatgg gcattggatc tcaatagata ataataaata tgtcaaatag ggaatcttga 93540
 aaaaagagaa atgataacat taaagaact agtaataaat ttgtaatga tttcagcaaa 93600
 accaggactt aggaaagggg gtgatataca aggagagtg gatggtagaa gtgtactatg 93660
 aagtttgagc atgtgtgggg tggaggatg agtgagccag caatttagtt gtgaagcaat 93720
 aagaaaaaag cattgggttg atgtctaacc attgagaatt aagccaggag attagaaaaa 93780
 ccaagtgcag cgtccaatt aatgaatagg gaaagaaatt agcaaatagt tgaccaagtt 93840
 aaaaaaagc aagataaggt taaaaatgaa acagcaatga cataaaatag acagggaagc 93900
 taagaccaag tataactttg gcacttttg tttagcagg ttgaattttc ttatcaaaa 93960
 ccctagaaaa tctgagtatg ttttaacaca aaataaaaat tgtacactgc ttatagggaag 94020

ES 2 271 092 T3

	cacatacaaa	gtggccctgc	aaggttaacta	aaaatcattt	ctaccaaaca	cttaaaatat	94080
	taagacgttt	taaatgttca	gcagagtgtg	caaaaaatta	aggaaaaattc	ttgaggccaa	94140
	aaatttaaat	tgacgtgagt	ccagaatacc	agggtggccc	caaggcagtg	gctgccctga	94200
5	ggacattttg	aaatccttgt	gaccagaact	tgacgttttc	aggagtgtgt	ccaggatgga	94260
	agtgaactaga	ggcctgtgca	aagtgaagag	gcagaagaga	ggccccacat	aacatcagga	94320
	aggaaaaatc	ccatccctca	gagggaagg	atgggatcat	cattctggac	cttgaccctt	94380
	ggcagatcaa	aaatgttatc	tctggccggg	catgggtggc	cacgcctgta	atcccagcac	94440
	tttggggagg	cgagggtggg	ggatcacttg	aggtcaggag	ttcgagacca	acctggccaa	94500
10	catggtgaaa	ccccatctct	actaaacata	caaaaattag	ccaggcatgg	tggcatgtgc	94560
	ctgtaattcc	agctactcgg	gaggctgagg	caggagaatc	acttgaacct	gggaggcaga	94620
	gggtccagtg	agctaagact	gatcatgcca	ctgcactcca	gactgggtga	cagagtaaga	94680
	ctctgtctca	gaaaaagaaa	aaaaaagggt	atcatgttat	ctgtactgaa	ttgtgtaaga	94740
	cagcctgccc	actcgtgggg	ttggagctca	aaatcccatt	acgtccagaa	tctgagaaac	94800
	agcagccaaa	agttgattta	agggggaccc	aaatctctaa	gatgaccag	gttccctgga	94860
15	agaaccaatt	ctttctggaa	aaatatgtac	cttaaatgca	ggtcttgaaa	atcttagcca	94920
	aatcaatgat	ttcctggcaa	aatacaact	gccaaattga	tggatgagat	aagaaacctg	94980
	atctgaacag	cactggacag	ctttgctcca	ccatcaccaa	aaggcctgtg	cccatgtggg	95040
	tttctgtgtg	ctttctgtct	acttttaaa	gtgtgcta	ttctatttta	tttcagaaat	95100
	tttccctgag	aagataaaaa	tgatcacgaa	tgatgataa	agctagcata	atcttagcca	95160
20	aaacctgata	atgatataca	agtaaaacta	tagggcaatt	tcacataaaa	cagtaactgt	95220
	gaaaattata	aataaaatat	attaccacaa	aaaatccaac	atgttagcat	tatcatctag	95280
	agtttttttc	caaaaaataa	taaatggtta	acatcaggag	cttttgtgtt	atatttcatt	95340
	gcctcagtg	attaaagggt	aaatcctttg	aaggagaata	ggaagaaaag	gaaagtcttt	95400
	aaacatgata	aaaatttaac	accaagactc	atttcaacca	ctatatatga	acgctgaaga	95460
	aactttcatt	gaaaacaagg	agcaagttat	ggattccctat	tattaccatt	ttgtatttag	95520
25	caaccattat	ataactgtac	ctttataact	aatgcattca	tatgattaac	tccaaaaata	95580
	atcttaaaaa	tgaataaatc	ttattttatt	tccttatgaa	attgtgcaca	ttcttataaa	95640
	aatcgtgaga	ctttatgaaa	aatattagaa	ttaatagaa	aatctagtaa	agtgggtaca	95700
	gaagggtcaat	atagagaaat	caatagcttt	tcttccctact	ggaactaact	gggtagaaat	95760
	agtaaaaaag	aaaaaataca	tagatagata	gagagagaga	gagagaaaga	aagataggat	95820
30	atttaggata	tttatntnna	nnaaacttat	taaagaacgt	aaaatccagt	tcaataaat	95880
	aggaaaagag	tgatctctg	ctatgataa	ctagtattaa	tcttcttaaa	gttctatttt	95940
	atatgtaaaa	ggtaaaagaa	aaaaatcata	aagttgtaga	catatgtgaa	catgtaaatt	96000
	ttatgtttgt	agcactaaca	atatcaaaag	tagaaaccag	actgttggct	agggaaaaaa	96060
	tgtttgcagt	atatatagca	aagattattg	tcctcaatca	caacaactcc	caaaacgcac	96120
	aaggaaacaa	acataaacac	gtcaagggtta	cggacagtaa	catttaatat	catttaatat	96180
35	ctttaaaaag	aaattaaagt	gattaataaa	catataaaca	gatgagcaac	aataagtttg	96240
	attacactga	tactggcatg	gatttgagac	aagataactt	tcctgtattg	ctgaaggcca	96300
	aatgatttct	tataatattt	tgaagtaaat	cacttttaata	ttttctaaat	ttaaaacaca	96360
	ctaactctgt	tttgccccag	caataaccaac	tttggaaatc	tattttataga	tatgaaagcc	96420
	tcaataaata	ctggtattga	gggaggatgc	ttagtgcagc	ctttttattg	aagtgcacat	96480
40	gtgcttaacc	accttcctga	tgatttcctgc	aaataccacc	catcaatgaa	ttagttagaga	96540
	aaatgttgag	ttacataaac	attgaacact	atgggaaatt	atgcagctga	taaatataaac	96600
	ataggaccta	tatcccttaa	tctggaggga	tatccacgat	tgtagtgac	tcagaaaaaa	96660
	agttgcagag	tgatatataa	tattcctgca	tacccaaatc	tttatcattc	acagttcacg	96720
	taactttagg	taataccaag	aatgcctatt	tgctcttaga	attttttttc	tttccagagt	96780
	aaatccctgt	cacattattt	ttaacaactt	catagaactg	tatgtaatat	ttatacatma	96840
45	taagtgtata	gaaagtatga	acttgacaga	ggacaatgac	atcttttaaa	ttagaatatag	96900
	tgctttcata	aaattgtaaca	attgttttta	catctcatgt	aaaaacatgt	aattgcaagc	96960
	ctgttncgtg	gattgcatat	gtgtggatga	agaagcagat	gatcaaggaa	agaatataca	97020
	tgacattaac	atgaaatacc	tgagaaacnt	gggcaaggga	gttcatncca	cgtgtttngt	97080
	ggacttaaga	tcattttcaaa	tttaaaatat	attaccctgt	tatgtttttt	aaggagggaa	97140
50	atgggcaatta	aaattaaaaa	gcaactagaa	tctgcagaaa	tggtagattt	gagaagtgtat	97200
	gctaatttcc	tcttcacatc	taaatttaact	atctgcagtg	cctttaatgt	ttcatttctt	97260
	aaaacactat	tattaaaact	gcattttccc	cncatgttcc	atatatgagt	ggaagaaaaa	97320
	cccttctgat	actccacatt	agtctagaag	aagagaagca	aggctctgta	tattcctatc	97380
	ttcaataaat	catgtagtgt	cttctcagag	ggacatatta	tgactaatcc	cagttagtcac	97440
	cctcatagtc	tttaattaga	agttaatctt	ctattgcaaa	ttttaattcc	agctgcaatc	97500
55	tcctttacaa	aatgaaaatt	cttgttcata	ggacatgtaa	aggaaataac	atgctgtctt	97560
	tatgtgtgtg	ttttataata	ttgttatttg	gaatagtaaa	ttcatagaat	gcattgtgaga	97620
	gattaaaaaga	tcaaaataaat	gtgttaatat	actaaatatt	atcatttaatt	ttatataaat	97680
	taaagtaaca	tattgattta	tttgcatag	cacacataga	tcaattgtct	gggtatgaaat	97740
	ctcaatttct	cttttgccat	gtggcctaaa	gcataaagga	ataaatgata	ttttaacttt	97800

ES 2 271 092 T3

5
 10
 15
 20
 25
 30
 35
 40
 45
 50
 55
 60
 65

```

taaatTTtag tttTaattagg ttaataatat gtaagttggt atTTttataat atgccatgta 97860
catTaaataa atTTttatcctt aaaaaataca acatacaaaa aaattcagcc ttttTgtgtac 97920
atagaaagtc tttTaaataat aatggTTTTa aaataaatatc aaatatagat aataaaagaaa 97980
taatgccact cacaaacatt caaaatcata acatgtTTTT ataattgttt aagattgctt 98040
tggtctactg tgttctagtt ggtatgtttc aaatgcattc ttaaagtaaa atgtcattct 98100
tgaccttatg gggcacctta gtgtatatga tagtgcaaaa aattcataca ctgacaaata 98160
tgtgaaataa tttTagaataa attatagttc tgaatttcaa tttcaatggt tctttgtttc 98220
tctaggtggc tttTacagta ctttttgatt tggagcact tctgaagata tgggtgtttg 98280
gatttactgg atatattagc tcatctctcc acaaattcga actactactc gtaattggaa 98340
ctactcttca tgtataccca gatctttatc attcacaatt cagctacttt caggtaataa 98400
aaataatgcc tatttTgtctt tagaaaattt tttattttcca gagtaaatac ctgtcacatt 98460
atTTttaacaa ccacatagaa ttatatataa tatttatata taataactat tatggtaaat 98520
atgaacttga gaaaggcaca atgacatctt acaaattaga aaagtgcatt cacaaattgt 98580
aacaactcgt tttTaaaact ctgaaattt cacagaaaca atgtagatgt tttactact 98640
tnttctttaa ttagcagtat atagatacac atatttttat atattggataa catatatcca 98700
tacatgcgta tnnaantttt aaactacata agatgttggg ncaaacttta aagactagga 98760
aacattaatt taatcccaag tgtttctctt ccttTgtgat aaggctaagt gtttTgtcaa 98820
caacgggttg taatgaaat attaaagggt tataaaaactt accottacag attgtaata 98880
ctcatcagtt attatttata aatgcctgtt acttcatgat ggcacttata attcttattt 98940
aactTgtaat aattggatat ctttttttaa atgtgatata ttggatcaca ttgctttcta 99000
attctcgaat aaacagtaat tattagttac attctttgtt attattgaat atagcaaac 99060
gctcactgtc ctggtaataa cttagtcaaa atgataaaa atgtctacat ggtattctag 99120
tcaaaaaaac ctcaaatgta gtcattttcc tgattcaaac ttggtcattt attttttatt 99180
ttattttatt ttattttata ttattttatt ttttatTTta ttttatTTta ttattattat 99240
actttaagtt ttagggTaca tgtgcacaa gtgcaggTta gttacatatg tatacatgtg 99300
ccatgcTggt gtgctgcacc cactaaactg tcatctagca ttaggtatat ctcctaagg 99360
tatccctggc ccttcccccc accccacaaC agggcccaga gtgtgatgtt ccccttctcg 99420
tgtccatgtg tcttcattgt tcaattccca cctatgagtg agaatatgcg gtgtttgggt 99480
ttttgttctt gcgatagttt actgagaatg atgatttcca atttcatcca cgtccctac 99540
aaaggacatg aactcatcat tttttatggc tgcattagat tccatgggtg atatgcgcca 99600
cattttctta atccagteta tcattgttgg acatttgggt tggttccaag totttcttat 99660
tgtgaagagt gccgcaataa acatacgtgt gcatgtgtct ttatagcagc atgatttata 99720
gtcctttggg tatataccca gtaatgggat ggctgggtca aatgggtattt ctagtcttag 99780
atccctgagg aatcgccaca ctgacttcca caagagtTga actagtTtac agtcccacca 99840
acagtgtaaa agtgttccca tttctccaca tctctccag cacctgttgt ttctgactt 99900
tttaattgatt gccattctaa ctgggtgtgag atggtatctc attgtgggtt tcatTTgcgt 99960
ttctctgatg gccagtgatg gtgagcattt ttccatgtgt tttttggctg cataaaatgtc 100020
ttcttttgag aagtgtctgt tcttttccct cgcatttata taatttatca tggaaacact 100080
agaatgtgca ttgattgttt tctaaataga tattgtTaaa tatttgggaa ataaaatgac 100140
agtagaattt taaagaagta attttgagaa acaggactct aaccccttag gaaaaagAAC 100200
atgcattgca actttattga ttttatTTat tagtaatacc aaaatattat tttcagaaca 100260
atattcactt taactgccag actagacact tttagtacct gggggaaagg 100320
acatgcAAat ataattcaca aaaagTaaaa agcaaaaccC cctacaaacc caggcaaaaa 100380
gctgagccct tgtaatcaca gctaagcata ttgaaaccac agagggtttt catagtTcaa 100440
gcgctcactt ccttcagcat ccgtggatgt aaatctctcc tcatktgttg agttatatcc 100500
tgaagcttrg ctatcataag tgacatggct ggggcaagag atatacatgt ttaaaactct 100560
tgatacaaaa tgtgctttcc aaacattcct gtgattataa gctcttTgtc actgctctct 100620
agattcacia agttatcatg gccattgagt acctacctta gggcatcatt gcacataatt 100680
atagagaata tcttttatat caaaacaaca gcataccttt tttacaaagc tattaaagta 100740
gccaaattaa gaaaattggT gttgcctatt tcagcaaagg tacagtataa aatatattca 100800
gggccttaaa attgctatag tctctgacat gccatttttc agtaaaaagt tagaaaataa 100860
catttTgtgt caaaatattt attatagaat taatgagaga aaaaagaaaa ctgtttTaat 100920
gacaaacatt tgaggaatag ctttaataagt cataacgcga atttaaccat aaaattataa 100980
ttgtgatgag ttttttataa cttagaaata tgactgtttt atttaaacga taaacagcat 101040
aaatttatatt atatacataa ctacatatat gtatgtatat attttattata tacatatgta 101100
aaatccctat aaaaTggaaa ttgtcatcat gaaagaaacc aatttattac aaattattaa 101160
tcatctctag tttctactc ttgtcatcat gtctgatttt cctactagtc tgttttttta 101220
caaaatattc aatattagcc tgcaaggctg taaccatttt atagatagac agatgataga 101280
tagatagata ggtagatgat agatagatag atagtagata gatagatagt agatagatag 101340
tcaaatcaca gtgaagtttg caatttcnag ttngnctntt gattttggat tattctgtaa 101400
nnngtncgtt ttaattttatg ttaatgatta ggtgattttc atttTtatct ctctatacat 101460
ggccatgctt ctctttttct aatgatttaa aaatgatctc agttaatttg 101520
tggttagaaa gtaaatctct tgagaaactt aggtgtcaca agggtttttg caaatttgca 101580

```

ES 2 271 092 T3

5 tgtggagaat ccactgtacc agacagagcg gctctttgta taaaggccta cattgggtctt 101640
 ccttattggt cctcacactt ctcatcttcaa tcaaccttctc tttactgtgt tggcaacaag 101700
 tcttttctta gacaatttca tatttctcac attttaaata agtaattgtt agtgcaaaag 101760
 ggcttctctt aaaatattag ttatctgtta gactaactac tgaagtatt catgtattta 101820
 ttcaagtgat atttctgagc ttctactatg tgtcagccac tgttccagat actgaagatg 101880
 gagcagtgga caaagcagag aggattccca ttttatgaag ctgaaattct aaaggcaaac 101940
 agttcacaaa gaagtacaca aaggaaatgtg aagtacaagt actggaaatg tcttaaggaa 102000
 10 gaagtgtgca gggtaaaaag catagagatt gtgtagtagg ggctatttta gattagtgtg 102060
 tcatagaagc cctctctgaa gaggtgaggt ttgagcagag actgaatgaa gtgaaggagc 102120
 aaactgtaag gaggtctgag ggggaagcatt ccagggtggag agaatacacac tgagcatgtc 102180
 ctgaggtggg tgcattgatg gcaggcagc atgtgttcaa ggaatagcac aaaggccagc gtggctgggc 102240
 tgcacaccaat gcaggcagc atggcctgtg ggaatacatc aggtcttgca aaacgctgtg 102300
 gttcttacct atcggatca tctgatgat attgactggt gcgtcttggt aatttctctg 102360
 gggctcgggca tcttctgag tgcattgtct catltgtttc tcataacaag ccctaagata 102420
 15 aggactgtat gtgtaaattg aggtctcaa aaactgttg acttgcccaa gaccgcata 102480
 ctgacagatg atggagctaa atcttctcc cggtctggcg cagtggctca cacctgtaat 102540
 ccagcactt tgggaggccg aggggggtgg atcacgaggt caggagatca agactatccc 102600
 ggctaaccatg gtgaaacccc gtctctacta aaaatacaaa aaattagcca ggcgtgggtg 102660
 tgggcgctg tagtccagc tacttgggag gctgaggcag gagaatggtg tgaaccggg 102720
 20 aggttgagct tgcagtgagc tgagattgag ccactgctct ccagcctggg ccacagaggg 102780
 agactcgcgc tcacaaaaaa aaaaaaaaaa attcttccca agaacatgaa tttcagagtt 102840
 catattctta actatgcaat ttctacagca tctcactaca aatcaacaga gtgaccttta 102900
 agagaaggac tcagaaatgt gaccaggaaa atgtgtttca gagacaaaaat gttctgaagt 102960
 gcttatcttt gagagtatgg tttacttcat gttgtatctg taggaacaca aaatcaaaaa 103020
 25 tctttatagg gtagatagag tgaaaaacct gctgatccct gaataaatga aaaggcacia 103080
 ttagactcac tgacagggat ttttcttctc taggaatgca ggtttaaccc tttgaaaatg 103140
 ctgatcaaat caccaattgt gaagtggat taaatagtcc catttttttc aagctgttta 103200
 cagttaggta ctgaattatt tatgtccgaa aatagacaaa tctgataaaa atgtgaaatc 103260
 tttccagatt attattctgg aaattaatac gaatgttaat actttaatag tttctatgat 103320
 aaagctgttt gcttgttctt tgtaaagatt atctgagagt aatatgtcct gatttgggaa 103380
 30 tgtatgttaa gaattacagc aggatggccg ggtgcagtggt ctcacacctg taatcccagc 103440
 actttgggag gccaggcagc gggatcacg aggtcaggag atcgagacca tctggcctga 103500
 catggtgaaa ccccgctctc actaaaaatta caaaaaaatt agctgggtgt ggtggtgggc 103560
 gcctgtagtc ccagctactc gggaggctga ggcaggagaa tgggtgtgaac ccgggagggtg 103620
 gagcttgcag tgagccgaga tcgctccact acactccagc ctgggcgaca gagttagact 103680
 35 ccgtcacaaa aaaaaaaaaa gaaaagaaaa gaattacagc aggaaaaaatt ggtagctgca 103740
 ccattgtgta tgatgcttaa tttgaacaac ataatttctt acatatgttt aaaaattgca 103800
 aattagcatg aaggaaacat gctttagtca ttttttttca attgggtttac ttacatgctg 103860
 taaaccatat catttgcat ctgcagacaa taggaataag actgaccact gatacttctc 103920
 gttaaatcaa agtaaatgca gtaaacgtgg tttcagggtat ggcaaaaattc agaggccgat 103980
 atgggtgcag gggctcagtg tatgtcttca cctaccttct tctgttgggt gtgtcgggtg 104040
 40 cattcttaag ctgggtttct ctatgtgaag gcaaaagatgg ctcccaggag ctctgttaaga 104100
 gtttgtgtga ctcttacagc agtaccgctt ggggattaaa aaaaaaaaaa aaagaaatag 104160
 aacatttctt attaaaggca tccagcaaaa gccctgagga tgactcagat gactgtgaat 104220
 actctggcca gatctggatc atgacgggtg gggagtcctt cttgcacctt tgtactaagg 104280
 ctggggtagg aatgatctgc taaaggaaaa ccaggcagag ttgaagaagc cagaggcact 104340
 ggaaagccaa aaagaaacaa atgttatttt agacatgtaa aaattaaaaat ctaattttta 104400
 45 aaaatgaatt ttctgtttct tactgtgttc taaatacact attcatcttt aacagacaac 104460
 tcaatctctt attgacatca aaaaatcttg gatgatcatt gtataaacta tatttctatt 104520
 atgccaagaa tgcaattttc ctatgttaat atctctgaat ttgggagctg ttataatcag 104580
 tgggtgtgta tacttttaatt ggcagcattt ttttatttct tagagctaca tacaaaaatg 104640
 gtgacatctt agacttaatg aaaagttgta tttttcacac tatatacttc agcttttaat 104700
 50 tatgtactaa ttatacata ctaatcatat aaatatgtcc ttaaagctg tgtctttgtg 104760
 ttatactcgc tttgtaatag tagccattga atcctatttg tccaacacaa agtttggcac 104820
 atagtaatca ataaaggttt gttaaacaaa tgagtgaata aatttgtcaa ttaattactt 104880
 attttttttt gcaaatgtga gtatgcaaaa catctaaata tatctgtata tatttagatg 104940
 tgtgtgtgtg tgtgtataca cagtcagca gatcatagag tttacttaca caaacctaga 105000
 atgcattgtt aggcaatttt gttgtcgtgt ggtatggcct attgtctcta ggctcaaac 105060
 55 tgtatagccc actatatacc taggctatat ttgaatactg taggcaattt tcacacaaag gtaagtattt 105120
 ctgtacagtg tatgactaca ttgaatactg ggtaagtctt ataggaccac catcctatac 105180
 gtatatctaa acatagctaa atatagaaaa atgcatgact aaaatatatg taaatatata 105240
 gtggcccata cttgactcaa aagttatgag gagagagaat agttgagtag atataacaaa 105300
 cacacacaca tatacatgag tgtatatata

ES 2 271 092 T3

gatccaaaaa tacaaaaactt acataagaca gaagttttatt tctctgcagc agttggtaag 105420
 tatgcaggga aagcagggtgg ctgtgcccc catggtcacc cagcctgtcg ggttggacag 105480
 5 gacctgtcgt attctatgca agccttctat ttctgggtcca aaggggctac actatttgtt 105540
 tccatttcca ggcaagagaa aggtatttta aaaaggattc agagaaaagt taacttaattc 105600
 caccaaaact tgtacaaatc atttctcttc acattccgta ggtctgaacc cagtccactg 105660
 gagacagcta gctgcaaggg agactggaat gtgtaggcta tagccccagg caaccacttg 105720
 ctagggttaga attcggaaaag ttctgttttt taaaggagga aagagaaaat ggatactggg 105780
 10 ctgataatct caataagaag taaagattct tggcaaaagt ttgcttctct tccattttcc 105840
 ttgtgatttt ctaataatac ctaggaaaat attttatgag acagtgaata taactaatac 105900
 aggttgagta tctgtatccc aaatgcttgg gaacagaagt gttttggctt tcgatgtttg 105960
 tcagattttg gaatatttgt atgtatgtgc ataagagat atcctgggaa tgggacccaa 106020
 gtctaaacac aaaaatttgt tatgttttat aaacacctca aatacatccc ctgaaggtag 106080
 ttgtatgcaa tattcttaat agttttttta tgcataaaac aaagtgtgta tacattgaac 106140
 15 catcataaag caaagggtgtc aggtgtagaa tttttcactt atggcctcat atcagcactc 106200
 aaaaacttta aatttttgag cattttatgt tttaaattag gaatgttcaa cctgtattga 106260
 attaaagggt tccttgcata ttgacagtt ataaaaatat taattttatt tcaacaatac 106320
 gtactagtga atcatatttt gtataatcat agaataatgtt aaaacactta gttcatccat 106380
 tcatttgagg tttattgagc tagaccaatg gttattctat tgttaatttt agtcactaga 106440
 tattcaataa gagaggtag attttcataa agcactataa aataatattt tagtatgaat 106500
 20 atatttaaga ttcagtgtaa ataatgatc atagtgtgaa ataaatgttt ctctctccct 106560
 tgatagggtc tccgagtagt tccgctgatt aagattttcac ctgcattaga agactttgtg 106620
 tacaagatat ttggtcctgg aaaaaagctt gggagtttgg ttgtatttac tgcagcctc 106680
 ttgattgtta tgcagcaat tagtttgagc atgttctgct ttgtygaaga actggacaga 106740
 tttactacgt ttcgaggggt aagagtttta aaaaatgcagt aagttaaatt cattgttctt 106800
 25 atttttagtaa taatgattaa catcaaaagt atttcaactt agtcattcag aagtattatc 106860
 ctatttttga taacttggga taattagatt ttaatattta aaattgtctc ttctgcaggg 106920
 tgcagggtgt tgagaccatt ttcagcattg tcagattata tatcaattct aaaatttctg 106980
 aaataatcta atagagttag atgctgaaac ctgaatgcta gggttcttag cacctataaa 107040
 ctgaaataca gcagaaattt aaaaataaag ttgcattttt gtgttcaaga gaggtaaac 107100
 30 atttttaattg ttttataaatt tatataattgt tatgttagtc agaactctaga aggaagcttt 107160
 tgattttcaa taaaataaaa ttcataaggct cttcagattt taaatgtctc tcagcttctc 107220
 cagtagaatt cacttaagct aaaaaggaag ttagaaatca atggatccat aaacaaaagt 107280
 catgtaagag taatgattca taaccagaag gaccttgaaa tttaactcta tgtggattta 107340
 gaacataaaa aaaaatacaat gaccagacaa ataattgtata tttttttacc ctaagttgaa 107400
 atagtaaggc ctattatatg gtgtattagt ccattctttac actgatgata aagacatact 107460
 35 cgatgaaact gggtaattta taagaaaaa gagggttaat ggactcacag ttccacgtgg 107520
 ctggagaggc tgcacagca tgggtggaag tgaaaaggcac atcttacctg gtggcaggca 107580
 agagagaaat agagccaaag taaaggggga aacctcttat aaaaccatca gatctcgtga 107640
 gacttatcca ctaccacaag agcagcaggg gggaaaccgc ccccatgatt caattatctc 107700
 acacctggtc ccttccacaa cacatgggaa ttatgggagc tacaattcaa gatgacattt 107760
 ggggtggggc acagccaaac catatcatat gggagaagata atattggggg aaaaacaaca 107820
 40 tatattttta aaagttaagc tttgacagca aaagggtctg tacttctaat ggatagctta 107880
 gctttatttt agggattttt ttaaaaatcc tatgctaaat ttattatttt agctaccagt 107940
 gttggaattc atccttttat aatgcagatt cttcattcat gtgccgcaa ggatttgtcg 108000
 agtccttta aagcatctgg tcatttaggt aatcatgggg acataagtc tcaagaattt 108060
 ctcaagttgag gggaggaaac agtaggtaag cacagggcac cacaggcctt gatgaaggca 108120
 45 gacaccagggt gctctgggga cacagaggca aggccgattc ccaggcatgg aaaagtccag 108180
 aaaggcttat gggaaacagg gactccaatg gctggatgta gccaaaggaa gtgcaaggga 108240
 acggattccc atcacaggaa cagcatgtac taaatgtctg aggtgagcaa atccttctt 108300
 cagaacttag caagaaccat caatggtaag aggaggacaa aaggccaagg aactctgaag 108360
 tcggttgaaa gtgtgatcgt atctgtcatg ccaaactcct atcaactcta gtagggaagg 108420
 caccagggtt aagaggctga agaagagacc cagagccagc agatgagaca tggggtttca 108480
 50 ttgagggttc acatacagg gaggaggtcc aatgctggct ggctggctcag gagaacaga 108540
 cctgcttgca aaatgcataa aatttcatata gcatttttac tttagcactc ccccagcaa 108600
 cctccacatg gaaatcttaa ttcacccag acttggggcc tcaattccct gtgtatagcc 108660
 agtggtccac gggaggagat ggggactcag atgttccctc tcaacaagga gtcagtctct 108720
 ggggtggcca ctccatagat ccctagctca gaacacacat tcaggtgtgt ctggcaagaa 108780
 55 ggggtcattct cgggggtatgc ttgagttatt gctttcaggt gcacttacat acgatgttta 108840
 agtgctgatg agagagggca agtagctagt gaggttgcag atgggtgaga taaggaggat 108900
 gatggcaaag gttcctgcag aggtgggaga aggcagtatc cacagcaaga ggacaagat 108960
 tggccttaga cagggtgtga gctgacaggt gtcgaggtga tcctcaggac agcaagccaa 109020
 gctgaaagtt acatcaaga cttgttccc tcaactgcaac agtacaggca ggaggcaaa 109080
 gtaggcaccg ctctccagct ctccagcgtc cggagggtgt ggttaagggt cagggtgata 109140

ES 2 271 092 T3

agcaggcatg ggggagggag ggctcttttc cttgctaagc agtcctgaac aaaagggtcc 109200
 agccattccct gcacctaggg aggggaagca taagggaagga agggatagga gaagaaagga 109260
 acggagccag catggaggaa agtgccctcat ctgggccctg atcaggaggc ctctggcacag 109320
 agggacctgg tctgggactg cagctatggc catgatccca gctggcctgg caggggcagag 109380
 ctgagtcata aattgcaagt ccctccagaa atggcagtg cctgggtcatg caccatgtct 109440
 aggggtgggga tggcagtggt ccccgggagg tctcccaggc aaggccttgc catcaggtct 109500
 gaatggatca cacataggat tttggccagg agcaggactc ctggaacgga ggctggaggg 109560
 aggcaagcca aaatgatagc cacatcatta ggcccacctt ctctgggtct gcccttcac 109620
 tgggtaaata aaaagatcag ctggccatct tttccatggg aacatgggga tggttattgt 109680
 aagagttaaa gaggttaagaa acacaaaaag cagctcaaca gtaaaagaca gatttatttt 109740
 ggagaataaaa ctttagaggg gcttctggcc aatcttgctc aggagcattc tctcttacag 109800
 actaagggtt ttttaagggt taggaagtgg ggagcttctc gcagggttcgg aatgtttcta 109860
 tgtgagggaa agtttattgt ggggttggga ttgggatgtc tgggtggagg ggaggtgtc 109920
 tcagggttgg cgtgtttctg gtcagagggg gtttatctta ggggtggaat gtttctgtgt 109980
 atgtgacat taggcattag gctgatgttt gggngcttga tttgggtgtt tttttaatca 110040
 aggggaactt aaaaatgggt tgtttctcca agacgacgat ctctgtctct gtcactaac 110100
 tccctacagt tatagaaagg aagaggggtg gtatatctct tctggctact tctgtctgag 110160
 tggaggggtca gaggggttct tgggtcttgg tgattgtgg gagtaatgcc atctgtagat 110220
 gtttttaggt aattgtgaga tgtccatgat cctgtcagtt aaaaaatctt tgaaaaaggt 110280
 gaattagccc aggttaagcac attagtctta ggcataattat taggagaggg cccaagaaat 110340
 ggaatgggtc tggtaggatt ttgtttctaa accaagaatg tatttgggtg ttttggattt 110400
 ccttccactt tttagccctt tcttcaagtt tttcagcagc atctcttact aggcctgatt 110460
 ggttgagata gaagcaacat tctcactca gtgagaggca gagacccctt ttttcagcca 110520
 ttgtaagatc taatcccagt ctattttgga ggactgtctc aggcaaggag tctaattggt 110580
 cttcgactct tataaggctt tgggtctata cttttaataa atcctgtagt tctgtgaaa 110640
 gaactttaaa gtatgttaag gagttggcca gtctgcctgc tcccaatcca agcccgagg 110700
 ttatacataa ggcagccatt aaaggaatga cttggatgct cctccttttt ctaacatact 110760
 ggaatgaatg aacaggtgaa gattgattag gaggaactag tccaacggag ggagaaagat 110820
 aaactagggc acaggttctg gtctagtgg tggggagaaa aagatatgtg ttggtagcgc 110880
 ataaaaagaa cgagcctttg tcataatgca ggcggagata gggaaagaag ataagcaaat 110940
 taaagatggg gtgttttttc tttcctgctg ttttttactc cagggtggaca aggagggaggc 111000
 caggggagaca cccactatag tagagatata ggaagagtta ttttttacac atttaattga 111060
 atcggtactt gcaccattga tattagacca tggaaaaagt tgggaccag gggcagcca 111120
 agttaggcag gaggcattgg ttgacggaga ggctgtaaac tagctgggtg cagaaatgct 111180
 ccatttgttt caggtgatac ttggtagtca acgtggctac ttgatgggtc agaggggtgt 111240
 ttaacaatga tagtgtgatt gcattgggtt gatgttaagg acctacagg gaaattttcc 111300
 tccgaggtcg aaaagcaaa gtaggcttgg tgtaaaagg ggggtgtgtg agttatgggc 111360
 ccttcaatgg gaggtcttg gtgcttaagg cattgtagag agttgtataa ggtttgaaat 111420
 attttgttgg cccgattggc cctggaaagt aaataatctc tgaacagggt gtcggtcttc 111480
 tcaaaaaagg aagctccttt tgggagttta taagttaggg ttatatttcc tgttcaagg 111540
 tcatgaagg gtgtaggaa ggtctgttaa gctgaggaag acagcgataa gcataatccag 111600
 cactctggag caaaggaaga gttagctttg cagcaaggag gatttgttaa ggtttataga 111660
 gcattctagt ttgagagcag tgaggagtgg ttttatgggt gaggttgata tgattagga 111720
 atttatattg aagaaacaa tcaaaaagag aaaaaagtta tttgggtagt agtaaagtcc 111780
 tggaaagtct cttgaagcca taggtacat agaacagtca gaaactgatt agcatgtata 111840
 atgggagctt tgttaagggt ccactgaagg tctgtagcaa ggttgggttag gaagcagtga 111900
 aagtttggga gagaaagaga cataagcagc ttatgtggat ttctcttctt ttcctccag 111960
 gatttaggtg aggcgaaggg aagtaggtcc tgtggagaca caagagaagg ctgaagggtt 112020
 tttagatttg gttgtttgtg tatgtgggtg agggaaagtct gttttcttga gagaggtata 112080
 atgaaaccag ttggggagtc cctggagttt tgctgccatg ggtgtagtaa ggtatctctg 112140
 gtaaggtcct ttccatttag gtgtaaggag ggaattgggg ctaggactgg gatcttttat 112200
 cagaaccag tctcctggct gtaggaaggg attagaggag ttggtgacaa gttgtggcag 112260
 gtgtttgtca gcataattcc aaatgaaatg gcagatggta tgtacaagag gggaaatgag 112320
 aggggttggc agaggtgggg cttgacctg aggtggacca aaaggggcaa gtggtctccc 112380
 atatgtgagt tcaaaggggc tgagcattaa aggtttatgt gagagcacct gaatttttag 112440
 aagggtctaa ggcaaaagtg taaccgagtc tttatgtgtc tggagtgagt acctgggtgag 112500
 ggtgtttttt agaatgccat tcattttttc aacctttct gaagattgag gtcgataggg 112560
 gatgtgtagc ttccaggtaa tttgtagggc ttgtgaaagt gtttgagtaa tctgagaaat 112620
 gaattcaggg ccattatcag attgaaaaga aagaggcacc ccaaacctgg ggtatgattc 112680
 tgttattaat ttggaggtga cattagaggc tcgtttgttg gttgtgggaa aagcctcaa 112740
 ccattccaaa aaggtatcaa ccagaactaa aagaaatcaa acccttttta ctgggggtat 112800
 atgggtaaaa tcaatttgc aatcctgtcc tggaaaggtg cccctggctt gatggattgg 112860
 gaaagaagag tgtctagtgt tggaaatggg tgaagcttct tggcaaatag agcattgatg 112920

ES 2 271 092 T3

ggaaatggct ttttaactgtt ccttttatatc tgggggttatg tgttttatggg aattttaagaa 112980
 gtgttgtaga ggtgaatggc tagcatggaa gaggttgatg atgtcccgtg aaagagttgt 113040
 ttttttcagg gtcaggtagg actaatattgt tttgtatgaa tcagtttggg gggtttgaaat 113100
 5 tgtgccccctg ccatgattag ttgttgtgtt tgggtgttctg gataaaaagaa ggggatatgt 113160
 tgtatgaagg gaaataagta ttgggggaatt ggggtgattgg ttgagacatg ttttgcccag 113220
 tagtcagcct catgggtccc taaagaaatg tggcttttgt ctgatgttct ttgccatgaa 113280
 taactgcaac cttttctgga agtagaagtg cctttaatag aggatgaatg agctttccat 113340
 taatgatagg ggttcctata actgtgagat agccccgctc cctccaaatt taggcattgg 113400
 10 aatggatgat gttataagca tatttagaat tgggtgatta ttaacttgtg tgttttttgg 113460
 tagggtagt gctcttatta gggcaactaa ttctgcttgt tgggcggatg tgcccaaagg 113520
 caagggggca gctctatca ctcttctaga tgggagagag tgggtatcat aacgctatcc 113580
 ctcaatgatg gcatatcctg cttggagagg aggggttttt gatgcactgc catctataaa 113640
 ccagtctggg gctcccttta tgtgagtggg agtaaatgg tgaaacatgg tagggagcat 113700
 15 ttcaattaga tcagagcatg agtatgggtc aggatctaa atcggtattg agggtaaaag 113760
 agagggcggga ttagggtggg agcatctatg aagagagata gcggttgaa ggaggggttaa 113820
 atgtaaggct tgcataatg aggatgagat ggggttgagc gcctatggct gaccatatct 113880
 tgtagactgt gagaagaaaa tacctgaagg ggtttgtaga acatgagttt ttgtgtctca 113940
 gagataatta gagaggctgt ggcacaaaat ttttaagaaa gggaccagat ttataaaatg 114000
 20 gggcttagtt gttttgaaaa atatgcccc gttgagaagg agtctcccat aagttgggtt 114060
 aatagtccaa gggcctgatt atgagaactg tgtaaaata gatgaaaagg tcttaggagg 114120
 tttggaatgt ctaaagcatg ggcctgcaat aaggcacgtt tttagatgaga aaaagcatga 114180
 taaaggctgt ggggtgggagt gagtgggttg tcaagatttc cttttgtgtg ttcataaagg 114240
 ggttttagcaa taatggcaaa atttgttacc cataatcgga aatatcccac taatccagg 114300
 aaggaagta agtccccctt cgttttagga aatgggattt gttgaacacc ttgctttcat 114360
 25 gccaacagca tttctcgggt atttggaggt atgatcagtc ctaggataga aactttcggg 114420
 gaggtttaatt gggccttccct tttggacacc aggtacccac attcagccaa aacattttaa 114480
 atcttgggtg ttctgttgat acaatgggtc agaaaagggg tgcaaaaggag taaactgtcc 114540
 acatatgca gcaaaatcct ggggtgtaga ggtagtggg agagggtctaa ttgaagtga 114600
 tgaaatagtg atggctgtct ctaaaccccc aggggaggag agtccagatg agttgttggg 114660
 agtagcctgt gtcagggttg gtccaagtga aagcataaag gttttgagag gagggatgta 114720
 30 gagggtagat gaaaaagggtg atcttggcca ggtgcagggc tcatgcctgt aatcccaagt 114780
 ctttgagagg ctgagggtgg cggatcatga ggtcaggaga tggagaccat cctggccaac 114840
 atgggtggaac cctgtctcta ctaaaaacac aaaaattagc tgggtgtggg ggcgtgtgcc 114900
 tgtaatccca gctactcagg aggctgaggg aggagaatca tttgaaccag ggagtcagag 114960
 gttgcagtag attttgtact taaatgtact ataagaaaaa aaaaaaattc aaaaggacct 115020
 35 tcaagtattt tcagaaattt ttaaattttg gagtgtgaa taaggactgt gggcctctat 115080
 ttttaaaaaa tgcatttaag agtctgtact tctgtcccta caagtccgat tgtgcatcaa 115140
 tgccccattg ctttttagct atgtgatact gggcaaatca ttctttacat ttttattctt 115200
 cacaaccaag atgtaagcgg aaatgtgtt ttttttctc tgcaatttgt gtattaaata 115260
 atatacaaa atgacacaa aatcattcag aagtatttct taaaagacta gattacagcc 115320
 40 tatgtaatat atttgaaatt gataatatta tctgtataaa tggcaaggct gctttttaga 115380
 tccattcctg acttagcccc tctatacttg ctctattttc cagctataat agtaataaag 115440
 tagtattaca ttttcagatc tccaattact caattgcacc attttgcctg attatttttg 115500
 ccattcataat gaaacagct cggcctctcc caggccccct aatcagttat tcagcagctg 115560
 acaatgggtg cagcctgaac gtgtgaagt actagaagga gtatatttt cctttcacat 115620
 aaatgttact aaagggtgaa tccatgaaga gtaataaaat tttacaagga aatgttataa 115680
 45 aatattacaa ttacaaaagg ggtcattatc atccctaate aaataaagca tcaccaattg 115740
 gtcttacttg ccagatagaa aatcattcag gagagatgat taaaaacata ttttactcaa 115800
 ggctagattt gtcgtcagac gcacatccct ggggttcttt tccctccctt ctctagacat 115860
 tatccagtg ttgagtgtt aaggtaggtt ggttaattac agtattagcc aaggcacagg 115920
 acatgaccag aacaaaattt ctgcaagaaa aatcacatga tgtatcgcaa agtgaatatc 115980
 50 agactttaaa aatcagcaat tgcctatgtt atcttgactt ggggtccaggc cgtcttggag 116040
 gctgcctccc agcaatgttt atagggtgc agaattgggtt gggaaaaata agtgtggaag 116100
 cacatgggag gcttggggag ggcactcacc ctgaatctgc ttcagcacta tttaccaggt 116160
 gtgtagtctt aggtgacact taatttgtct gagcttcatt cattttttaa atggtaatga 116220
 55 tgtctatcaa acaggcatga taactaagag ccttacttac acatagtaag actttgaag 116280
 ttggagagct tgcataaccc acacaaagt acacagctgg acagctggat ttgaagtgt 116340
 ctactgtctc taccaactat tatccattag gtcacttcta gccaaagcaa cacactagaa 116400
 agtggtcagt taggaaatc ttattgagtg ccaagaatat aaatattttg tcaatctgta 116460
 cctggaagga aaggcctctg gaatagttca tcacaaactt cccagaggac ttcaggaaat 116520
 caagaaagg atagaggtat taacattttg gggcacagcc tgtgagtggt aggaatgac 116580
 atgtcaggat cccaaaccag cacctgatag tctctgtgcc acagcagaaa cagcatttgt 116640
 60 ctaagaagat cccacacatg agacaggtga aaggatgttc caagtgcag cttgtgaaga 116700

ES 2 271 092 T3

5 ggtgtttgaa tggagaatga gcaacaatgc tgaaccaaca caaacatctg tcatccttac 116760
 atactgggtg aggtccagca tgccggattc ctttcccag tattgttcat tcctccagga 116820
 tcctcattac cctccatcat tccccttacc ctatccaatc agaagcgtct gcataattcc 116880
 gttgcaaaaca ctttggctgc aagtaacaga aaacttgatt ccagttgact ttaagaataa 116940
 ggaaatttat tccataaaaat tcaagagatc aggtagcttt caggaagtca ggactggatc 117000
 tttcactgaa attctcttaa ttgttgtttg aattgtcagt gttcccccac aaatgtatgt 117060
 tgatatccca actcccagaa cctcaaaaata taactatatt tgaaatacag gtaatcaagt 117120
 taaaatgaag taatcagggt ggaccctaatt ccagtatgcc tgatgctttt atgaaaaggg 117180
 10 aaagaacaga cacaaatatg cataagagga agatgatata gaccacagct atattagcct 117240
 gttctcacat tgctataaag aaatacctga gactgggtaa ttacaaagaa gagaggttta 117300
 attgtccccc gttctgcagg ttgtatagga agcatggcag catctgcttg gctcctgggg 117360
 aaaccacaag aaacttacaa tcacagcaga aggcaaaagg gaagcaggca agtcttatat 117420
 ggctggagca ggagggaaaag aaagagagag gagggtgctac acacttttaa gcaacctgat 117480
 ttcattgatga ctcactcagt ctcattgagaa cagcactgag aagatgggtg tcaacgcttc 117540
 15 ctgagaaaacc acccctataa tctaatacact cccatcaggc cccacctcca atattgggga 117600
 ttacaattga acatgagatt tgggtgggga cacagatcta aactgtatga caccgggata 117660
 tggccatggg actggaatgg catctacaag ccaaggaatg tcaaaagaat ctggcaaaaca 117720
 ccagaagccg taagatacaa gggaagattt ttttccctag agctgtcaga gcacagcctt 117780
 gctaaccact taattttaga cttctggcct ccatacctgt gagacaatac atttctgttg 117840
 20 ttttaagcca ccaggtttgt ggagcttttt taccacagcc ctacgaaact catagcagtg 117900
 ccttctccat ggggtgtcct cctatgttag caaaatggat gtgacatttc caggcttccct 117960
 gatgacatct agaggaatat ttgttcccag cctcctcctt aggcagcctt 118020
 aaccttttct atcatccctt tccttccagc aaacttgctg tcatctctca ttggcaggat 118080
 tgagttaacag ggtcattcct agaattaaaa ttactggcct ttggttaatca catgggaagg 118140
 agtagatggt gtgaagacaa ctacttgggt cagacccaaa acctggacaa gatttctctc 118200
 25 agctctgtct ccaaagctgc tcctatatte cccatgcaaa caaggtttgt aaatagagct 118260
 ggtagaaaaga aagctgggtg ttaattcctt tcaccagaaa catctggacc ccagatcctt 118320
 cccaagatgc ccaaataggt aggtacctgc aaagttagcta gcatagggct ggacacagag 118380
 tagatcagtt atggattcct gctctccctg tttttatggg actgggtcagt ttctatcaca 118440
 taccattgtac attacacatg gggtcttact cctttgctag tctacaggta ccttgagggt 118500
 gagagcatgt gcattcctta cactccaag agcacttaac actgtgcagt gggatctgta 118560
 30 agcatcagta agtagagtca gaaaggaaga cagctaggac tctatcagta tataagccca 118620
 agagatggag aagggatgct cgaattctac tcgatggaaa aacaaagaat gctatatgta 118680
 tagaatttaa taaaacaact ttgtcatatt aagccaataa ctttctgttc tagtttggac 118740
 caaacagcta cactgctaaa tagaaataac aagatgaaat cctgatgtaa ggcaatatgc 118800
 aacagttcct gttttgttgg gatgaatata ttgtatgagt acaattttaga tgaactattc 118860
 35 attctggaac agcctgtaca ggtcctaaga cagattgcca taagcaagaa caaccacagt 118920
 ctttctgtat caaaaacaaa ttgcatggtt tccataaatt gcctaacaaa agtctataag 118980
 cagcttcagt aagattttac tcagtttttc ctccatttat tatagaaagc aactgcctct 119040
 aaattactga aataaatgca gtaaacattc actgtccatc ttttaaccagc tctgtatctt 119100
 tattccttct gatttcccac taaaataata aacagacctc atatgtttag cggttgtata 119160
 40 aatgggggata gtttttattt tattatcctc tattatcctc ctttaatttc attctctaaa tgtaattac 119280
 ttttagtatg atttatttga tataggtttt cttaatttcc agttattgca cgatagaagc 119340
 ttgtctctatt gagttttcac ttataaaaata ttaactttcc tttcctcttg ccacaaaaat 119400
 aacaaatgct ataaaacaca taattaaaaa aattaccaaa aaatttgaag aaacaatttg 119460
 gactagtctg gcagttagtt gtattaaagg gtatggagag tgtgtgacat ttttaataga 119520
 ctcccttaatt ttttaaatat ttaaaactat tagttcaatt aatattgctg aaatctttta 119580
 45 tttttgttct gtctttcatg tatttttaatt ttatcatga aatatttgat gtgcaaaaag 119640
 atatgaataa taataaaaca tactcctctg tggccatact taacaaacac taaattgcaa 119700
 tagacctgaa gtccctgggt gcctcttccct gatctctgtc ctctcactct cccatggaga 119760
 atcacctttc tgattttgat gtgtgttttg ttaataaatt tctttatact tttaatgcat 119820
 atattggagat caactgaaaa tcatatatct tttgtgtaat ttaaacttgc cttatatggg 119880
 50 ctcatctctg actattttct cgtctaattg cttttatttg tcaatattat gtttatgaga 119940
 gttacctaaa tgagtacatg gagctgtatt ttatttattg tcattactgt ataaaaagca 120000
 actacatatt atattgcata tataatacat tctttataca gacagaacac aattttattt 120060
 ttcattttcc tgtgcagtag gcagattcta agctgtcccc catgatattc cgcacagag 120120
 55 gtccataccc tgcattcatcc cctacccttc gatactggta ggatttgtga atatttgatg 120180
 ctgtcattcc tgtgaatagg ttgctaagca tttaatgttg agtcagtcac aaatagagat 120240
 tgtcatgtgt gggcctgtcc taatcagagg tactggcctt ttcttagatt taaagcaaga 120300
 aaggggtctt tcttggcttg cattaggaga tatacctaatt gtaaattgat agttaacggg 120360
 tgcagcacac caactgtggca catgtataca tatgtaacaa acctgcacgt tgtgcacatg 120420
 taccctagaa cttaaagtat aataaattaa taaataaatt aataaatagg aaaaaaaaag 120480

ES 2 271 092 T3

taagcctcca tgttgtgaag tgctgtgtgg ccaagaccct gggcaacagc catcaagaaa 120540
 gcaggactct cagtcctcgca accctaagga acaaccctct gataataacc caaatgaagt 120600
 5 tagaagaaga ccgcaagctc cagatgagac caaagcccag ccagcatctt gatttccacc 120660
 ttttgagact ctgagctgag agcacagtta tattacacca tgcccacatt ctgaccttca 120720
 aaaactgtga agtaacaaat gagtgttaag ctgcttcgtt tgtggttaatt tgttacacat 120780
 caatagaaaa gtaatgcato cagggtgttgg atgtttctaa atattgtaaa tccaaacagt 120840
 actgctctga acatttttgt acattgattt gtgcacatgt gaaataattc tttttagggt 120900
 10 atgtatctgg gaatagagtt gctgggtctt agaataaaca tatcctcatt tctcattggg 120960
 attgataaac ttctattcca aagtagtttt accaatttat cctaagctat cagcagtata 121020
 tgagagtatt ctctacttta cactcagga acacttggtc tggtcaggct ttattttgct 121080
 tgaacacttt agctcttcat tttagcctgaa ttgatttttg tggctgctgt gagagaggga 121140
 acaattttat gctcatttgg mtaaacatt gccacagtac cattttattga ccaatctatt 121200
 catgccccct agttctgcat catatgccag ctgtgtcata acgtggttcc atatgtgagt 121260
 15 gcccaagtca agaggcacag gctcccttgt catccccttt tgccattgaa ttttttttac 121320
 tggatctgga tcaacctctc ctctgaggtt taaaaccaat aactatatag ctttgctcaa 121380
 gtatctcagc agtctctccc ttctaaaggt tcatgacttt gtaccttato tctgacacaa 121440
 cattaaaaac caaagtctag cagagatcgg aaattctcta gagaaactga cttttcttga 121500
 ttcaagctac ttcttagctt ttgggtccctg gaggttttta ttattttctt ggactattca 121560
 cctttaaaaa gatgcttttt gcattttatc cagaatttcc tgggggtttt gaatcatttt 121620
 20 ttccatacag gtagagaaa cctagggttca ctaataaatt tttagaaga agaaacagta 121680
 ctccatggac tctcagatgg atagactttt ttaaaaaatta tacttttaagt tctagggtac 121740
 atgtgcataa cgtgcaggtt tgttacatat gtatacatgt gccatgttgg tgtgctgcac 121800
 ccatctaact atcatttaca ttagggtatat ctccaatgct tatccctccc acctccccc 121860
 accccatgac aggccctgga gtgtgatatt ccccaccctg tgtccaaatg tctctattgt 121920
 tcaattccca cctatcagtg agaacatgca gtgtttgggt ttctgtcctt gcgtagttt 121980
 25 gctcagaatg atgggtttcca gcttcatcca tgccttaca aaggacatga actcatccat 122040
 ttttatggct gcatagtatt ccatgggtga tacatgtgcc acattttctt aatccagctc 122100
 atcattgttg gacacttggg ttgggttcca gtctttgcta ttgtgaatag tgccacaata 122160
 aacatacgtg tgcattgtgc tttatagcag catgatttat aatcccttgg gtatatacc 122220
 agtaatggga gggctgggtc aaatgggtatt tctagttcta gatccttgag gaatcgccac 122280
 30 actgtcttcc acaatgattg aactagttta cagtcaccac aacagtgtaa aagtgttctc 122340
 atttctctat atgcccctag cactgttgt ttcttgactt tttaatgatc gccattctaa 122400
 ctggtgtgag atggcatctc attgtgggtt tgatttgcac ttctctgatg gccagtgatg 122460
 atgagcattt ttctatgtgt cttttggctg cataaatgtc ttcttttgag aagtgtctgt 122520
 tcatatcctt cgtccacttt ttgaaggagt tgtttgattt ttctttgtaa atttaagttc 122580
 35 ttcttagatt ctggatatta gccctttgtc agatgggtag attgtaaaaa ttttctcta 122640
 ttctgttagt tgcctgttca ctctgatggg agtttctttt gctgtgcaga ggctctttag 122700
 ctttaattaga tccattttgt ctattttggc tctgtgtgcc attgctgtgg gtgttttact 122760
 catgaagtcc ttgcccctgc ctatatctct aatgggtatt cctagatttt cttctagggt 122820
 ttttatgggt tttagtctaa catttaagtt ttaattccat cttgaattaa tttttgtata 122880
 aggtgtaagg aagggatcca gtttcagctt tctacatatg gctagccagt tttcccagca 122940
 40 ccattttatta aataggggat cctttcccca tttcttgttt ttgtcagggt tgtcaaatag 123000
 cagatgggtg tagatgtgtg gtattatttc tgagggtctc gttctattcc attgggtctc 123060
 atctctgttt tggtaaccag accatgctgt tttggttact gtagccttat agtatagttt 123120
 gaagtcaggt agcgtgatgc ctccagcttt gttcttttgg cttaggattg tcttggcaat 123180
 gcgggtctct ttttgggtcc atatgaactt taaagttagt ttttccaatt ctgtgaagaa 123240
 agtcattggg agcttgatgg cgtggcatt gaactctata attaccttgg gcagtatggc 123300
 45 cattttcatg gtattgatcc ttctatcag atggataaga cttcagatgg atagactttt 123360
 taaaatgagc atgatctagg gcaggccatc ccagtgtttg cttttactgt ccgcagcctc 123420
 acagtccttt gctttgtttt gcattgagga tatttgttcc tctttgaatg tcatagcctc 123480
 agctttaccc tccctcagtc tgccacacca ctgaaaatca tctttcacaa aatatctgat 123540
 ataccatttt atgatgaaga taaataaatc atgttcttgg tttttcattc ataattctat 123600
 caacattctt tatgcaacac agctaggaag catactgaca tgaacaaatg tactcactgc 123660
 50 cctctttaac tatagcattg tcaagaaccc aaggaggagc tgaacaaact catcccatag 123720
 tagaacacat aagaaagatc tcaagtaagg caaagggtgac atgtgctaca atagatgtac 123780
 tcagttctaa agtaaatgca aagacatttg ggagagtatt ttaaaattct gggaatttac 123840
 tgtgtgccta gcacttccaa atatcagctc atttaattgag agaaaaatat tgcctccaga 123900
 gaaggagggt tgcagagctt tataaagatt tgtctttagg ggtgaatata atttcaacag 123960
 55 gtatagattt gggctcatggc attagatgaa ggcatccat ataagaaaaa ccaatgagt 124020
 aaatttagaga catggagaat cacaggcatg gagggacata tgaccaagg atggcagtag 124080
 caatgggaaa ccagacatgg agggctctta gtggttggaa ctgtgacaca agggagcttt 124140
 tgaagatttt tactttattt tttttaattt ttttttctt ggagaatagc agaaagagcta 124200
 ttttgaggaa agttacactg gaagaaatgt tatttctatg aggaggtatt ttcattgaac 124260

ES 2 271 092 T3

	aaaattcatt	tttattgatg	aaagacaaga	atztatgatc	agttgataaa	tttcaggcat	124320
	ctttggagat	attttatatt	ttttctcttg	aggctgttac	tgtgtcaaat	ctttcacagt	124380
	ttcataaaat	tgagtctcat	ctgaagcttt	aggccagatt	gttatccatg	gttgagcatg	124440
5	actctgcaat	agaaactaac	aattttggctt	attttaaagt	gataccatga	gatatatata	124500
	tatatatata	tagttttattg	tcattgtctc	ccccccaaa	aaaaactgta	aaattaattt	124560
	tcattatttc	ctttctacta	taacattagg	gttttttttt	ccttgtctct	gttggaattt	124620
	atttttgtgg	tgactcatct	gtggcataat	gatgaaatga	taaaataata	tcctgtgtac	124680
	ttccttttag	aggatgattc	acataaaaatt	ggccatcttt	tcctgtctgt	gtatattaat	124740
10	atcattggtc	cactgaactg	caatgatcag	aattatgact	ttccttgaat	aaagcatcct	124800
	gtttcctacc	cctaacccta	gaagagtact	ctttcaggga	gaacctattt	ttgcagctca	124860
	tcttattttg	gtagtttttc	accaatcatc	ttatttgcaa	tttcccaact	atttaattgt	124920
	catctttacat	taatattatt	ttaataatca	gactgtttcca	ttgttcaaat	tttaaaaaata	124980
	aatgaaagtc	attaatgaaa	agtattgtct	cattccatta	taatgagctt	cctcaagtat	125040
15	gttttcagtg	atgaaaaacat	gaccgtgtta	ttaaatattt	tgtggattct	tgccatacaa	125100
	aagaggacag	ttcatacatt	tgtgtctgta	tgcccttttag	ctctactgca	taaagaatgt	125160
	cgggtggaatt	ttgaacaaca	aaacaggcac	atgattttatg	tagtcttgcc	tacaaaaaat	125220
	acagtctgta	atgagactct	attgtcagtc	tctcatggct	acccacaatt	tcctatcaat	125280
	aaaacaggat	aataatacat	aacttagagg	attggttagga	agattaaagg	aagtaacagg	125340
	ttagcactgc	cttagcactgc	gcttgccatg	ttaaacaggca	cttaacaagt	agtagcaatt	125400
20	gtccttctta	aatgcatgga	aagcccatgt	cttagcatgg	catgtgaaat	tcctagcagc	125460
	actgaggtag	cccagcatcc	aagggtaaat	gactggagaa	ttaatgggaat	gggtgggcat	125520
	cagttttctg	tgttgtatag	aaagtttaaa	actttaaaaa	tagtcccaa	ttccagttta	125580
	ggagattatt	tttaatcagt	cttttgcgag	tttccagaca	aatgcaaaaag	gtaaaaaaa	125640
	atcatattac	agaaaaataa	gacaaaccga	caagttattt	ccagacgcgg	aaatagctta	125700
25	tcattaacta	ttacataaac	ggaactaaac	agagaccatt	cacccaatga	tatgtatatt	125760
	cattctttct	cttgggtata	cccttcttgg	atgtaacacc	cagagtctta	gtgtgccaga	125820
	agactaaaa	gcctacttct	gcagaggact	gtctotaaca	ttttttctag	gaatcaatgt	125880
	tgaaatctta	atttccagga	agcatgatgg	gataaagcat	aatgtgtgta	cgtgtgtgag	125940
	catgcatctg	gctgagcaca	tgtgcatgca	gatgggggtg	gggaaggaga	gagggacccc	126000
	ccctaagcaa	atggaagcta	atgggctgca	tcctataatc	ttaaatttgt	caatacaaaa	126060
30	ggaaaaagcag	agcagggtggg	accagatgca	gaagaacact	tagtagctag	tttagtggta	126120
	ggctctgcagt	attgctgctg	tggtttttgc	tgttgcctct	ttgtgttgtt	attttagttt	126180
	tcagaattcc	ggagaaaaag	gcacaggcca	aaagataaaa	atcctgcctc	aatccaacag	126240
	aaatgtactt	gctaaattcc	tgtgagaact	ctgcaaaagt	ggcaataaag	aatgcataat	126300
	aatatgaacc	acaaaaaagt	gaattctgtt	aacattctag	acaaaatgtc	catctgtctt	126360
35	ctcttgggag	aaaccaagtc	atttcaagtt	gagtaaaatg	aagtaaaagc	agtggtgatta	126420
	tgcaaaaggta	cagcaaatga	aaggaaaggc	aacactctct	tgaagagcga	gggagaaact	126480
	tcctgtatta	ctcactagac	aaagattatt	atcttcatct	tatagttgct	gccaatcca	126540
	caataaataa	aaagaaatgt	ttatttatatt	tggtcttgtt	ctaacagaat	ataatgtgtc	126600
	cggcaataat	tatatccagg	tcataaatat	tttaataaaa	tttaaaagta	ttaaaaataa	126660
	aaacaaattaa	gatggaaaca	aaaaatggca	ctccaaaacc	taaaaggctc	atcatgagga	126720
40	cactcatgtt	tcccagaatc	ccggaccaag	cgtgactaat	ttttctagca	aatatacact	126780
	ttgatagaca	aacatgttta	tacaagttct	acagtgatta	tgaggtacca	actagtctct	126840
	agagaagcat	aattattcct	gatcaagtcc	agaaagacat	ttttctggat	gttattaatc	126900
	ttaatgggta	ctatatgtga	ttgtctttta	tgtgtgagag	tttacaagag	ccttgaagaa	126960
	aatggagag	atggatgggt	atcacacagag	agagagaggt	gcacacacac	atagatatcc	127020
	acatatatct	aatataattc	tcaaaacgac	ttcattaagg	aaaattatgg	acgttataaa	127080
45	aaagaagcag	tgaggaacag	caccagaat	tgatgagaac	caacaagaaa	acatataagg	127140
	ctacaataac	tagaagtgca	tgacttaggg	ttcgcagaca	gatgaatggg	caaacacgca	127200
	ttgctataaa	gaaatacctg	agactgagca	atttctaaaag	caaagagggt	taattggctc	127260
	accattctgc	aggtgttaca	ggaagtgtag	caccagcgtc	tgctccttgt	gaggcctcag	127320
	caagcttcca	gtcatggcag	aagggtgaaag	gggagcaagc	ggtttcacat	ggcgagaaca	127380
50	gaaacaaaag	agagaggagg	cgccaactct	ttcaaacac	cagatctcct	gtgaatttag	127440
	agcttagagc	gagagctcac	tcgttatcat	agacagcacc	aagccatttg	tgagacagct	127500
	gccccgtgac	ctaaacacct	cccagcaggc	cccacctcca	acactgggga	tcacattttc	127560
	acatggggatt	tggaaggagc	acacatgcaa	accatatcac	catatatcca	ctcaaacac	127620
	atgtaacaaa	gtgtcacaat	gaatgattaa	aagacatatt	aaacaagtta	agttgggaat	127680
	actaaagccc	tctcactactg	tgtccggaat	tgttgggttc	ttggtcttgc	tgacttcaag	127740
55	aatgaagccg	cagaccttgg	cgttgagtgt	tacagttctt	aaagatgggtg	tgtctagagt	127800
	ttgttccctc	tgatatttgg	acgtgtccgg	agtttctgct	ttctgggtgg	ttcctggctc	127860
	cgtggccctc	aggagtgaag	ctgcagacct	ctgtgatgag	tgtttacagtt	cataaagggtg	127920
	gcacatctgg	agttgtttgt	tcctcccgct	gggaagttctt	tgtccctcct	gggtgggttcg	127980
	tggtcttgct	ggcttcaggga	gtgaagctgc	agaccttcgt	ggtagtggtt	acagttcata	128040

ES 2 271 092 T3

aaggtggcgc atctggagtt gttegttccet cctggttggga gttgtttgtc cctcctgggt 128100
 ggttcgttgt cttgctggct tcaggagtg cgtgcagac cttcgtgggt agtgttacag 128160
 5 ttcataaagg cagcgccctt ggagttgttc attccttccg gtgggttcgt ggtctcgtcg 128220
 gcttcaggag tgaagccgca gacctttgcg gtgagtggtg cagctcataa agacagtgcg 128280
 gacccaaaga gtgagcagca gcaagatgta ttgcaaagag caaaagaaca aagcttccac 128340
 agcacggaag gggacccaag caggttgctg ctgctggctt ggggtggtctg cttttattcc 128400
 cttatctggc cccaccaca tctgtctgat tggccattt tacagagcgc tgattggtcc 128460
 attttacaga gtgctgattg gtgtgtttac aaatctttag ctgacacag agtctgatt 128520
 10 ggtgcattta caatcctttg gctagacaga aaagtcttcc aagtcccccac tcaaccacaga 128580
 agcccagcca gcttcatgtc tcaatactat gtatcaaac attttcttga tgaattagag 128640
 caaggatatt taaagaatga aaaatgtaga gaacaaaaag aaaataaaat cttaatcttg 128700
 gatagtcaaa ggcaccctaa gcctaacaga ataaaatcaa ttacaaagaa gaatgaattt 128760
 gaatttttaa acaagtcaaa aataaccacc aaaaatattt tctaaacaaa atatgaata 128820
 caaccttaac ttaccatttc agtaagaaaa tgcataatgg acaagattta ttgtctatat 128880
 15 ttggtttttg ttatcaaca tgcacactgc tggcaaggaa gcacagatag tgtgatatat 128940
 tgcattgtggc agtgaaaatt tgtgtaactt ttctgagaat tgggttttta ttatataaaa 129000
 tgacactaaa aagcatctta tcttttgatc ttctaattgc atttataaaa atctctccta 129060
 nagaanagta acctgagatg catacaaaga ttgactctca aaaaatgttt ttgtgtgcat 129120
 caaggatatt ttgaaaatt ttgaaacagt ttttctgtcc aacctagta gaatgactaa 129180
 20 gtaaattttg aaatatagtg gtttatcatg caattatcaa aactatattt ttatagacta 129240
 attagttagt taagtcatga gtgagagaaa tggtagatg aaaaatattt taaaaatttt 129300
 accaaactat atttgcagct gaattcaatt ttgattcaag tacatttcta tgcctagaaa 129360
 caaactgata gaattgttaa attacaanaa aaaaatata cattttttgt tatatgtgta 129420
 tatatatata tatatattta aaaaacctgt tgtttgaatt attttatgct tcatatat 129480
 tgggtattttg agatttttta ctatganaat ctccaanaa ggaacacagt ggactgataa 129540
 25 acaaatagat ataaaaacct actttatagt taaacatcag tgagaaaaaa actgtttttt 129600
 aaatggcaag tacatgaaca ggtaaagtcc taaaagaaag aaaatacaca cacacacgga 129660
 catgctagtt atatttacaa taaaactaat ttagggtttt gacttgtaaa atattttatt 129720
 aaagttaaat aatttcaatt aagtgtttat tcataaacag ctatcaagtt tatttttaag 129780
 gtattaaagt actaaataag cactattaga agtgtggctt tgaaatttat atctgcaaaa 129840
 gaccacatca tttttgataa agctctttat ttgtgagctt agtgaagaga aatgagaaat 129900
 30 caaagtgtat tacacaggtt actttttcac atgataagag aaagatacag ggagggagga 129960
 aggcaggaat tgnntgagat tttagaaaa ctccagattta aaacttttaa aaatgaagta 130020
 ttgggcagta ggaatgagc agagaaaaa gtagtcatat ttccacattt gtaaagagaa 130080
 gaacaatagc caggcaaaact ccatgtctga agtgtggttt attttaatat gcaaaacata 130140
 agcatttctc tgaccaaaagc tgctttctat ttaaagctaa atataaaaa atattttttg 130200
 35 agcatagtat tgcgagaaca tagtgaaatt tccatgttag attctgtgct gtttttagtta 130260
 cggaaatatt tttaattaat cctccattta acaatggggc atacactgt gtttttcgaa 130320
 gcactgtttt gtatatatta gtaattatca ttgcactgaa atgaaaaat caatttcatg 130380
 tacaatttta tagcacatat ttgattgaca atgaaatgca tttaactat aaaaatgtaa 130440
 tatggctgac attagcaaaa tctcttatta agaaataggt cataagtagt ccaagaaact 130500
 tgacagctcg tctatgaag agcattaatt caaaagtccc ctatttgcat aaatctccag 130560
 40 gtctcatctt cacagctgtt tgttgcacg tagacggttg cagttcaaca ttattttaac 130620
 ataactgggt ggaagtatac ctttcaacta aaaataccat gctctgcaag aaagattgtc 130680
 aggggtaaaa tataagttca ttcagttgat cttgatattt ttccctaaaa taatatattt 130740
 taatacagga actttaagtc tcaaattact gaaatatttt tattattaaa atatatattt 130800
 taattttata ttttcataaa aataaaaaag ttatgtgttc atacataaaa atgttaatca 130860
 45 gttagagctta ttttagcaaa gagtaaaaaa tactgaggat atctattttt cattaatcag 130920
 ccaagctta tatggagtgc aatatagggt tgctggaaaa aagaggatta aaatttttag 130980
 atattgtgta gaatatgcat gtatgttctt tgttttatta attttaataa tggaaagga 131040
 tcagcaatta tttagatctta aatgtctttt acctgtaaca cccaagagca cagaaggaa 131100
 caaagtcaag agatctcagc ctggatactg agcaacacca tttgctacct gtaagctgga 131160
 gtctttgatt taaacctat gtacttcagc tctccatctg cagtaggggc cattatatct 131220
 50 acagtaatca cttcacaggg tcattgctaa gattatatta aataatggac aattaactac 131280
 tgtgggaatt gcaaaagacc atacaaatgc tagtctggtt tcagtgcctg ttctcatatc 131340
 atttcatctt agctgcaatg aaatcctagt acaaatcat gacctgttcc agctgtcatt 131400
 tatggtataa tacataaaaag ttaacccaag catagccaag gaaagagaca attggacata 131460
 cctacatata ttttcataac tagcaaaaag attcgtgggt ttttgccaat gtgcttctgt 131520
 55 tacttttttt tctttttact cttgaaatta tatttaagtg tagactccac tttaaagta 131580
 ttgctgctgg aataggcata atgttctgat gtctgctttg cttctaatta tgttcaagct 131640
 cattttgaca ttttaaggcca attacaaaag tctagattca gaagactttt ccttagtcat 131700
 ctaaaatttg acaataaac agtttttttc tctctctctt ttattcattt aagtggtagt 131760
 cttggcaaca agcatatttt gggaaattgta aaagcaaaat aaataatgtg gggttcattt 131820

ES 2 271 092 T3

5 gaaaaaagaa ctacttggtc tttcttgcca acataaaagg cagtcacaga attaactgaa 131880
 accaccagtt tcaactttat ttcctcctaa atcacaagga ataaggaatt attttacaga 131940
 tacagtata ttttaaaccg ctaagttcta ttaacataaa ggtaattgac ttcaacagat 132000
 ctctaattcc aaaagagttc atacatagag agatatgtat aaaaatagct acaaaatctt 132060
 tatcattttaa aagtcactca taattaaact cccagacta ggaccctaca ccaaaattca 132120
 gttagtgttc cattgctgtt taacatccag tcatgtgatg acttacgaca tagagcaaa 132180
 cacttaattt acctgcctcc ttattttcag tcaatttgcc aactgcaatt tttactgttg 132240
 attcagtaga agaccctgat gagttgacag caccaaaagg caattcatag catctattag 132300
 taagaagtca ctgtagcttc tttgtttaac ttttataggt aagatctggc ttggaaaaat 132360
 10 agactggaaa gtatatgtga aaaaaaaca aattttccaa ttgactgtca ttatcagtta 132420
 atagattata gaatagtaga cttttatagc tggagatat gtatcgtgta cttcaaagat 132480
 gaaaggaaat aatgtctttg aaaacactgt caaattttca aaattatgta tctaaaagaa 132540
 attcctttaa aatagttta tcctttata ttttgaaact ttataaaaaat ggaatcacac 132600
 catatatgac caaacatttt aagtcataaa gaatacacag gaattctggg cggggcagag 132660
 15 tggctcacac ctgtaatccc agcactttgg gaagctgagg tgggtggatc acctgagggtc 132720
 aggagttcaa gaccagcctg gccaacatgg tgaaccccg tctctactaa aaaatcaaaa 132780
 agtcagccag gtgtgtgtgt aggcacctgt aatcccagct acttaggaga ctgaggcagg 132840
 agaattcgtt gaacctggaa ggtggagggt gcagtggagc aagatcgtgc cattgacatc 132900
 cagcctgggc gacaagagcg aaactctgtc tcaaaaaaaa gaaaacatag gaattccgga 132960
 atttaaccac tgtgatagaa gtgtcttttc cttgggacaa tatttttaag gcagatttca 133020
 20 aaattattat ttcaactatt ctttatataa tgctttatta tttttaaagt attcacatat 133080
 atgttatttt gattttcaaa acaatcttcg agtgacaatg ggattgcata ttgtgcaatg 133140
 gctggtctca ggacggctga atgtttttcc caaagccgtt aagtaagtcg gtgacttaga 133200
 ctcagacgct gtgaaagcag aggtctgagta cttgggttctt gacctcactg atctgctggc 133260
 ttacagagca tcctggtctg catactcagc gattcaatct ctatctttaa cgcagctcct 133320
 25 cagccattcc ttctagaaag gtgatctctt tagagtgaga gcagtgtatg aggtggccta 133380
 agttacacca gggggagcag ctttgaaaag ctctggctg ataggcatgt actaatggga 133440
 gcaggagctt tgttggcagt gtcgaagtc ctttgagggc tgtgtgagga gggaaacccat 133500
 ttccctggga tatagctctc tccacagggc agctggatgg ctaggggcag ccattggagta 133560
 tcagcttcac ctaggaaatc atatttttcc tgagggttcc acaaaaaaag acagagtaga 133620
 30 ggaatttgaa gaactgggaa gagtgtgatt gaattggagg gatctgaaat aaagaatatg 133680
 ctatggtcaa tggctctaac caacagtaact atattttatac tccaaattcc aaatccacac 133740
 tatgtgtatt taggtacaat ttagtttagc catagtaagt tgtggcttct ggagctttta 133800
 tttaccatag gatttttaaa acatttcat tggttttctc taacccttaa 133860
 ttctccacaa gatcttcac cgcagctta tgactttgcc aaccaatata ctttttagaa 133920
 atgtaacccc aacattagggt acgaccagca ttactgtat atcaatatta tcctaaatat 133980
 35 tgctgtagct ttgaatagct gaattagtt ttaaaataaa gcaaggaat tataaaacaa 134040
 aatattaacg gattatgagg tcagtgggtt tttctgaaga taaactatt ctactaatta 134100
 ttgctgtttg ggaataatag aaacaaggag actgagtaaa tgaatcatta aggcaattaa 134160
 aaacagaaga gaagtcactt ttgcactcag tgaataccat caaggcaagt cttctatttt 134220
 agggctgtct tatagtaaga tataacaggg actctctcaa taaaaagggt gagtactat 134280
 40 ataaatcac aagtagattt tattttgaaa gcaacttttt ttgtagagaa agagtctctg 134340
 aaaccagtta aagatttaaa aagttgatag aagttatgtt gtaaaatcaa agttatatgt 134400
 ggatgatacg agttgtattc cccaccacat ttaaacattt ttagtgtata tattttttaa 134460
 tgaaaaaatg tacattttac acgtatttta gtacaaacag taaaaaaaat gtcagaagta 134520
 atttatcaaa acatatgttt acacaaaaac ttgtatataa atgttcataa cagcattatt 134580
 cataatagcc aaaaggtgga aacaacccaa atatcaactg ataaataggt aaaaatgtgt 134640
 45 atatccatta ataaatatt atttggcaac aaaagggaaat gaagttccga tgcatactac 134700
 aacatggatg acccctggcc acatatggg tgattccatt tatagaaat atccagagta 134760
 caaaaagcca tagagacaga aagtagatgt ctttgatttc caaaggctga gggaggagg 134820
 aatggagaat gacagctaac aagtatgtag cttcttttgg ggataaagag aatgttctta 134880
 aattagatag tggtaatggc tgcacaacca tgtgaataaa ctaaaaccca cttaatcgta 134940
 cactttaaaa ggtgaacttt atggatgca aattgtatct caaaaaccta tttcttttaa 135000
 50 aagtcaaaaa aaatagtata gacccttcc atagttcctt agtcttctcc attctagtcc 135060
 tttagagttac aggtttattg taccacttt caagcattta tatgcacaca aaagcatatc 135120
 tatgtgcttg ggatagtaga aagggatggg actatatatt ctacttactc tactttgacc 135180
 aaaacccaag atgtttaacc attctacttt ttcttaatat ttgactatgt ttgaacttaa 135240
 attgatattc acacatacta aaataccaaa atatgcattg agtcatcaa tttcaaaggt 135300
 catccatgat attttttaag ggcttaaaac tccttngcat gatonttcag cctgtttant 135360
 55 tcagcatagg aaaataccct tgccttgcc tccactaact ctaaggaaagt ctattagaga 135420
 tatttagggc cagaaatggg ttcttggggc ttgagagaga aaaggatctt ctgctattga 135480
 tgatctggct ctgccatgac cctatggcat gggctctcag tggcctgtg ggaagcctag 135540
 tgtaggcaac atggcctagc ccacctatgt tgatgtttaa ggggtgctag gaacaaaaga 135600

ES 2 271 092 T3

gaagctgtgg aaacttttgc ttatccccct ttcttccctc tttgggtggc ttatttttat 135660
 ccgacgctct taatctcaac ttataaccgg aaaatacagc accaaagcgt gagggcattt 135720
 aggggaaaaa tgttatctgt tttggaagta atatcaagga agatcagggg caaatgcaga 135780
 actgggaagca aggactaagg ttggatttag caggatttcc tgaaagattg gatgtaggat 135840
 gtgaggaaat gagatgaacc aaagatgtct tcaggggtcat tggcctgaat aacttgaaga 135900
 atagattttg cattttcttg gctgggaagg agtgcagaaa gaacaggttt gaaagtgggg 135960
 catgaggagt ttcatatgac acatcaaaata cttgagattc ctgttatcta acatctgtcc 136020
 aagtaaaaat gtggagtga ttctggaggt ggggctggaa atataactgt ggaagtcac 136080
 agaacatata agggatgtga aggcattaca atggatgaga tcaagcagggt agtgagtatt 136140
 gagatataag aaaagatctg aggtcaagta ctggagctct gtaacattta gacattagga 136200
 aattgaagag aaaccagcaa agggcactgc aaaggcctgg cattggattt tgtggctctg 136260
 tagtgcagt ctctggctct tttggtgact gaaagatgct tgttcactgc tttctctctg 136320
 gttttccacc ggagcatccc tgtgacattt ctatatatat atatttattt atactctaag 136380
 ttctagggtg catgtgcaca acgtgcagggt ttgtacatat gtatacatgt gccatgttag 136440
 tgtgctgcac ccatttaact ttactttaca ttactatat ctccaatgc tatccctccc 136500
 cctccccccc accccacaac agggcccggt gtgtgatgtt ccccttccctg tgtccaagt 136560
 ttctcattgt tcaattccca cctatgagtg agaactgcg gtgtttgggt ttttgtcctt 136620
 gcgatagttt gctgagaatg atggtttcca gcttcatcca tgtccctaca aaggacatga 136680
 actcatcat ttttatggct gcatagtatt ccattgtgta tatgtgccac atttctctaa 136740
 tccagtctat aattgttggg catttggggt gggtccaagt ctttgctatt gtgaatagtg 136800
 ccacagtaaa catatgtgtg catgtgtctt tatagcagca tgatttattt atttattttt 136860
 tccaactctt ttttttatta tactttaaat tttagggtac atgtgcacaa tgtgcagggt 136920
 tgttacctat gccatgttgg tgtgctgtac ccatlaactt gtcatttata 136980
 ttacttatat ctccaatgc tatacctccc acctcccccc accccacaac agggcccggt 137040
 gtgtgatgtt ccccttccctg tgtccatgtg ttctcattat tcagttccca cctatgagtg 137100
 agaaagtga gtgtttgact tttgtccttg tgatagtttg ctgagaatga tagtttccag 137160
 cttcatccat gttccctaca ctcactcaat ctcatcaatt ttatggctgc atagtattct 137220
 atggtgtata tgtgccacat tttcttaact cagtctatca ttgttggaca tttgggttgg 137280
 ttccaagtct ttgtatttgt gaatagtggc acaataaaca tacatatgca tgtgtcttta 137340
 tagcagaatg atttataatc ctgtgagtat ataccagta atgggatggc tgggtcaaat 137400
 ggtaattcta gttctagatc gctagggatg tgccacactg acttccacaa tgggtgaaat 137460
 agtttgcagt cccaccaaca gtgtaaaagt gttcgtattt ctccacatcc tctccagcac 137520
 ctgtgtgttc ctgacttttt aatgatcgcc attctaaact gtgtgagata gtatctcatt 137580
 atgggttttg tttgcatttc tctgatggcc agtgatgatg agcatttttt catgtgtctg 137640
 ttggctgcac aaatgtcttc ttttgaaaag tgtctgttca aatcctttgc ccactttttg 137700
 atgggggtgt ttgttttctt cttataaatt gtttgagttc attgtagatt ctggatatta 137760
 gccctttgtc agatgagtag attgcaaaaa ttttctccca ttctgttaagt tgcctgttca 137820
 ctctgatggg agtttctttt attccttttg gtgtttttaga catgaagtct ttgccattg 137880
 caattttggg tttgtttgcc cctaggtttt cttctagggg tttcatgggt ttatgtctga 137940
 ctatgtcctg aatggatttg cctgaattaa tttttgcata agattcctca tacattcctg 138000
 catttaagtc tttattccat cttctggttt caccctgttc tcatatatcc aaggaagatg 138060
 ttgtgcttcc accctctact acactgtgac cagctcatt attttcaaaa tctttcttct 138120
 atacactcta attagaaaca cagtctgttt attcaatag ttttcttttc cacttaaat 138180
 ccattaggtg aaatcatttg tctgggaac atcaatgtgc tggcaacttt gactttgtaa 138240
 ctgttcatgc agagactgat tcaactgcat ggctgatctc cattcatttg ttactttcca 138300
 tttccctttt gttgtcccat gatttttctt catagtttcc cattaaaatt cactagagat 138360
 gagcctactg ttggcaatct ttccctggga gggtagagtt gcttgttcca gatcacctca 138420
 gcttttgatt tacttatttc aagtaaaact ctcacccctg gtgcagttat cagcagggag 138480
 tagcaaaact gaccattctc gattgacctg tatagtgatg tttaatatgt gataatgtta 138540
 gcatctgcag catlaacagt acttgaatc acagttgttt actcatactt acatgtatag 138600
 ctagcagcaa acaaaatagc atagcaaaat taccnaact ccttgctaag aaaacctaa 138660
 gtttggactt gaggggtaaa agaaaattat accagcataa ctacagtaag gaagagctac 138720
 gaaatgaata aaatgacctg gaatagcagc tagggagaaa gaaaagaaga gaaagatgaa 138780
 aatttcatgc cattttctcc tcgcggagga ggagaagaga atgagagaga acatgaatat 138840
 ggaggaggaa aaggaaaggg ctgtctctct gaagaagtta tctgtggcca aagggtatg 138900
 tctaggctca tcccttaaga aaattcccca atctgtgaag gccacttggt ccagaggcaa 138960
 aacaacgaaa ccgtatactc agaaccactc atgtatagaa gaggaggctt gagagtgaag 139020
 cagagccctg gaaagtgata caatttttatt ttttccagtt ctgctacaaa aatgtagcat 139080
 aataatccac tagatctcac aaaatgaatc atctccatt ctgctacaaa aatgtagcat 139140
 gcaaaatgac ataccctctg aaaacagaag cttcaagagt acaggaagct caggataaag 139200
 aatgaaaata tgaagagaca gagttgtcct attcgcctat acagagaacc aaaaccaaca 139260
 aggggtgtcg aaagcccccag tcacctggag tcagtgaggt gggaatgatg gctggagaga 139320
 ggaggacatt gacttctccc

ES 2 271 092 T3

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

```

ggccagtgaa tttgggggaag tgaacactta ggactsgatta gttctggctg caataaagat 139440
ttcctgaacc tacctgaatt gaagaaatat ctgaagcctg atatttcaag cataattgcc 139500
catacacagc ctcagctaatt acttctctcc cgtgaccctc ctcctcatac tgaacagta 139560
aaacacagag aagaaaacct cgttgataaa ttgaaaaagg atgctaatag gtgggatgag 139620
atatctggaa taattctctg cccctgtatt agaaagaatg aaagatctag ataataatgt 139680
taaaagtggg aattttggca actgtggaac cagtcctaga agaaattagt tcaaatataa 139740
acaggtagtg agaggacccc aagaataata tctatgagag taagaatcaa atggtttctg 139800
ggcaattgat ggttttaaga aagaacatct gcaggatagt aagaagggtt tatttctaatt 139860
gataagtgtg atgtgtgaga atctggaagc tacttgagat agaagaaaga aagaatatat 139920
ttanttttcc caatgagaca tgtgagaaat agtcagaaaa tctcagcaaa aacaaaacca 139980
aaccaaagat tgtattaaaa aaaaatggct caaataacgt gagttaaatt ggcccagatt 140040
ctgagcaatt aatggaaagt aagggaagggt ccatttaacc ttgaccattt actgtctaatt 140100
agagtcttgg agggggaagt ataatttttag aacattacct ggcccaagag tgagcaattg 140160
tttcaatagg aacattgact atcaacatat tgattatcaa cctgctgaga agcacggatg 140220
acccaattat gatagaaaaa caaatgttaa atattgtcaa acttgaggat ataatgtat 140280
acatgacacg agatggaaaa tgaaagcaga gagaagagggt gacctgacaa gtggcaatgg 140340
taataccttc atctcacact ggaagggggtc aagtctttct agtttgatgg aaaaagaaat 140400
cgagattttc atacaatttt aagggaagtgt gggagtgatg ttgtgctga 140460
atgaaatctt cacatatcat agcagaagtc tatgtctaaa gtggataaat caagaaatcc 140520
taaataggga taggcataac gccatcagaa gtgaaaacaa aaaattcctg tctcattact 140580
tataccaaaa taaatttcag atttaaactg atttaaacag ccaattcagg ttcaacatgt 140640
ttaaaataat aaagcaagga aagtgtcaaa ctactgcata aaacctggg taaatttatg 140700
tctaatacat cagttagaga agtcttttta agcaaaaata aaacacttaa aaggaatgac 140760
aaattagacc acactgaaat ttaaaactga tctttgcaaa aatataagaa atgtatagg 140820
gaaaatgcac tgaacataca tggcagataa aagatgggtt tcttattttg taaagagttg 140880
gtggaaacca ataaagaaaa taaaatgggtc aacagggcag aaaaatggaa taacatcgga 140940
ataggtagtt cagagaaaca acttccctctc tgccttcttt ccactgaaac tctactcctg 141000
tgcattactg aggtcagttg cttcattttt ccaaaaactgt tcttgattca cccaagagga 141060
ctaaattggc tcttctctgt tctttatttt cttttttctt ttgagacagg atctcgctct 141120
agttactatt cttccctttc gtggcacaat ctcagctcac tgaaacctcc gcctcccagg 141180
gttgtccagg ctggagtgca tcttcttccct agtagctggg attacagggt accatcacca 141240
ttcaagcaat tcttttgtat ttttagtaga gacgggggtt caccatgttg gccaggctgg 141300
caactggcta ctgacctcaa gtgatctgcc cgccttggcc tcccaaagtg ctgggatcac 141360
tctggaaact ctcacatgcc agccagtatt cttccttttt gagaattgat cctgttcatc 141420
aggcgtgagc cctctcaatt atacaattct taaggaaga aactatgtct tactccactc 141480
tttttcttcc cctctcaacc tttagtaacc actaataatc cttgtttgaa taaataaaga 141540
aatccccaat gcatacaacc gtaagtcagt aagtgcactt gagtcactat ctcaagcaca 141600
gcacaggccc tactggacaat tctggataaa aatctccaca aaactgataa ggcaccttcc 141660
ctaccatttg aatttaaat ttcagcctct aatagaagta tttgttggca ctacctttca 141720
aagcaagaca caagttaatt gccataaaca cccagatccc attgtcacag aaagccttgt 141780
ttgttttatt caattcagca atctcacaat atgagctttc aggtgggtga gctgtgtgga 141840
tcgcaaatat aatttagtgc cgagactctg aaatgaaaag aggataaccc cagtgtctct 141900
aattcgatbt tttttcttcc aacaacagat tacaatccca taactccacg ttcccaagca 141960
gcccacatcg cttatctcac taatgcaaca gatgagaaaa catcagctgg ttcatgccc 142020
gctactgtgt aggtgcact tacattttta gtctccagat accaaaaata atctgttggg 142080
agacagctga agttgtcctg ctacttttgg ggaaagaaag ccatgtccag tgaaatttct 142140
cttaatacat gaggcathtt gactcttcac ctattgctgt tgaatctcca ggatatgtac 142200
tttatactgg caggatattt tcattgaaga aaatacagca atctgatatt tttatgtgaa 142260
atgtttttcac accgatacct cctcaccttt ggatacaata aatattcaag agaaaaaaa 142320
tcactcttgg aattcgtgtt cctcaatgat gagttctgaa atacttataa ggataagtga 142380
tacaggaaaa aattctcaaa agcaatttta gaaggaataa tttttgcaga gagtggctgt 142440
ctcttgggga ccataacaag aaaaatagta tattgccctt ggtgatgggt cggtcaagta 142500
tcaataacaa cacgcttcat attttcatga acaaaacact tcttcataag gtaatgagat 142560
tatagaaaaa tcaactcaag gtaaaaaata ttactttgca catggacaaa ggataagtgg 142620
aagaacttat cttctagttc gtggttcatt taacaattaa ttgctccttt ttcaaatagg 142680
tocactgtgt tctgggcctt gaacagtgt tcttcagcct tttggctaag atcaagtgtg aaaattatac 142740
ggaaattaca gttaggctgc gcctggtaga tcttgggtag acttcactga atgcaggatg 142800
ttagattact atgtaattag actttggagt cctaagtgcct ggggtgctact tctattagt 142860
caatatttgg aaaagtactt tttgggataa tcacttaaca tctttgagcc tcatcttcc 142920
ccagaaatta atagtgtgac aaagaaggaa tcagatgaaa tcatctttac cagattaggt 142980
tatcttcaaa aaaaaaaaaa gtaactgggt ttctgtcttg gtctcagctc atccttgcac 143040
ctatctttag gtccccaggt

```

ES 2 271 092 T3

	tatcctggac	tttattttatt	ggaatcccaa	tatctgagaa	ttcaattttat	gtcttttatcg	143220
	tactgaagtc	tataaagatg	tttttaaaga	gtcactagac	tccagtgggg	caacttgctc	143280
5	cagatatcat	catagtctca	ttaaaaagta	tttattgact	actaatgtgt	ataggataca	143340
	tgagttggag	actcacagat	acacatatat	tttaattagaa	aaatatgtaa	gaatgaaact	143400
	agccaagat	attggcagaa	agtgtgtgaa	atcttttagct	tggctggcct	ttgttggaat	143460
	gctctatfff	ttattttttt	gtttgtttgt	ttgttttttt	ggctctggct	tcttccatga	143520
	tcttgacct	gtgccttgaa	acttttttta	aatcatgaaa	aatgtgtttg	tcttcaagct	143580
	gtccagtgtg	gcaatatcac	ttagaaatat	ttctttttta	aagagtccca	tgtttttaat	143640
10	atgatagcta	aaataatatg	atagaaaggt	accataaaaa	taaaattata	tgcccttata	143700
	tgcccttagac	aagtgtaat	cactataaaa	ataagtttct	cttagcagca	ggaacaaaga	143760
	aaaagtaatc	tggtgaaat	gttagatagc	ttgctgaaag	gaaaaaaatt	aacggcaaaa	143820
	accaagatc	ttgaatttgt	ttctaatttg	ctcaacagca	tttactgcca	acaaaactaa	143880
	ttttaattca	gggtaattat	tttcttattc	cacatcaaat	agttaaatat	cacattttta	143940
	agatctttat	tottatatct	ttcctatgtg	ttgaatcaag	actgttcttg	ccctgatcag	144000
15	ataaaaacct	ataatatgga	gatcaagtc	ttcaaacatc	acatgcta	ttgaagtgtc	144060
	atgcaagcct	aaagctagt	tgtaatacct	ttgttctttt	cctcttaggc	atttatgtcc	144120
	atgttccaga	tcctcaccac	ggaaggatgg	gtggacgtaa	tggaacaaac	tctaaatgct	144180
	gtgggacata	tggtgggcacc	cgtgggtggc	atctattttca	ttctctatca	tctttttggc	144240
	actctgggtg	gttcagcatt	tttttttcaa	ttatatcttg	gaatttataa	tgggatgta	144300
20	atcaacagat	atgttgccca	ttgtcaattt	caaaatggga	gccaaaggac	taatgcagac	144360
	taatctgggt	ggatgagatc	cctccttcca	ttctaagttt	ctacacatca	aagaactgct	144420
	tgatttggtt	agttagatat	tttctccatc	aggtaccagt	gtttgtaaga	gggaaaaaca	144480
	gacagaacaa	aatgaaaatc	tcacattttac	ataccaattt	aagtatcccc	aagcattcac	144540
	acctgatga	tctcaggatc	aaaccggaac	tccattatta	ttttttttct	catgtagaga	144600
25	cactgtcttc	agtttcactg	catcctcttc	acagctgtaa	ttaaactgaa	gacagaagct	144660
	atagacctca	gggtgcagtc	agtttaattg	aaatcagcac	agtggttttg	tgctatgtgc	144720
	gtagggaaaa	aaacacatgg	aaaaaaataa	aacacattgc	tgcaagtatt	gtaaaagcac	144780
	aagaaaactg	aataccaaag	tccagtaaga	accgacttct	gtcacacaag	cagatttttc	144840
	tcttcaatat	acttccatta	aaaacaaaga	aaaaatgtta	tgaaatgcag	cctgtgactt	144900
	actaagggaat	gtaataccaa	atgctcatct	ctatgtaata	aatttgttca	tatttaagaa	144960
30	gcaaacctaa	gttctaacat	cacgttagaa	gttccaagtt	gaggactcaa	atgtttccct	145020
	ttatcaggaa	tacaagaaat	aaatacaact	gctactattg	tttttggcaa	tatgtcttac	145080
	agttcaaaaa	tatcttacaa	tattatttgt	aatcttttga	acacccgatt	agatagtatt	145140
	cccagttaac	agatgataaa	actgatactc	agaagagttt	agtaatttat	ctgatgtcac	145200
	atggaatgta	aatacgacca	aggctgtctc	gatctagatt	tggtccttag	tggtccttag	145260
	tcttgcagct	aattattatt	gcttccctgg	ataatgaagt	ttaaagtgtg	ctgaaaaaat	145320
35	gtctttgtca	aatcaaaact	ctgccaaaga	atcactcaca	tcaaaacaa	tacatatatt	145380
	ctctaaggct	agttttaatt	ctaaatatct	atgaatgaaa	taagtccttg	ataaaactaga	145440
	tataacttag	aagttgtgtt	tgctatagac	agacagaggc	tttcaaaact	aagacatgtc	145500
	caccaaaaaag	ttaatgagaa	ttcattgtta	catggtgtga	agtcatgggc	tcaaacagta	145560
	gaactacata	gacatagttt	tggtcttttt	atcacaggag	ttgactttta	aaagttaacg	145620
40	gaaagatagg	aacattgtgc	aataggaatg	gaagcctggc	ttgcaaagct	gaatctggct	145680
	gtgctgggtg	ttgcacaaca	cttagccctg	gggtcttttg	atcttccctt	ccaggacctt	145740
	taagcctgtg	ccattttatt	atcattccat	tcattttcac	atcatttatg	ogttcaacta	145800
	agtttattaa	gctacttgtg	tttaagttac	tctaaaaacta	tggaattgct	cagactgttg	145860
	atgttgggtt	aaatgcagga	tagattttcat	tgaatcatc	tatgtcaggg	aatatcaact	145920
	taattatttt	atagtaatca	acctaactcat	tttcttaata	aagcaacaaa	atggtttact	145980
45	ttcctcactg	aaaatgtttc	acactcagat	atatgtttga	ttcttaaatc	agggacacaa	146040
	aaaaatgaaag	ctggaagaaa	aaactagcct	attacattat	ttagtaaaat	aacatttttt	146100
	caagtgaaaa	ttctactggg	gtcactaata	taataaaata	aaatattaaa	actgggtatat	146160
	agccttcttg	ggcaatctaa	atcttcttta	tggtctaaaa	tatggcattg	gttatagaac	146220
	acttaaggtt	catccaagga	ctcctggggg	tcacctgagg	cttttaggaat	ccacagagca	146280
	caagatgaaa	accaatctct	aattctactc	tttccactta	ctgattttaag	tatctacca	146340
50	aaacatctgt	tctaactttt	ttattgcaat	tttcaaaaca	cagttataag	ttaaaactga	146400
	aaattgaaat	aacttgttct	tttattcaca	cttttttaaa	gtctgtaagg	caatttgagaa	146460
	ttcagaagtc	tacatgttaa	cgagaacagt	ttggtaaatg	tggtgtcgta	caagactacg	146520
	aaattggagg	gcacaaatcc	agattcaggt	tctagctctg	ctggtcactc	gatatctgat	146580
	ttctgaagac	tcacataact	tccctgatct	ctctgttgtt	tgtatcgga	agtgaggata	146640
55	ataattcaca	atacaccag	tttccaaggt	tgtcatgtat	ctgcgagtt	accctgtatt	146700
	tctgaggatg	ttttagagca	ccagcactga	gcccccttaa	atgtagataa	gacgggttgt	146760
	gcattttaag	ccatatatta	ataaatgtta	aatttatatt	atgttcagat	attttttaatt	146820
	tatccaagta	tcatttatta	gggtatcatt	tatgccctct	cctgaattaa	tttccattct	146880
	tcttctttct	ctccttccct	atacctcttc	tcccaggcaa	tgactctgat	aattttaata	146940

ES 2 271 092 T3

5
 10
 15
 20
 25
 30
 35
 40
 45
 50
 55
 60
 65

```

t aaatttcatt ttccaatttt tagaacatat ttcactaaat ttaacattct gtcattcagc 147000
agaagactca gttttgtgtaa cactaaggag aaaaaacaatt aaactataca catagaggat 147060
aagggtgcac cctacttcag agttttttaa aggtgaaagt aaatgtgcat cttaaaatca 147120
atgaaatgca gaggtttccc acacatatat gcatccatta aaaatatagc atttagggcc 147180
agcacgggtg ctcacgcctg taatcccagc actttgggag gctgaggcag gtggatcacc 147240
tgaggtcagg agttaagat cagcctggcc aacatggtga aaccctatct ctactaaaaa 147300
tacaaaatat tagccaggca tgggtggtgag cacctgtaag cccagctact caggatactg 147360
agggcaggnna gaatcacctg aatctgggag gtggggggtt cagtggccg agatcatgct 147420
gtttgtacccc agcctgggca acaacagtgga aactccatct caaaaaaant atatatatat 147480
acacacacac agacacacac acacacnnnn gtgtgtgtgt atatatgtgt atatatgtat 147540
atatgtgtgt atatatgtat atatatgtgt gtgtatatat gtatatatat gtgtgtgtat 147600
ataatatgtat acatatagta ttttaaactt aaggttacca tctaaataca ttttttgccc 147660
aaaattctga agattaatat taagttttct tagtttgcaa agcactgctc cagtcaactg 147720
atggccatcc ctaggggagt ggtctggtta tacatacttc tctcccntat aagtcacgcg 147780
tgggggccaag ttatacatgg tcatgtgttt ccctccttat caattatttg tagcagcaat 147840
tttttagaaca aatgggtatca aactcaacat atattctgca gttaaatttt tcatggcta 147900
tttttttctg agatcttttt acttacttcc acatgaagct aatttgggtc ttgttataga 147960
gagccgtgtg gtactccgag gactgtgaat atgcatatt tgtttatcag tcccttttct 148020
gatggctatt taggtctgtt tccaaagttg tacttttata atgtcgcaat acatttatgt 148080
atcgtgcccc cttatgtgaa tttctctagg atatatgtcc aaaagtagaa tgccttagat 148140
ttaggtactt cccaatttgc tctataccag ggacctgcaa gccagatac caaatccagc 148200
ccaccacctg tattatacaa cctgtgagct aaaaaagggt tctataattt agtgggtata 148260
caggtaccaca cagaatatcc tcagtattgc ctcatgaccc tcaacgtcta aaatgtttac 148320
tgcctggacc tttaaagaaa cactgtggac tctgtctcta tagataaatt gtgctaattt 148380
accctcccaa gtgcaatagt tgagaattcc tgtgttctta cactctcact tagacgtcac 148440
attgtttgac atgtgaggtt ttggcaatct tatgagtga cactgggtatc aattgggctt 148500
gcattttttgc atttccataa ttattaataa gggagcacct ctactatgt ttattgacca 148560
tcttttttgt gactcaattg tttgctttac ctattttcct aaaaacaaat ttgtcttaac 148620
tcattttatt gatatttgtt ggatattaat ctcttgacta ttacatgtgt ttacatgtgt 148680
ctctcttagg cagtattttg tcttccagtt tgtctgtgat gtcttttgac attctatata 148740
ttttttattt attttttagt aacaaataat aattgtatat atagttagtcc tcttttgtcc 148800
ccaagggaaa ctttccaaga tttccagtag atacctgaaa ccatggatag tacagaaccc 148860
tatatatata atgtgtttta ttatacatat ataactttga taaagtttaa tttgttaatg 148920
aggcatagta agaaattaac aacaataata acaaaataga acagtatga caatatactg 148980
taataaaaagt tatgtgaata cgcattctct ctctgtctcc atctctcctt ttcaaaatgt 149040
cttaatatatt tcaggctgtg gctgaccaca gggaaactgaa actacagaaa gtgagacagt 149100
ggataagggg ggggctact gtatttatgg ggtacaacgt gatgttttga tacatgcata 149160
cattgtggaa tgatcaaatt aggtcaaac tatcgggtttt tcaactgatgg tctgtattta 149220
ttttgacctc atgcttaagg aattctttcc cacctgaggt aatacaaaata ttctctata 149280
tcttcttcta atgttttaca atttttgctt ttacacttta agtcttttagc tcatctctac 149340
ttactagtta gatatagcat aagctagatg aaatatactg tttaaataaa actcaaatca 149400
atttttctca gatttatatg agaaactgca aggttttagaa tatttatttg atttatctga 149460
ttatgaagtc taacacaaaa aaggtaaaact gttcaaaact ttaaatctct aaattatttt 149520
ttaaatgata tataatttaa taaaaggaaa cactatataa ctaaatttaa acaaagatta 149580
tcacttctat actacccaaa aaaagtctaa tactgaagtc acttccccag ttcaaaaaaa 149640
atttttgctta aaacatggtc agcagttggt tctcttttcc tttgtaccct tagactaaca 149700
gttactgtaa tgggctttat gaagtgaagt caatttgatt tgatacagtt ttactgaacc 149760
tctactacca cgtgcaggta ctaacctacg tcttggccaa agtgggaaag agcttaattc 149820
atgtcctctt aggggctaca aataatttga aattagcaat aacgaacaca gacaggctaa 149880
ccaacaaaca aataaaacca gtggttccaa ggcctaaaga tgcaaatggt aagagaggca 149940
tgtgtacatt gctacttgct atgtgatcaa taacatctg cttccagtt gttcccaatc 150000
tgcccttatga gaaatatcaa aagtagtggc agtgaaacag ctggagatag tctgtgggct 150060
aacatataaa cacatgcgtg agggtgacag gtctgtgtta cacacacatt gcatgcccct 150120
aaaaactaaa cttcacaaagt taaaatattc cataagcctg tcttcagagc tgaacttacc 150180
ttaaaatgag catttttgtt taattgtatg tttcctttta caaaatgcta caacgcattt 150240
taacccaaag ggggtgagaag ggaaaaaaaa agtagtctgt gtaaacatac aagctctgat 150300
gtgtcttttg ttcacaccga acagtgggtg catacaactt gatgagttcc tgatttagtc 150360
ttcccaggga caggcatgtg ccaagcagcg aaaaataaaa tgtgtgggtg cagcttggtc 150420
tggaataaag aacagcaggc tatttcatca ccctggggg caccaatttt cagccacaa 150480
tgaaaaatcaa gctgaagtat atagcaaatg catattcata acctccatgt attgtcccct 150540
tcaaacatct ctctcttccg ccaggtatgt attctgtatt tctgtcctga ctgattgcag 150600
cttattgaat gcttggttaa ttcatctttt tccccatctt tgccaatgat ttggggatag 150660
ggactatgga agacctaaca agttgaaaga ctccattttt cctgcaatgt ttttctgtct 150720

```

ES 2 271 092 T3

attactgttt caaaggaaag ccctgtgatg tgaatactga aaagaaagaa aatgtaatta 150780
 agcgttcatt gtgggtagtc tttttgttac ctttgaagtg ctgaaattaa cacagcaatc 150840
 tcttgatttt gcctcggttag tggcagcttg ctgagaatag tcatattttg ctgacacaaa 150900
 5 tgggcatttc aaagtgtaaa ttaataaact tgattgtata gaattcattt aaaagtgcac 150960
 ctgtgttgaa cgtatcccat tttacactgc gctgattaca tttgactttt tgttgaccca 151020
 tataaaaagt gaaattgttt cataccacag gcggcaagac agcttaggat aggggtgatta 151080
 taaatggtaa acaggaaaaag aaaaacacaa gagtgtggga cattgattcc tgcgtgtgtt 151140
 ctagtgtata tttcaaaata atttaaagat aagaaattat taataaagtt cacagcaaa 151200
 10 acgaaaaata gattaaaggt gaaatttcag ctaaaggagc atctttaagc tatataaaag 151260
 gaaaaaaatc ataaaattaa acttcataaa aagaaagaaa aatgaaaagg gaaagctata 151320
 tagggtaagg ccattggctat ctgcagagtc agagagaatg taaaatagga tatgttgctg 151380
 caggagagaga aattttcaac cagaaaaatcc attgtgaatg acaaggctgc cctcttgcaa 151440
 aaataaatca tacttttcag ctgtttgaat catgctaacc caaaagtctt attccgaggg 151500
 aatgagaact acattatgtt ggacaaaatg atctgcacaa caacaaaatt ggaagaaata 151560
 15 attatacttg caaatgcaac ttttcagta atttattgaa ttgactgaa atttattgta 151620
 gttaaataga aaaaaataa atatatctgt ggctcacatgt ataaaactta aacagagcaa 151680
 ataactacca cagncattaa ctgaggtgaa tctgggctgt ttcagaggna gaaaaaggaa 151740
 gaggaggtat tagagaaaga ggagcgtcat aaagaatatt agagaaatca aacgcctgtg 151800
 agaccctggt ccattgtacca gtttgaacct ggaaaattac gcttttgaaa tccactaata 151860
 20 tgaagggtca aaatcctatt atatcattca taaatattct gagagagact tcccagactt 151920
 cagcaggcct gataatgttg cattttccac actgaatgca ttgtcaatgc taacataacc 151980
 tttagcaatgg gcattataat ctgagggaaa taagaatta gatattctgaa atacattgtt 152040
 attctccact ttttcattga catcactgat tcatatcgta tcaatatcgg tcataaaaat 152100
 aaaaagtggg tacatacatc agctgtatat tacacagtag gacaaatgct gtgttgcata 152160
 25 ttaatatgat caaacgctat agacctgtta aaagtgccaa atagtaaatg catgaaaaaa 152220
 tagatatattg gctttctttt ttacagcatt atgaaaagggt gtgtcattag cctttttccc 152280
 atacatgtac ttagcagggt tcaagaggag acatagtata tccctgtgca gtataaattg 152340
 ctgaaattat atcatataaa aaaaataggg acatagtata tccctgtgca gtataaattg 152400
 aaatatcggg ccaggcgttg tggctcccc tataatccca gcaactttggg aggccgaggc 152460
 ggggtggatca cctgagggtg ggaattccag accagcctga tcaacatggt aaaacctgt 152520
 30 ctgactctac cacacaaaaa tttagcctgtt gtggtggcag gcacctaata tccagctac 152580
 ttccgagggt gaagcaggag aaccacttga acccgggagg tagagggttg agtgagctga 152640
 gatcgacca ctgactcca gcctggggga cagagagaga ctctgcctca atcaatcaat 152700
 caatcactca atagaaatat cacataaatc taaatattta gaaataaata atgcaaagca 152760
 aattagttct caacataaaa aaagtgtttt cacaaaaggta aaagtgtttt atacatatga 152820
 35 tgacactcct gtgatttaat gtggcaagtc cctgtaaaaa tcccttatta catcaatacc 152880
 gttttaatat gaacctgtaa atcacattta gtggctatag aaaaaccttt tggcacagca 152940
 acatgtggta gtgtaggtaa acattagctg aaggtaatat gcagacatcg ctgtaattgg 153000
 ttctgattac taatgagcat tacctcagct ttctgtaaaa acagaataaa tgagaacact 153060
 cagagaactg aaaaatgggt cttcctttca gaatgagggc ttgtcaccca ctcccagac 153120
 ttcccatacc atgtgttggc aagtgtctga caccaggtc gacctgctct ttcagtcaca 153180
 40 atcccatctg cactgggttt gtaggaaaaa actgtatcat tgataacata aattaaatat 153240
 gatggacacc aagctgccat cttctacct caaacgtcatt ctacgcagt gcttattgtc 153300
 accttattag agtctgtgag aaaaagaacc caaagtcatt ctacactcct ggcaatcagc 153360
 tacagactca cctgcacct cctgaatctt ctgtttccat tgcaaagaca cagccaaagc 153420
 cttgggtcag acttcagtc tctctcacc ggagtgccag ttgccacct atcacagctc 153480
 cctacatgcc agggacagtt tgatgaggat caatctgaaa gtccacattc aatatgggtc 153540
 45 tcagcggaaa cccaagcccc ctaccacaca catacatctt gaaccagttt ctgttttgta 153600
 agttttgtgct tttgtcatgc cactgtcaaa ttaattgaaa aatgatgcct aaacaaagat 153660
 atttgcctgaa taaaattagg tttatgctac tttcaagcaa acttcaact ttattatatt 153720
 atttttaaat ttgttgctc cccaagagtt tgttctaatt ctttaagttt gggccttctt 153780
 gttgtgaagt cagcagcgt tttcccagag aagccaaagc tcttccctta ggagcttgc 153840
 50 cttctcctat ccacagcaaa tatcaaatgc atctgccttg agggatcagt gcagctggca 153900
 tggcgtggct ctctctgtcc tgctctgagg gtggcttttc tctgtttatc ccaaggaaaa 153960
 agtatatacc agtttcttgt ttaaccaatg taagaaaaca ttacatatct tttttttttt 154020
 tttttttttt tttgagatgg agtctcgtc ttgtgcccag gctggagtgc agtggcacga 154080
 tctcggtcca ctgcaagctc cgcctcccg gttcacgcca ttctcctgcc tcagcctcct 154140
 gagtaactgg gactacaggc acccgccacc acgcccggct aatttttttg tacttttagt 154200
 55 agaaacgggg tttcaccatg ttagccagga tggctctgat ctctgacct cgtgatctgc 154260
 cggccttggc tccccaaagt gctgggatta caggcgtgag ccactgcacc cggctagaaa 154320
 acattatata tctaataaca ttttgtcaaa ctgcacttaa ccttgtctag ttactatttc 154380
 agtgagccag tttatttttt tgttttgttt gtttttagtt tttggagaca gggacttgct 154440
 ctgccatcca ggccatagat gcagtgccac attcacagct cactgcagcc tcgacctccc 154500

ES 2 271 092 T3

5 aggcctcaaga aatcctcccca cctcagcctc ctcccaagta gctggggcca caggcatgcy 154560
 ccaccatgcc tgactaattt ttgttttttt ttttttttga gagacagggt tgcccaggct 154620
 ggtctcaaat tcctgggggtc aagcaatcct gctcagcctt cccaaactgc taggattaca 154680
 cgcattgagtc accatgcccga gctgagccag tttaaacttg ctgcattaca tgcattaaaa 154740
 acaaaaaacac acacacaaaa agccccagaa cttttaaaag gaaaaattta gcagaaagaa 154800
 actgatgtca toactttgtg attattccag cctccctctc ttatccgtga cctctgtggc 154860
 actcaagacy cctgtccatc ctgccttccct ctccagcctc caaacctctt gcctggaagc 154920
 10 cagactctgg ccagacttac tcaccaggcc ctccaccacac cacctggaat gcgttcctca 154980
 cagctctttt ccaaaatcag tcttctcctt ggcatctgcy tggcttggga gagcatcctt 155040
 ggctctctgt cattgtctca caatcttcga taagtagtgt tcggaaagtgc cccccctggc 155100
 ccatgtgccc agatgggctc tccaagtcta aatgcttcaa aatggtacag aactaaatgt 155160
 gtgaatttat gatggggctt catcttctgtt cctccttctt cacacttgcy tggccgacct 155220
 tcccatccgc tctccaattt tctttcacgt ttctgtcttc tgagaagaaa taagactgat 155280
 15 tctcgggtga gagcatgaga gagacagatg cagagagaga gagagacaaa gcgtgtttcc 155340
 gtgggagatg cccacacacc tcacttggga gcatcggcag tgttggatcc cacacagggtg 155400
 tgttttgaca tccaagactt gacctaattt cttcttggaa cctgatgggg agagaacctt 155460
 gctggggggc ccacatgggc caggggcagc cagggcagag ttgggcagct gcctgagagt 155520
 tctcgggtga gaggcccaaga atatcccaca agaacaagtc tccgttagtt ccaagtggaa 155580
 20 tgacagccct ttctgagttt ccctgagttg agagctaata catgtgttgt gggaaacaaca 155640
 gcccaagcca aaggccacgc ggaggccagg cgtgggtact cacacctgta atcctagcac 155700
 tttgggaggg caagatccac ggaatcctatg agctcaggag ttcaagacca gcctggtcaa 155760
 ccttgtctgt acaaaaaata caaaaaaaga aaaaagttag caggcatggt ggtaggtgct 155820
 tgtagtccca gctacttggg aggcctgaggt gggaggatcg cttgagccca tgagggtggg 155880
 gctgcatgag ttgagatcac accactgcac tccagcctgg gtgacaatgt gaggccctgt 155940
 25 ctcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaagaccagg tggagagtat agtggattaa atgggcccc 156000
 acaaaagata ggaccatggc ttaaccacga gaacctatga acacgacctt attggaaaaa 156060
 gagtctttgc agatgtaatt aaattaagga tcttgtgatg agatcatcct ggattatctg 156120
 ggtggggcctt aagtccaatg acaagcgtcc ttgtaagaca caaaagagca caagacacag 156180
 agagaaagcc ttgtgactgg tgttagataa aggccaaagt actggtgtta acaaaagccac 156240
 aagccgaggg acagaggagg ccaccagcag ctggaaagaga caaggaggta ttctcccccg 156300
 30 tggcctttgg agagagtgtg gtcctgcccga caactcaatt ttggactctg gcctccagaa 156360
 ttgtgatcaa ataaatgtct gttgtttgaa gctaccaact ccgtgcacgg tgttacagta 156420
 ctctaggaag cgcataatga ggacatcact gggaaatcaga gctcttagct ttgggagctg 156480
 agatgggtgt agatgcagca gaaagaaagc cccaaacccc ctgtacagcc tcatcagttc 156540
 ccctgatggg ggatggaggga catattaccc agcttgtagt gggtaacctt gaccttaaac 156600
 35 taccctaaaa agaaaaggag cattttattca aatgtaactg agcttgaaag gactgaatgg 156660
 aactgatgta gcaagataat gttccagcc cccaacagaa atggagggat tgtgcaccaa 156720
 attcaattca ttgttagaaa aaccaagaaa tttatttttag ctttgcataa ctaattttat 156780
 gtcgtgtat tttcagacat tgtatagcta tactacatgt cagggttgcct cggggagaaat 156840
 taaatgaaaa aaaagctgca atttgttgag ctattattac atttgttaata ttttacaaac 156900
 gagagccaca aaactcactg tgggctggca gttgccagct ggctcatagc tggcacagcc 156960
 40 tgtttgtctac ctgagctctc tgactccaag cacagtgtct tcttctatgt ctgcttaatt 157020
 cagtgtataa catcactgca gtgagtgcaa tattgtattt atgtatcaga ccaggcagtg 157080
 cctcacacat ccattggagt cagtcaactg tttgtcaaat ttaatagaat aacatagcct 157140
 tgctgtcctt aagtagcctg ccctctgtcc agtttggggg atataattaa gaataaaatc 157200
 tctgtccaac ccacgaaacc tctccttaaa ggtagaggag agagagccca gttttattat 157260
 tgaaaaagct ctaacgcagg ctgcaatgca catcactggc aatctgctaa agagatcacg 157320
 45 gaggcagaaa atacctccct ctttttatatc accgctttcc atactgttcc tcaagataga 157380
 aataactagt cctcaagtaa gaaggcttga cagcaccact tgttaaatat agtttatcct 157440
 aaattcacct ggtaagtggg gtggccatct gtgggagctg attgccttta tccaaaggaa 157500
 aattaaaact tctcatattt ccgtgacaag taggtaggtt tacaacttgg agccagatgt 157560
 ctaaaactccc accctctacg gagaagggga gacggaggct cttgtcttcc ttgatgttta 157620
 50 cattacttca aggagacagc cctcaaggaa aacattcttt taggtttagt aactggtgag 157680
 aagcttattt ggctctttaa agtattttata tacatctcaa acagaaaggg aaagaattta 157740
 caattccaag tcttataaag gaaatgctct aagaaaaagg aggcgaacag gatcccttcc 157800
 gacccccctt ttttttagatt catgtttgta ctttctactg agagagagga aacatgatta 157860
 aattaggaca cagaacaatg cctgctccag tgcccagggt tgagagaagg ggtataagat 157920
 atccccctct gcagaaggaa accagcaggt gaacatctca gaattcgggg tgagaaatca 157980
 55 agacagggga aggtagactc tgccctctgat attactttct gtcgtcgagg tattgggaaa 158040
 tgggctgaac atggagcaaa ctttaaaatg tccagtttgg aatgatgtct ggttcagaaat 158100
 aagcctgtat ccagttacc agtgggttac cagtcaggtt gatgttaata aaaacctctt 158160
 ggtctagatc attctgtatc ttcttcaagt tatggtaaga ctccaaaggg catggctgtt 158220
 gaaaagaagg gtgctggcat ttgtcccaag ccaagcatat cccatcataa tttaatcatg 158280

ES 2 271 092 T3

5 ttgatatact cattaaaaatt gaaaaagagc tagccattaa cttctgcata ataacttctc 158340
 tagcactggc tgaattatct caactttctg accttcatgc ttaaccacct aatattaaca 158400
 aatgggaata attcattaag aagaaaactg aaaagaaaaa tatgagttag aatgaaaaa 158460
 gatgatcaag tgaatatggg acttaaaaaa attcaaagtt gaagagggac tacagcgtaa 158520
 aatattttta aaaattatac tattttgttt tattttattt acctgttcta aaagaagcat 158580
 acatttttta aaaactgaga aaatcataac atttttttaa agaggaaaaa ttgtattact 158640
 ccaatacaca aaagcaagta ccattaatat ttctaagta cctccttcaa gcattttctc 158700
 10 tattactccg ttatatgcat agttgagctt ctaccatata tatatatata tatatatact 158760
 cgtatttact gttataatgt gttttcaaca ccataaaaat tcaccagtgt attaggtatc 158820
 tgttgctgtg taataaatta cccacacatt agaagcctac caggaaatag atgtttatta 158880
 tctcaattag tttctcaagg ttgggaatct gagacaggct tagctgagtg tttctagttc 158940
 aaagtgtcat gagggtgcag ttgagatggt gtctacagct gcagtcacct tgaagtttta 159000
 ctagggtctg agtgctctt tccaagatgg gtcactccag tggctgttgg caggaggcct 159060
 15 cagttcctca ccacatggac ctctccagag ggctgcttga gcatcctcac aacatagcac 159120
 ctgcttccac agagcagggt atctaggaga gaccaagggt aaagacacag tgtattttat 159180
 tgcctagcct caataagtcac acacaattat ttctgcaacc tgctgatgac acaggccaga 159240
 catattcagt gtggaaggga actacacaaa ggcatgaacc aggagtctag aacaacgctg 159300
 gaggccatct tgaagagtag ctaccacatg ggaattttgt atggctgcat gbtatcttctc 159360
 acataaatct ctataactgt attgactatt catgcaaggt tggatgttat ttctaataat 159420
 20 tccctattac aaacaacct ctataagca cctgtgtata ttaagctttt catcaatagt 159480
 tcagatcact tttttagaat attatcacac aagtgggatt gttgagttca aaaaaacctt 159540
 tttcttaatt tccctttttaa gtaagttggt ttcataaagc aagttaacat attatttcaa 159600
 tgaacgtatg catttttatt catgtatttg tgataaatac cttgaaatgc ctatgcaatg 159660
 attcatcact gcatgtttat tttgcatata atgaattata tactcaatat atttttagttc 159720
 25 gctatattat acatataata ttttgatact tatggcatgt ggggtttttc attgttattt 159780
 caccatttta tagatcctcc tgagtttggt tgttgctggt attttggaca acttagaact 159840
 tgatgaagac ctaaagaagc ttaaacaaagt aagtagtggt tgggggattt tttttaaaaa 159900
 ggcaaaaaaa ccagggggcaa accatttgct tataggcaat attaaaaatt tgagcttcaa 159960
 30 agtaaaaaata aatgttaata aggtatctga aggtgtgtaa atgggtgttaa gtttaacttt 160020
 tatctaatat taacaaggga aactttctat tactctataa atatcctagg aatagtttta 160080
 ttatttttga ataaagtaa aatgggcaga gtatagttaa ttggatttgg agactgttct 160140
 ccttctgcca ttaaatgaag gttgtttgga aatgagatgc ctcaaggcca gattttgcta 160200
 aatttatatg aatagtcttt atcatcatca taaaaatact acaatcaacc tgctgtgtct 160260
 ctgacacacta aggacaatt tagtctgggt gcccatagtg agtataagaa acagaataaa 160320
 tgatcaaatg tggacccagt tatgtatgaa aacagacggg atgtcatcat ggtgaaagt 160380
 35 ataccccaga gaatgaagg agaaataggt gaatgctgtg ttcttaatgg caggaggatt 160440
 acagctatag tcaatcattc ctatagcttc tggtgcatgg aggatatttg gcttgaatat 160500
 ttggctctat caaagagtac agaccctttg agaagaagag ctcgcaagag agtgggacaa 160560
 tgggtggaac gttcttgtat caccctcccc aaaactgaga gaatagttag gatgttaact 160620
 accaaaactct acccaactgt tagaatgtta taatgttgac agaaccacac ctgttataat 160680
 40 gttaacagaa ccaatggctc gaaactttcc atttggatt ataagcaggc cctccattt 160740
 cagaattttcc caaagctctc tatttttaac aaagcaaaaa gtataaccta tttaaatttt 160800
 ttaatttttt ttaattctatc tcatgatcag gttaggcatt tcattttatt actcttacct 160860
 ttaaaagccta tgcttttaac agagggtatc aacaaggaaa aaaaaaaca gaacaaacaa 160920
 45 acaaaaaaaa attgttatga agattcctac ttggagcata ccaagaaggg ttttgagttc 160980
 tttaccatcc tacagctacc caggcaaatg ggcatcttcc cggctctgct agagatgatt 161040
 tcttccccgt cttttcactc tgtggcagca gtgatagatt cttcaaataga gagttgggac 161100
 attcctttat gccatcaatg aaaatacttt gtgtggcttc tagttgcaga aaaaaatatc 161160
 taataggtga attcaagatt gaaagtgacc agccatataa tttagacatga tcaataaaaa 161220
 tctgtgtctg tagaaccact ttagtccatg ctttacaat ctggtattga gctgtcactt 161280
 50 ttccttcatg ccatgggtat tatgcacaga tatgtactat cctctgagac agtatgttac 161340
 aatgtgtatt ctatagataa aattttaaatt atccaatttt ttttagctag tgctaccgcc 161400
 aggttccata tgctttttaa taaccatata attccagccc tcattttgtaa aataattttt 161460
 ctgctggaaa gcaacaaaat aaacttgtat gtagcaattt tttcaggatt gtgaattcaa 161520
 acctaaggat actttgcagt gttcattttt tccaacattt taacttattt atatatacac 161580
 gtatatgcat agcctactta aattttttgt catctttata tctagtgggc acaataggca 161640
 55 tttcatatct gacccaaagt gaagaagcaa caataaaaag tcaggacttt aattggcatt 161700
 gacattcttc ctgggctata aagttttaat aaactatatg gcccttctac ttgggtaaat 161760
 gtcattattt ataaaatggc ttttaatcac ttgctagata ttagtgaagc tttgtgtttc 161820
 tggaaattct gtatatcaga actggttacc caattgcact agcctacaat ttggaccata 161880
 tactctgggt atttgggcat aatcataacg cagcaattcc attttgttta 161940
 gtacttttta cactattctt tattcatggt tggactgaaa ctatgtatct attaaattct 162000
 60 tctattaatt tcatacttga aactcgttga acctgaaatt cattatagca aatattattt 162060

ES 2 271 092 T3

5 aactaagtta aagtgttccct gggttaactttt ctctcatttt tgtatgatta tgtttttgttt 162120
 tctagtagttt ttaacaacgg tgtcattttt tatgcccctg attttttctta ttttcagtga 162180
 tcttgccctt taaggtaggg ctcatattgca tattttttaa aacacacaca ttctcatgca 162240
 ttcaactttca tatacacatg tgggtcatgtg gatacctgaa acttttagact gtctttttaca 162300
 gattcttttta aaaaaacaatg aaatttggtac cctaaatatt tgtttcaatt gtccatgtac 162360
 aaatccagtc ctttaagattt aaacttatgt actctatttt tactactccc agatagagag 162420
 tagagtggag gaaatgttca aaaaaagtat ttgattttct taatgtttca agtttcagaa 162480
 10 agcgctatgc atttccaaatt ccatctttgc tccgttcaaa ctttttgcct cttttaccac 162540
 atctgcttgt atgtagattc tcatagctat ggtgacattg gttgaattct tgctcagtat 162600
 caagtgtttt atgtttttcac ttatttttca caacgaccca ttcaatgcag gtgttattat 162660
 tatgtccatc ttacagatga ggaaactaag acatagagag gtttaagtaac ttgctcaagg 162720
 ttacacagcc aacaaatgtc ggagctagaa tttgaacctt ggcaatttgg accgaaagcc 162780
 cacactctta acctctaaac tgtattgatt caaactaaag ctatataaag gccaaacatg 162840
 agtcatgcat actggggagg gcactcatag gactatgaat tatttgttta taaataatga 162900
 15 tgttgttagt aacaaaggca tctcatatt caagtaactg ttagaatgan ggacagtttc 162960
 tgagaaatgc ggtgaatgca gcaacccaat cgttaaaact attcacatta gttctttgtt 163020
 tctctctcaa actcagagga tctaatacaga gccactggag ttacagtctt gctgcgcgat 163080
 ggcaaacgcc actcaagggtg ccactttgca natgatcttc ttggagtgat gatcctcctc 163140
 agacgcctac ataacaggct tgcagcatag cagcatttta gtgactttaa tgtcttttat 163200
 20 tctcgatatg tttttaactg tgttaatatg taaaagttgg ttcatagatt tttttcaaga 163260
 gtaataaaaa ccagggcctg ttcgctctaa aatgggggtg ttggccaggc gcggtggctc 163320
 acacctgtaa tcccagcact tggggaggct gaggtgggag gatcacgagg tcaggagatc 163380
 gagaccatcc tggctaacac ggtgaaatcc cgtctctact aaaaaatcga aaaaacaaaa 163440
 aattagctgc gcgtgggtgg gggcacctgt agtcccagct acttgggagg ctgaggcagg 163500
 25 agaagggcgt aaacccggga gggggagcct gcagtgagcc aagatggcgc cactgtactc 163560
 cagcctgggt gacagagcga gactccgtct caaataataa taacaataaa tgggggtgtt 163620
 aacatgcaac actcagtagg gctcaacaga ggaagaggaa gcagccctca tacagggggag 163680
 aggagagggc gcccttaagc taagggtgtg agatgggtgg agaaagtga aaggtactag 163740
 tgaagaaatt ataattgaaa agaaggaaaga agtgaagtag gaaaacacca gatatgaaat 163800
 aaagagtatg actataactc agggataaag gtgcaggaat gtggccaaat ccagagttag 163860
 30 gaatgtgagc aagtcagtag ccataaagtca aagcccacca gggcggtccc ctcagaagct 163920
 ccctgagggc aggcattggg tgcattgatg attgtcggtg ggcccgtgtt ctctggaag 163980
 cgaagcatgg cgctgtatgt cttttcccat tatttttcta tgcaacctcc gtgtgcatca 164040
 gaggtggttt ctgaccaagg actgctgagc tctaggcgtc ctcagagaa gctatggtgt 164100
 cattttttaatt acttcaggaa gctggaagag aattgtgcat tcacttaata taagcccgca 164160
 35 cctgctaaat aaaatgtcaa gtttaatact ttttagctgga aacctgaaaa ttctaagtgg 164220
 cagcactggt tccttaatac aagtgttctg agtgttttcc atatatagtt tcctttaagc 164280
 aaatttgttt aaagctacaa tgaatttctt attgcttaat cgaggcattt tggcaggaaa 164340
 gaagtgttgg ttttagaatc cagaggagaa agtaaaagga ctttttgac agaaattttg 164400
 agaggctctg gtgtgtttat tcccatcacc gcctctccaa gacatccca gtgtgtgccc 164460
 tgaatggcac ctctatggcn ttttcccttg tcacttccca caatcatgtt ccaaaaactc 164520
 40 acctcaatca tataaccata tgaaattcct ctattgcctt ccctgtgtgt tatatatatg 164580
 acacagctga ttgctaatag caatagggca gcgtaatctt ttcatagctg ccattcattt 164640
 catgaccccc atattgaagt acgtagaaac catatttctc ttttcagcat ccccaaaagc 164700
 caatacacag acctcggaat aaaatatata tgtgtgtgtg tgtatatcta ttattacata 164760
 tatgtaatat atgtaacata tatgtatatg tcatacatia aatataaaaa tatattataa 164820
 45 ttttgtatta catatatgta atatctatac atatatgtat atattaaata taaagattat 164880
 atttataaat atattgaata catgacataa attatacata atgtgtgtta tatattgtaac 164940
 agtatataaa aattatattt tttatatata gtatttatat acacatatat ataaaacatt 165000
 gtttctgcat gacattttaa aattggctaa aaatgagatt gtgggtgagct gaggagattc 165060
 ctgataaatc agttggtata gaggctacaa caaaaccctt gacctaatac ttctctgaac 165120
 50 agaagagtgt atgactgtga agctcaagt atgcaggaat gacactgggg aatgtacaca 165180
 gagttttgca aggtttgaat atgaagagaa ttcctgcagc ttttaattgatt ttgcaaat 165240
 tgggtgaaaga cagatatataa gggttttctt ttaagtggta taaaattcat taagctttga 165300
 gggaagaaaa aacccacaga aaagcctgag gggagggaat atcgaaaagg gaagtatagg 165360
 tagtctgttt agattaaatt cagagctgtg aaattgaaaa ctgttttacc agccctgtat 165420
 55 ccagtctcac ttgaatcctg gttccaattt aatgatgttt ggtctttgct agagtccact 165480
 gcatagtgtt ggaatagatat tatatatata gaagctttcc tttcttattg actgtgactt 165540
 ttttaaacaa aaaccataaa tatcttatat tctcttttgt taaagtatga gctctagggt 165600
 aatgtttttc ttttagcctta agctgcatga tagttgattt tatgtgtcaa cttgactggg 165660
 ctaagggatg cccagatagc tggtaaaaca ttgtttctgg gtgcatctgt cgggtgggtc 165720
 tggaaagatt tgcatttgaa ttggtagcct gagtaaaaga gacctcttc cccaatgtcg 165780
 60 ttaaacaccat tccaaagctt tgaggtccca gatagaacaa aaaggtggag gaaagctgaa 165840

ES 2 271 092 T3

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

```

tttgetgtct gtctcattgc ctgcaccatg taacaacacct tctcctgccc tgaggaaatcc 165900
tggttcttag gccctcaaaa tgggtgccctg gcttccaaag gtctccagct tgaagagagc 165960
agatagtgagg acttatcatc agcctccata attacatgag ccaatacctt aaaataaata 166020
ctgatgtata ttttattggg cctgtttctc tggagaatct tgcctaacac acctgaagct 166080
ctcattkgca tgtccatttt gtgcctata ttgagttcat tccagattga gggcggtagc 166140
aaggtggcag ggatactgct ggaagatgcc attcggctga gcaactggtg catctcctga 166200
tgttagttga atcttcaatc ttctcagcat tttgtcagtc tctcatgaat gaactcaaac 166260
taatgtaatt ttaaaagact gatataactg ctgcaggagc aaatgctatc tattgagaac 166320
taccttggtg aggcrtcttt atattaaatt atcacattta atcctaataa ttaaagacgt 166380
ggcaactaac attcaggggg gtgaatttct caccacaagtc cacacaattc atatgtgcct 166440
gggtcagagc cacaaggct gtctgacct aaaccaatgt ccttgctgaa aaaggccatg 166500
ctgcctgcag agaaccgct ccttcattta taatgaaaag catatctagg tgtggattgg 166560
atgagatgct tatccatttt ttgatcagc atattttctc cctgtgggta ttcaaagaag 166620
aagccaaatt ataactcagc tatagcttag tgagccagga atcaggatgg agagggaggc 166680
gagaagggtt gtgtgattta aatacataga tgatggtttg atagatgcag caaacccaca 166740
tggcacatgt aagcctgtgt aacaaacctg cacattctgc acatgtatcc cagtatttaa 166800
agtataatct aaaaataaat aaaaatattt ttaaaaatac ataatggcat aggctaagat 166860
aggctagat caactgagtt atctctttta cagttgagat attagtgaac tagaaactaa 166920
atctactcat tctgtgaac tggggtctgg acactcatct actatgctat agatattgtg 166980
ttggggctga ggacatgtga tggtcaggac actgtttcta cctcaaaaaa taactcctga 167040
gccagtgagg gaaaaagaca agtaaacagg cagtttgggt tcagtggtga tgattataag 167100
gataatgttt cggaagcaca cagaaaacat ctaaaagcaga ctgtgaaatc agggacgttt 167160
tctcacagc aggtgcagac tgaatctgg aggttgagta gtgtaatcc aggtgaagag 167220
ggttggagga agatggcatg aaggagggtg gtgaagacca agggaaactgc agagtctttt 167280
ttaggtggga aaaaaacaga gtggtttct cgacactaag agtttgctgt ggctaattgtg 167340
tagagcagga gagaaaattg ttaactggaa aaataaggag ataccagcac aggaatgtct 167400
tgagcagcac taagcatttt gatattatc tgatggtatt gatgccacag ggtgtcataa 167460
tcatacctac attttgggtg cagttgtgaa tgcactggag ggcaaccaga ctggagattg 167520
aagaatccgt tcttgaggca agtggtgatg gcagcctgaa ccaaaggaaa taggaatgag 167580
agaatatcga aagcgttggg gtacagagaa gaggatttag tgacaaattg gatgtaggaa 167640
gtgagaaaaa ccaggacaca gggatgtcac ccagatttct agatttcttt aagtgcgtg 167700
atgcagagga aatacaagag aaagaagaaa tgagagtttt gtttatttgg gtttctttt 167760
gggggaagaa gtttggatc attttccctg agatgcctgg gaaatatcta tgagacaatg 167820
tctatggaga gatataaagt ttaaagctta ggtggaatat ctaggctgaa atagatactg 167880
aaaaagagca aaatcaacat gcagatggta atttaagcct ttagagagca ggaacttacc 167940
aagggaagga tggttcccta aggggttaata aataaattgg atgaaccagt gaggagattg 168000
caaaatgtgt atgagaagtc acagcacaa aggttaaggag aaagcctaga atgtgtttgt 168060
caccaagatc aaaaagtgaa agagtttcaa gagagatcct tgttcaacga tctcaaaagc 168120
ttcagagagg tcaaaaaaat agtcaccatg gaaagcaatc ccatttacag tagcaccaaa 168180
aagaataaaa tacttgggat aaccttagcc aaggaggcaa aaactgaaac cctgaaactc 168240
ataaaatact gaggaagaa cttaagccac aaataaagat gaattctgac ttacgatgat 168300
tcgacttaac agtttttggg tttgttttt tttgacagag tctcaacctt ttcccttagg 168360
tggagtgcag tagcatgatc tttggctcac tgcacacctc gcctcccagg ttcaagtgat 168420
tctcctgcct cagtctacca agtagctggg attacaggca tgcaccacca aatccaaacta 168480
atttttgtat tttcagtaga gacagggttt caccatgttg gccagggtg gtctcgaact 168540
cctgacctca agtgactcac ctgcctcagc ctcccaaagt gctgggatta caggcgtgaa 168600
ccacctaac tggaacttta caattttctg atttttatg ggtgcaaaac agatacacgc 168660
tcagtatgct cctcaactta tgatgggaat atatecagaa acactcatag taacttgaaa 168720
atatcataag ttaaaaaatg cactttttaca gtattttcaa cttataatga atttataaac 168780
cctattgtaa gttgagggaac atctgcaagt gaaaagacat tctgtgttga agaactggaa 168840
ggcttaatat tgttaaaatg ttcataccat ccaaagcaat ctacagattc aatgcaatct 168900
ttcgtaaaat tccaatgacg ctttttgtag atatagaaaa gaaatcttaa aattcatacg 168960
aaatcttaag ggataccaaa tagccaaaac aattctgaaa aagaacaaac ttgaagatgt 169020
catacttcct gatttcaaaa catattacaa agataaaaata atcaaaacag tgtgatactg 169080
gcataaaggc acacatatag accagtggaa cagaatagag aggccacaag taacacctca 169140
catatatagt cacatgatct tcaacagtgg tgtcaagacc acactatggg gaaaggacag 169200
tctcttcaac aaatgatgtt gaaaaattgg ataccacaca caaaagaatg aagtttggcc 169260
cttaccttat atcatatata aaaattagct caaaatggat taaggacctt aacaaaagac 169320
ctaaaacctt aaagctccta gaagaaaaca aggcaaaagc ttcatgacat tggaaattgtc 169380
aatgatattat tggatatggc acagacagca aaagcaaaaa taggagactg cattaacttt 169440
aaaaacactt gcacgtcaaa ggaaacaatc aatagagtga aaagccaacc tatgggattg 169500
tagaaaatat ttgcaaatcg tgtgtctgat gaggagttaa tattgagaat atgaaagagc 169560
tcctatagtc aacaagaaaa atacaataaa tctgttttaa aaataggcaa aatacttaag 169620

```

ES 2 271 092 T3

ctgacattta tctaaaaaag gtatacaaat ggccaagtag atgaaaagat gttcaacatc 169680
 actaatcatt agagaaatgc aaatagaaac cacaatgaga taccacttta tacctattag 169740
 aatggccact atcaaaaaaa aaancagttt ggcaagaatg tgaaaaaatt gcaacatttg 169800
 5 tactttgttg atgagaatgt aaaatgggtg tgctgctgcg gaaaacagta tggcagttcc 169860
 tcaaaaaatt aaaagtagca tgatcatatg ataaaaataa cttctggata tgtatatcca 169920
 aaagaaatga aaatagaatc tcaagacat atttgcacac tcatgttcat tgcagtattt 169980
 ttcacaataa cagaaggtgg aagcaaccct agtgtccacc agtggatgaa tagataaaca 170040
 aaatgtggta tctacacgca aggaaatate attcagcctt aaacatgaat aaaactctga 170100
 10 cacatgctac acatggatga accttgagga catcatgcta agtgaataa gccagtcaca 170160
 aaaagacaaa tttctgtatg tttctcttat gtgagtttat ctaaagtagt caaattcaga 170220
 gaaacagaag acagaatgag agttgcccag ggctagggag gggagtaaac ccattgttgt 170280
 tcaatgggta cagagtttcc actttgaaag atgaaaaagt tctggagatc tgttgtacaa 170340
 caatgtgagt atgtttaaca ctgctgaact gtacacttaa aatgggttaag atggggctag 170400
 gcgtgggtgg tcacgcctgt aatcccaaaa ctttagggag ccgaggttaag cacattgttt 170460
 15 gagcccagga atttgagatc agcctgcgca acgtggcaac accctgtctc tactaaaaat 170520
 acaaaaaatt agcctagccg gacatgggtg cgcagctctg tagtcacagc tacgtagggtg 170580
 gccaggtgta aaggattgct tgagcccaag agatcaaggc ttcagtgcag tgtgatcatg 170640
 ccattacatt tcggcctggg caagagtgag accctgtctc aaataacaac aacaacgaca 170700
 aaaatgatca agatggcaaa atttatgttg tatgtttttt accacaatta atttctttta 170760
 tttaaaactg atcatattaa caataaggag gtggttagtg aaggcaataa gagcaagctc 170820
 20 agggccttcg atgatacaga cttgggttg agaggatagg gaatcaatga cgggtaagga 170880
 agtgaaggtg gatcaccaac cttttcctca aacgcctcat actctgtttc cagatagacc 170940
 acctggttgc tggctgattc ttaattttgt tagatatgtt aacaccattt gctacagtg 171000
 taccacaact tttgcccatt tggtatgcat agagaatgat atttgtacaa cacgtgaa 171060
 tcaataggta ggaagcaaaa cgagctgga atatcagata tcaaggattc ctgatgctcc 171120
 25 agggaaacag tgcccaggag cgagaggacc gtaccctgaa gaacctataa atcattagt 171180
 gctgagagtt gaaaaactct gcatttctact caaatctgtt gatgctacct aactccactt 171240
 gaagccattc tttcaatctt ttggtcagag atgactcttt tgaggctcag ttattattgc 171300
 ccataacttt ccatgatgta aatctcaaaa gatcagctta tagagcattt gatctgctat 171360
 ttttgaataa gctacttact tttataataa attcttactt ttataataaa tgttagactt 171420
 tttataataa attctctgtc acactaagac ataaacagca ataaaattgg tttgaagaaa 171480
 30 tgaatggct aagacagaa agtttagatc aaggtttaag ccaagaagtc acaacagagg 171540
 ctcagaattt ggaatatca attatcaaca taaaaacaac agcctaggaa tctagaagtc 171600
 attcaaaaag tagaaatag ggaagccaaag gtgggaggat cgcttgagcc cagttagttg 171660
 agaccaacct gggcaatata gtgagaccct catctctaca aaaaataaaa attatcgag 171720
 tgtggtggtc catacctgtg gtcccagctg cttgtgagggc tgaggtagga gaatcactg 171780
 35 agcctgggag gtcaaggctg cagtgcagctg tgattgtgccc actgcattct agcctgggca 171840
 acagagaag acctgtccc cccaaccccc caagaaagat aaagatagaa acagccaact 171900
 ggatttttac agtcaataa gtatagggtg gagattcaaa aagtcagttc aaaacagaa 171960
 tacctgttag aattgatgtt ctctgatgat gatgggaatt ctgtccctca aataggtag 172020
 tgggaagccct acgcctcagt cctgtggaat gtaacttgat tggaaatagg gtctttgtag 172080
 atgcaatcag gttaaagtga ggtcattagg gtggactcaa tatgactgtt gtcctcataa 172140
 40 aaagagaaga gacacagaca cagacacaca gagagagcac tgtgtgttga tgaagccaca 172200
 gaccagagtg atgtgggtcca caaggaacac ccaggattgc tggcatcaca agcagctgga 172260
 aaagtcccat ggagtagacc ccctcagaa cctccagaag gagcttgccct tgcagacatc 172320
 ttgatctcag acttccagcc ccagaaaata tgagacaata catttctgtt ttcagccacc 172380
 cagttttttg gaactttgtg gcagcggccc tagacaacta acacacctcc agagccttgt 172440
 tctctggact caagaagaaa cgatcccctc taaagctggc aagtagcctg gctgagagca 172500
 45 tggggcagca ggaacaatg gacgtaccct tggaaatccta cgccagcctg cgccaccctg 172560
 gagcagcttt ctgagcagtt ggagttattt tcttctgctt ttctttgatt atagggaatca 172620
 aaccccatca tagtaaaatt ttatagactt gagactttct tagaggaaaag gtttctgtaa 172680
 gcccttccaa aatttcatgt catgtgtgat taactcaaac cagaaggaca ttgttttaga 172740
 gaccttttct ttgcctcacc catgggtact cgggactgtt ttgttagcat gatctctctt 172800
 50 accatggaac aaacatgaaa ctacacacct aagattgtcc actcgagtct acaatgggtg 172860
 gttgtcgggt gtatcattct ttaattgtgc taattcagaa ttattttcat tctagtttcc 172920
 acagcactct gcaaggtaac ccttcaatta aatatatat atatataggc caggcatggt 172980
 gactcacacc tgaatccca gcaactttggg aagccgaggg aggtggatca cctgtgggtca 173040
 ggagtttgag actagcctgg ccaatatggg gaaccctat ctctactaaa aatacaaaaa 173100
 55 attagccagg cgtagtggcg ggcgcctgta gtcctagcta cttgggagac tgagacagga 173160
 gaatcacttg aacccaggag gcagaggttg cagtgcagctg agatcgctgc tgcgaatctc 173220
 catctcaaca agagtgaaca tccatctcaa aaaaaataat aaaaaataat atagtgggt 173280
 ttggagggaa gatgtgccca aacaggagag aagctcacac ttcaactcca actgaacacn 173340
 caccactgc ttaactgtaa ggatgctatt ttattttgtt tcctttaatn ncaagagnnn 173400

ES 2 271 092 T3

```

nacaaanatt gttnaagana gcatgnagct tactgcactg taccattgaa aacagcaagg 173460
atgataagga agagcaacct cgcagcactt tttctttcag atcctgtcac aggcagtgagg 173520
aaactagatt gcaatgggtc taagagaaaa gcatgacagt tttcagtttt atgcgggtgcc 173580
5 tggcagttgt tgaattacaa aaaggcactc ttatagttgt gtttagattt gttgtgagga 173640
gttagaatag tgagggtttac cctgtgtgga cctacacatt aaataggaac atgctggagc 173700
tggagtcatc gccctgattc cttttggact caactttcac acagtcctgt tggatctttt 173760
ttcaagtaat tcatgtactt ttccgttctt ctggaagcat cctcacatc tgctttatca 173820
tccattcttc aaatatattga gtacctacca tgtgtacaac gctaggccag gtacaaataa 173880
10 aagtaagttc tttgtctcca tggagccttc tgggtctaata ggggagttgg atgtaaatca 173940
agtaattaaa ataattccta actgtgtaaa gattgagatg agctttcttc agaaaaatac 174000
atcatttaag gagagacact cgtagaagac cccgacacaa atgggtggta ggggtgagga 174060
tgaagaaagt tacaggagag ctaagttttg caagatgagc cttgtggact tcacggaggt 174120
gtggtgggtc aggggagggg agcacaactc caggggagag ggaaagcctc tgtgcaccca 174180
15 gaatgcagga agaccagggt ggagtggtat agagtaagtg tggaaaagtc agcaggggcat 174240
gaaccatgca gtgccttgag aaacacggta aggtcattta ccatattgtt tttgtttgtt 174300
tgtttgtttt gagacagtct cactctgtca cccaggctgg agtgcagtgg tacagtcttg 174360
gctcactgca acctctacct ccaaggttca agcgattctc ctgcctcagc ctcccagata 174420
gctgggatta caggcggtgc ccaccactcc tggctaattt ttatatattt agaagagacg 174480
20 gggtttcacc atgttggcca gtgtgtctt gaactcctga cctcagtgta tccgctgtc 174540
ttggcctccc aaagtgtctg gattacaggc atgagccacc ataccagcca gaacatttac 174600
ctttaatggt tacctttaac ctgagccact gaaagcttat aagatgggag gcagtgggtg 174660
accagagagc tgtttggaat ataaatcaa gagggacttg gtgatagggt ggattttaag 174720
acatgagtag gaggtctca aagatgattc ctggttctag gtttctacag ttgcatgaat 174780
25 gaaatgtcat taactgagtn aagaacactc agcatacaac cgtatttggg ggaaacgttc 174840
atcaactcag ccttgggcat gttgagttgg tgaatctttc aagatgtctg aacngagatg 174900
cctaatagtt gtgtataggt ctggagttca ggggagaagg atggctgcct agagatataa 174960
atgtggacat tcaatgtaat ncaaaaatga ctgcctcctt tgagcttcag tcctagtaaa 175020
taggaaatag aacagaacag gtaaaatctg atgagattgt ataggggtggg 175080
30 gttctccatg ttttcataat actggaaggt gtaaatctgg atgagattgt ataggggtggg 175140
aagaaaaaat atgtcggagc cttgaggaag agcaacattt aataactgct ggtgtttgcc 175200
tttatggtaa ctcaacctgt ctctgttttc ctcttctgtt attttctact tcagttccat 175260
35 tgcataatag caacattttc tgtatctcag gttcaaaact tgatcaataa gaacagattt 175320
ggtcgatcca gctaatacat atgattcctt ttaggcagga atttcatctc tgattgcctc 175380
gcaatgctgg ccagtcttat agaaagtcct tgtctttggc cgggtttctg gctcaaccag 175440
ctttgacaag ggtgatgagt tactttgtac cataaggcaa tttatnagga agaaacacct 175500
40 tcataaaaaa aacaaaaaac aaaaaaacaga acaggcagac atttgggtaa 175560
ctcacctgca tattacagag agatttaata tgtttatcta ttgcatgcca ctgtaattta 175620
acagtctagg caaaggtaac agaaaagagg agctgagata atccagctcc tccccacca 175680
ctcattcagg aggaagcaga tgtgagtgcc atttgtaggg cctgagggag tattgggtcc 175740
catttctcag cctggccctc ttgttcagtt ttggtcagtt acacctctat atggctctct 175800
45 ttctcacttt acctctctgc tttatgataa ggcagataa aaggcaagag acacagacaa 175860
agcgaaaaag aagggaagag gaaggaaatt tagaagggac cttgcaaaac ttttccctcc 175920
actgagtggt ccacaggagg aaacaatgaa aacttctctc tcctttggga ggccaaggcg 175980
ggcagatcac aaggtcagga gatcgagacc atcctggcta accctgtctc 176040
50 tactaaaaat aaaaaaatt agtcaggcat ggtggtgtgt acctgtagtc ccagctactc 176100
aggaggctga ggcagtagaa tcgcttgaac ccaggaggca gaggttgtag tgagccgaga 176160
tcgcaccgct gcacttcagc ctgggcgaca gaatgagact cgtctcama ataaaaataa 176220
45 ataaaaataa caaaaaataa caaaaaacaa aaaaaaacct tctctctcac taacaaagag 176280
atgtgatttt ggagaaatgt cttccctctc tttcagtttt accaaatcta acttgggtat 176340
cttttagatcc ggtgtgccct cttttctttg atgacacgag tectaactcc tatatatatt 176400
cttatatgat tgttttatgt catccaagct ggcacttata tcatctccct ggtctcatag 176460
55 gcatttfaat ctgggcccct gcatagacc ctgacaagat ctcttctaga tctaaaaatt 176520
tcattccgga aagagtcgag agctgtcatt actgggacac ctgtagctgt atacttcatt 176580
atgacagatc tgttgtttat gtcagtgctc tcttctgatt ttggggtgtt catgctgcat 176640
60 ggttttctaa tatacgtagt tctaatatgt tctctgttca ttactgcgaa tttctgctcc 176700
gaacccctggc cacctacaca aaccgcaatc cccagcatag gcaacatggt agtaaccacc 176760
cggagggggg gactgcaagc catgatgaag agctgggtct accatgtacc tgacctgtgc 176820
75 tgaagctctt ggcactagag ctggggctac agggccctag ataagtaatc tcctctgaga 176880
atagtcagat tttgtcaata catacaattt tctcttagca gaaatcttgg ttgtattaat 176940
55 aaatgctgtc attgacagca ttgcttttga tttgtacatg gatcaaatga aagaataaaa 177000
gtcaggaag tgatgatatt cattccttgc catttactta atatgccatc aaactttccc 177060
actttcctat tattttttca ctctgggagt ttaggaaagg gaattatatg actacctgga 177120
65 ttctcatatg ccttcaacat atttttaact ggatcatttc atcttactct ggatttgtgc 177180

```

ES 2 271 092 T3

5 ctaaaatctc agtgctaaagt gctctatctt ctaaatagag attccacctt ccaaagatgn 177240
 actgggtggtc ctcttattcc tgattatctt cccagctcac actccccag atgaaataag 177300
 gagagtgtctg tgggaggaaa gttgtggtag aatcatcagt agcagtgttt acggagagag 177360
 attattcctc ctttgccaaa gcgcaagaga ggacttccag agaatcactt gtaggagtgga 177420
 ggagtaccag tcaaacagaa agagactggc tcttctatct ggaagcttgg aaacccgtag 177480
 ctctactcag ttcagccact agattacagc aagctgagtt ggttgtgaaa ggaagctggc 177540
 atcttctctc tgaagaatgg tgcagatggg ggtagagtga acctgccctt gcgtgacata 177600
 gacagtctctg aaagtcagag gccagccaga gtacagctag cagttagcttg tcaagaaagg 177660
 10 actgtcaaga agaataatctt ctaagattaa tgctgggctg ggggaacccc acccctttct 177720
 ccttctctgc cacctcagac agtcagagg ggagctcagc ggtgcccagc acagatgtta 177780
 gaaggaaggtt gggtagggcag agggctgcac aggcagaggc caagccaaga catgctcatt 177840
 caggagagga ttaaagggaag gacctaagga agacaagatt ctctttctct taggacgtct 177900
 ttggctgtcgg aagaccagag taaaactctc cttatacaaa aaagaaatca cacaattat 177960
 atgttaaccc tatcaacaaa ggacataagt gctgaatggg ttagatcca aaccaaacta 178020
 15 gaaggagggtt cagtgggttc ctaagataat accttctgct cctaactctc cactctgacc 178080
 ccaactttgg aggagctaca cccaaaagaa gaagatgtgg agcaatgaaa gaaaagacag 178140
 ttgggtgtctc acctgttaat ctccagcactt tgggaggctg aggtgggtgg atcacaagg 178200
 caagagtgtt agaccagcct ggccaacgtg gtgaaaccct gtctctacta aaaatacaaa 178260
 aattagctgg gtgtgggtgg gccctgctat aatcccagct actcaggaaag ctgagtcagg 178320
 20 agaattgctt gaacccagga ggcagaggct gttagtgagc gagatcacgc cattgcactc 178380
 cagctctggg caacagagca agactccatc tcaggaaaaa aaaaaaaaaa agaccatgtc 178440
 ccctccctag ctcaaaacca tatgtcatatc tgcctgttaa tggggtgagg aagaagggag 178500
 gtttgatctga gatagagac tagactgcac tgaagtaaat ttttaataac caaagttgac 178560
 caaaaagtta gggaattaac tagggataac aaccagctct ttatcctcat ttataatcca 178620
 acttctctat aattgaggat gactgatttc actgttggcc ttcccttaca ttccacttgg 178680
 25 agcattactc agtgagagggt agggcatccc caggcacagt gagaggtgag acattccttg 178740
 cattctgtca ccgtgaaatt atcttgtgtt ttctgttaatt cagctctaaa 178800
 gccagccatt tcttcaaaaga gtgtgtgattt gttttattgg agaatggtat ttagggacca 178860
 aaancctagc actagggtttc tcattgtttc cagtatatca gtgtttctag gctctctcag 178920
 caagaagagc agggaaatac atgtatgtgt actaactcaa gtacacacat acatgtattt 178980
 30 agctagtttt gtatatattt acctatctat aggtattaac tatcataacca tagaacctc 179040
 tgccttgata acttgacttc aggtattaac aatatactaa ttttgttaga ttgttactgg 179100
 gacatgagtg cagtatatac atgttatattt ctttaatgtt atccctattt ccacttgttt 179160
 ttaataaaat atgtggatta atgtgaattt tcatagtgtt tctaataagc ccttttatca 179220
 acataggaga catttaaaaa ctattcattt gaccacagac atacacaaaa atgataattg 179280
 gaagtgtata atgtgtggca gaaaagaaat tacttaaggg aataggacac tgctggggct 179340
 35 caagacccca atgttaagac tgcattccaa agtacgtatt ttccatgcct ctaattttaa 179400
 gtgtcatatt tatttgatag taaataccat tactgataca acgtttacatg cacactaagt 179460
 gcaacaaata agggaatttt ctatagaaaa tgagagccag agttcatacc atcagagaaa 179520
 gaagtataaa atgagcagag gggagatgcc acaggagaac ctgtggggct agattagagg 179580
 tatcagtaag aactcagctt attttaagag agaggatagg taggtagtta catgcatata 179640
 40 tatatatata cctgcataca tatgtgttgg gggttatgta agatacatatc gtaggttaaat 179700
 atatacaaaa ctaggtaaat gtgagagagt gtgtgtacat gagttagtat acatacatgt 179760
 atttccccgc tctttctgct gagggagcct agaagtaagg atatactaga acaatgaga 179820
 aacctagtgc tgggattttg gtccctaaat aacattctcc aataaaaaaa gtcggcactc 179880
 tgaagaaatg gctggcttta gagctgaatt aaagagaaca caagatgagg ataggacatt 179940
 ttgtgggtgcc agaaaaataa gaagaccta aaaggaaaaa acaaaacaagc aaacaaaca 180000
 45 acaaaacaaa tagatagaag tatgtctgaa gactagagaa gccgactgaa agtgccccc 180060
 gtggccaaag caggaagact ttgagcaatg aaatgaataa ggaaagtact gggttataac 180120
 ccaaagaata caataaatag tcacaaatac atatttatac agatacatga ttgaataaat 180180
 aaataaagga ggaggacaa ctgattctct cagaataatt ccaagtaaga aatgtagaga 180240
 aatagaataa atagaataat aaatgaagta aacagaaaat tgccattagg aaactattgt 180300
 50 tgtaattgcc acagacaaga gctgatgaat accaaaatta gtatgtgaaa ctttaaggag 180360
 aaataaaaaca ttgcatggc ctcaaagtgt cctctccaag tcttttttta attattgtag 180420
 cagctttaac atccaccac aaattctttg atactcctcc ttcttaagag ataaagctt 180480
 aattcttcta agtgtcagtt ggagtcagtg acttgcttca agccaatgga gtaggaaaag 180540
 agaaacactg aatgttaact tataatgcag aaacctggca gacatcacct tacccaagta 180600
 55 aggacagtta acctcaatgt catatacaca ctgatatgac gagaagggcg tatcatctcc 180660
 atgggtattg tccccaaaat gtataagctc agtctaatac tgagaaaaga tcagacaacc 180720
 caaaattggg ggacactctg caaattacct gactgatact cctcgaaacc atcaaaagtca 180780
 ttaacaacaa gaagaattag aggaattgtc acagccaaga gaaacttcag atgtgacaa 180840
 gaaatgcaat gtggtttcca ggatgagctc ctggatcaga cgaaagtcac tcgtgcaaa 180900
 acctgggaat tcccaataac ttcttttagt aaaagtattt gaccaaggtt aattttgtag 180960

ES 2 271 092 T3

```

ttttgataaa tgttctatgg tatataacat gctgggtcaa ggtatacagg aactctctgt 181020
actatctttg caactctcat gtgagtttta aattacttca aaatagtgtt tttgtaaaaca 181080
ggatgagaat tttctatggg aagctgtaat aatgcaacat agaaattagc tccgtgtgtg 181140
ccttgttcna aagnatagt acatctgtgt agctttctgc catgaatacg ttgtatcaag 181200
tttatacttt attattcttt tttgatcttn aaaaagctgg gaacacacac tttatcaaga 181260
gccaaatgct ttttgtgatt ttgttttcta atagaaaatc tgatgtaact tgtcattact 181320
cctctttcat ctttggcagt aatataaact atctgaaatc ggcagacttg cttgtgctgg 181380
ataatataga tgattccata ttgtaaaggc tctaagaaaa caataataga atgaagagaa 181440
atattacaaa tgatcctctt ctgctgtgtg atgggactcc gttagtgttg ccttctgtgt 181500
ctcatctcat caccattgga ttatcattgt attgtgtgca caatttgagg ccacagggcc 181560
acagagagtt gtgcctctaa ttaaaaatgc atcatgctag taggggaaaa gcacacgtaa 181620
ttagaaaagt atagtgcana cccctgagca aggtgcaaca gaggagagtg tgactaaatg 181680
caaggtgcac agaggaagat gtgcctaat ttgttttagag gcaggtcctg gaagatgtgt 181740
ctaaaaatga tgcataaaat ttctcttagga aaacgagaga aaatatccca tataagagga 181800
ataacaggca caagattcac aagttaaagt gtaccaattg cttgaaagtg ttgttttggg 181860
gtggcagtat acaacagttt tagaagctca agctctggaa tcaggaaaat tgttgtcaaa 181920
ttccagttct gccatttcta gctatgtgac ttccaggcagc taattgaagc tccatggacc 181980
tgtttcctca tcgatgacat tgcataatat ggagctaat atgggtaccga catcagggag 182040
ctaattttta gggctaaata atattagcat aaagtgttca gcatcatatc cagcacgctg 182100
gtttactgct tcacctacca gttgttatct tgagaaaat tccctggagaa gatgggtttg 182160
gaaggattta taagagttaa ataagtgtat tgcaggcatg gggagcagta tcttcatgtg 182220
acatcctctg gtgagggggg cacagacctc caggttagag catagagggc aaagcactgg 182280
aagaccgctg tatgcatgct taagaagagt agaatttctt ctgtacataa ttgatagtct 182340
ttgcattact ttaaggacca gagggacata aaggtatttc ttttctagat gttctaaaag 182400
attggtttta agggaaaaaa ctaagacaga aagccagtta ggaaggtttc aggagctctc 182460
acgagatgaa atttggatga ccaattgacc attggattca gcaaaatggg aaatacgtctg 182520
actttgccaa gagcagcccc actgaggcac ggggggacac ctgagacagg agaggctgga 182580
agaggggtgg gaagcgatat aatggtgctg taagcatctc tttgaagaag caaccttaaa 182640
tagcaaagga ggcagatgca ggagaaatgg tttaactgcc tatttctggt ttcattttta 182700
caaccaagag tctttgagaaa acatctccat caacatagca aacgagaaga aattggggaa 182760
agagggagag gttgagttgt ctcatattag ccagagggaa gggactcaag cacacatatg 182820
tgtcacccca ttcatatggg tgaagtcctc ctctgtaga gcaagcagtc actgtggcat 182880
gggtgatagct ttggtttgta tagcacattt cctttagta attcaaatca caggcatatt 182940
gctatctcac ttacacgtct ggcatttata tgaaagacta aagatcctca ttttttattt 183000
gagaaacactg aaatccaaag actgagttag attataaaac tgaacaaaag tttaaatcca 183060
tgtcttctta ctttgttttt tactgttttt acttatgcta tctctgatgt tttataaatt 183120
aaaaaaaaga gaaaaattac atgggagttg atgtgcgtgt ttgtgtgtgt gtaagtgtgt 183180
gtgtgtgtat cctgaattcc ctttgtgtgt acatttttcc ctgacactta acgaagaatc 183240
atctcacaaat aagaaccaag tatctagttg acatgaaact ctaatatat ttcctctgaa 183300
gtggagcaaa aaagatatat actttttttt atcacactga gcataattct atgactcagt 183360
aaattctctg atggaacaaa ctgtgtctca gtggagtaac aaaggacaga tataatataa 183420
aatagagatg ttntgggacc tagaagaata aacctacaaa atcaatcttt attcatcacc 183480
actgtctcta agaaattatt aattacatta atgggatatt aaaggacaaat aatatgagca 183540
aaatgtgtct attcaacata attaggtatt ctggatttga atagtttttt ttttctttta 183600
ctaattcatt agagtgtgtg gtttagcttag ccttgcgtgca aatattatct atgttgtgtc 183660
acaaagtaac cttctgaagg acattttaag cttgtaagat cttaaagggt gtgataacag 183720
catgaaagta aacattttat gcacacttca gggatatcat aagtggcagg aatgcaacag 183780
tctgttataa gtgctctgct gagctcccaa accaacaac acaaaacagc cacttaattg 183840
cccagtgcat ccgcccctcc gaaaaacagag cttctcttca tacttaacta agggacatgc 183900
tgcttgagag aatgagtaac cagccaggat acagcacatg cagttaatca gctaattgta 183960
tgaacaattt gggatgtcagc tatcacataa aaatgtagct tttatggccc ataggctaac 184020
caagaaatga gccctccaat ttctatctgt ggcttcagtc gatgcgtcca aataattgaa 184080
aaccocactt tgaccttgga tatactgggt gtattaaata tttttgtaaa acggggaaaa 184140
attagtgact taaacatggt ttttgatgaa acgtttgaaa actgtacagt atcgctgctt 184200
tctatgcaat aatttgactt ggttgccttt tgtccacagc agaaaagaca gtgccacc 184260
acctgaagaa attctgtatt ggatttcaca ggccagttag ggatattctt tgtatttgca 184320
tattaaaggt ttataattac acagagggtat tattaaaaac caacatgtgt gatcattatt 184380
ccagatgccc catctgtttt gactgtgcga ttggggtgtt aaatcacat atacaaatta 184440
gcaagagaaa ctcccttgaa aaataatagt ttacgcctta gcaagactct atgttctgaa 184500
ttgctatgtc atatatatag atacagaaaa aatagctaaa gccactgtgt aaagaagcaa 184560
agagacttca gccttaattt attcacataa caaagaggag ggactccttt cttctgattg 184620
aagataatgt ggttattttt cctatattga acnaccnaaa aatattctac agttacatca 184680
actcacaaat ctatgcacag ttttcaaact aacacggact agatttcaaa atgagaatct 184740

```


ES 2 271 092 T3

5
 10
 15
 20
 25
 30
 35
 40
 45
 50
 55
 60
 65

```

cccaagtctg aatgtttttt aaattgtttt cttttgggaa atcataccaaa aaaattacaa 184800
aaatttttat ttaattgtaat tcttcaattc agttattcct cacagcaatc agaaaggaac 184860
tgaaactgaa taatgttttg atatttttaac agaagaaagc acaggctgaa ataggggaaga 184920
tttaagcgat gaggcagaa acagtatgtg tctgtcagag caattacacc cgaagtctct 184980
tgagaagtca gggaaagcag aggatctcag ccgcccgatg tgtaatgata tctcagccag 185040
gcagatgctg agccgtagaa tagcactgag cttagacgac ttctagtttt aaagctcaag 185100
gtttgaagtt tgtttctttg attctaattt cattcttgca aatgtgcttt tctttaccat 185160
gtgtaagtgt gacaaagcta tcattttgat tctcggttgc agccagactt catgctcagc 185220
tgaggccatt ataaacttcc tttgtactgt tctttacatt agatttttca atatgagaaa 185280
taaaatccta ggattctcta cactgtgttc ttttccctca agaatcatga tcttaaaaaac 185340
acttttttaa tggacattta caattataat tactttatgt taaaagatct tcttttcttg 185400
gtatcttata atgatcttaa aaattcataa ccaattctta taatatatat tatttatcca 185460
tttgcacaa agtaaattta atcttgcaaa atctttgctt aaatgcaaaa aaggggaaag 185520
aatttggata aaaggtagaa taccatttca ttacatttta aagaaactta atagtggctt 185580
caaaaataca tgtaatactt tgtgtatcat ggtcacctca tccccacca ccaacacaca 185640
ccctgtctgc tcccatctta cctcttcttc ctttttctgt gtctgtagct tggctcaaat 185700
catgggttgg gaaagacgtc aaagttttgg tggctgatag tgccgaagta agaattggaat 185760
aattttgctt aactgcatca tcttcccttt tgaaaaactt ttaactgaac tctaatatac 185820
atatagaaag aggtatagta tacatttttg taaactgaac acaccagca ccctgctcac 185880
gaatatattg ctgtgcctta gaaactcctt tccatactcc cctccgctcc cgcgcaccc 185940
caccaggac gaccactctg cagacacccg gcagcacacg tcagtgcac ctgctggttt 186000
aacttccctc acgtggaatg gagtacatac aacagtatgt actctgttgt tgctctggc 186060
tcccttcaact caatgttatg ttgtgaaatc cacatttctt acactgagat gtatttcaat 186120
catttcaata tttaaataaa ccaaatgtta ttttccact caactgctag tgggctttg 186180
gacagttcac attttgggac ttttaacaac tgacactgct gtggccaagg gagggttgt 186240
gccttggtgg tgtgcacgca gttcttgtag gcacgcacct aggagaggat ccacagggt 186300
gctggattta cctgtgctca tttttagtgt atgtgtctt tctcttaata acagcaaaag 186360
actgatggga actgctgtcc agaagaacaa gtccttgctt ttaggaggtt tgattcagtg 186420
cctcagccat gagattcaaa atactcacc ttcaagcagc cgtctatcct tctctgtgtt 186480
aactggccct taatgcacaa ctgtagggca atgatgccag gtttgacaa tctggaagaa 186540
ccttctgagt ctccaaaaag agcttccctg ctgttctttg tagtttcaca gcgcaatgac 186600
caagtngtgc tgagttctaa ttcattttat tacaagaggt tctatttnt actccctaga 186660
atgtactata gaagtaaat taaaaatggt tcttgttctt aaggagcgta caagcttttg 186720
ggagtgtaaa tatctctaata accaattaga atgagggtga aaccattttt taaaatgtgt 186780
aaacaagggt actgttggt tccatcata gttaaacaat atattcaagg atattcgata 186840
aaataaacta tggcatttct ccaacatgt cctttataat tttttttttt ttttttttag 186900
acagtctcgc tgtgtcccc aggtggagt gcagtggcac aatcttggct cactgtaagc 186960
tcacactccc ggggttcacgc catttctctg cctcagcctc cctagtagct gggactacag 187020
gcgcctgcca ccacgcccag ctaatttttt gtatttttag cagagacggg gtttccaccg 187080
gttagccagg atggtctcga tctccttacc tctgtatccg cccactcgg cctcccaag 187140
tactgggatt acaggcgtga gccactgcgc ccagcctaca aaatttttat atctgtactt 187200
tgtctaaaca ttcattagtt tgtcaacgac agacatcagt tcagggttaa cgacacagga 187260
gtctaatttt atttctctct gtgaatctaa ggacacgcat actccacact aacaaattta 187320
ttcaatcaat caatagatat tttatgctta tctctctacc cttcaggata tatctaaaat 187380
cttttctttt atttcccagt tgtctgctgg agagttagc tttaggttga gttccgccac 187440
ctgatcaata ccattattcc ttcactgaat atttgcctag ctacacttgt gtccagtgc 187500
atgccagcca ctgcccgtgg aataatgagc agagccctgc atggttctct tcttcccaa 187560
gtttacagtc tcagggaaaa gagaactgt gtgcaagggt tcacacaata tagtgtcaaa 187620
cgacagtacg agtaggggt ttaaggcatt ccccaaaaat ttttgtccag ctggatctct 187680
agaatgagac catcttttga aattgggtct ttgcagaggt aaccagttaa gtttaattgt 187740
ctggatggct cagtgttttg catctataag gaaaaggaga gggggattca gattcagaga 187800
cacagaacac cgcaggccca gaaggccatg tggtagacga agcagggatg ggggtttaca 187860
gctacaagcc agggaaactc gagcatggct gagaatcatg agaaacaaga gaaaggcaag 187920
gaaggactct cgcctggagc cttcagagag agcatggccc tgctggcgcc ttgggttttg 187980
acttctagcc tccagaatgc tgagagagta aatttctatt gtgttaagct aatgatctag 188040
tggtaatgtg tgacaggagt cctaggaaac taatgtattg tggattcaat tgacctgaa 188100
gaaattgcag atgttcaact gctttgagcc acacaaacag caatattata ggattcatcc 188160
taccatgtta tgagcttgta agaggaaaac tttgtcagag aaagcttctg tgagggaattt 188220
ctagtggaa tgaaacttag aaaaacaagta gaatttgatg gaggttcaaga gaaaaagagg 188280
aagaaaaggg aaccacagc agggccagca gagggccggc agagggtggg gaggcacaag 188340
ggttctgagg cagagggtgc agatgtttcc aagcaactga aggatgtgac tggaaacccg 188400
tgtggggata gagctagctg aggtctggaca ggcaggagg ggcacaaaaa aggcctctga 188460
gcctagattg aagattgaga ttttgaccag gcatggcagc tgcacactgt agtcccggct 188520

```

ES 2 271 092 T3

actcaggagg ctgaggcaag aggatccctt gagcccagga gtttgaggcc agcctgggca 188580
acattgcaag atcccatatc tttaaaaaag aaaagtttat atttttgttt ttgtttgtta 188640
5 aaacaaaagt ttttttgttt gtttggttaa agcagtggtt agccaggtgt ggtggtgcat 188700
gcttataatt ccagcgactc aggaaactga ggcttgaacc agaaggcaga ggttgagggtg 188760
agccaagatc gcaccactgc actccagcct gggagacaga gcaagactcc atctcaaaaa 188820
aaaaaaaaaa aaagagagag agaggaagaa aaaggcagtg gaatgccatt gaaaagtttt 188880
aagacagagc gtgagaaatg gcaataaccg cagaatgaag agcagattag aaagagctga 188940
agcagatgga gaaagcactg caggaaatgc aggaaccag tgggtgcattg gccagggagg 189000
10 cactgggtgg gatgcaggca gtgggcaggc ctgagggttt ttaggaaaga actctgtgtt 189060
ctcattttcaa tgatatgtcc caattaatat accatttgcc ctgtgtgtctg tttgaagaca 189120
ttgaattctc ataaaaatg cataccagtc ctgtgtgtcc gtgaagtctc gtggagtga agtagtgcc 189180
ttctgaccac gtgtgtctat tctgtgtccc gtgaagtctc gtggagtga agtagtgcc 189240
tcattttttt tcttatttct ctctttgtct tatacctgtg gtttccgagc actctgttcc 189300
tatactctgc agagtggcca ttctatttta ttatcattgt ctctttatag aactatctac 189360
15 ccagttatac tgtgggtccc gtgaggggca gtgcagtgc ttattttcttt ttatatcccc 189420
tgagcttagc ctgcagacct accgttaaga ttgtatttat aagtgcagct atcaatgtat 189480
aaataaatga gtcagcaaat gcatgaatta acaatacttt atttctgtct tgtcttatca 189540
cctttggcct gatataacct ccttacactc tgatctgtat taatagatta actgcttttt 189600
ctacttctgc tctatttacc actgacaagt atttttctac tagttgtatc aactttttaga 189660
20 aaacaagact cttcctggta aatctcttta ctgtgtgtg gaatcatttt tctaactgtg 189720
tacctctcac agagatgcta ctactttttg ttttgtgtct ttgggagcta attccttacc 189780
attgtcatca tcataacccat ggaactgttg agaactgtcc attttgcaca cattactgag 189840
ttgagcactc cagttaggaa gggagggaag caacgaacag cagtgcactcc ttctccaaat 189900
aagattacca tctaagacag aaaaaaccac ggctaccac aaaatcaaat cagacttaca 189960
25 aatggctaag gtaaatgttt atgttacaca aaacaaaaac ataagagcga tttctgcagc 190020
ctaataagaa aaccagaaat caggatgtat aatctcatca tgagctcaca accaatagga 190080
tagttgagtc atccatcata ttgaaatggg aatgtttccc caaaaaagaag cctcctgtgt 190140
ctccttagcc aatttgtatt tccacatata ttcttccata atttccataa ccaatttatag 190200
tttaaaagct ctcttggcct ctaattctta gagtggatga tttttgaaac ccacccccca 190320
30 agtaaaacca taccacaaca ggaggtaat ctgaattaca tgtactcttt gaaaggcatc agtggttaaaa 190380
aatccctcca aaaaggcagc gacagaagac agggcagacg tggggaaggg tgttccactc 190440
gatgcagttt ggggaagccg ggggagagga aacagaagta aagagggact ccaagagacg 190500
tgacagaagt cctggagaag gagagcatag gaaagtatag catgaattct tatgatgtta aacctgagct 190560
tcggcactgg gtagtatctt agttcagcct tgttccagtt tatgatgtta aacctgagct 190620
gtccaccttt gtagtatctt gaaatataaa tatacactct taaataaatc catttgattg 190680
35 tccctgaaac tcaatttcta atattggcatt taagtctgtc gtgtccagc atgtttgttg 190740
tcattctcca caaagatctc atggaccaa tgtgttattt gtgttttgag cttttctgtt 190800
ccaatggaa aactcgtctc accaattttc ctgccattgt ctctctttac aaatgctact 190860
ttaatctgct aggcgacata taattttttt taaatttttc atggttttta aaaaattttt 190920
acttagtatg attctgtagt taaacaaatt ttattgttta aatatgcaag taatagtaaa 190980
ttcttagcgt taggcattgt gaaaagagac ttgtcttttg gaataaaatg acataaagtt 191040
40 ccattaaaaa tgtctgagat tttaantttt ttgtgtttaa gttttgtttt tgttttttct 191100
ttccttgaat ttttttctgg tcatagagca atttatggcg ggcaagagag gtatacttgg 191160
gttaactcaa aagtttttag ctggcattta atgttaattc ttattgcttc cattctaaaa 191220
taggcctttg cctggcatct taatagtatt ataggttccc ccttttnttc ttctttccaa 191280
ctaattttgt gtaacgtata agtgaagcaa atgcggacac caaagaaaag ctccctttac 191340
45 tttttcttta gttaaagcaa tttccaaaca gacctcaaat ggtgaaaatc tcaaagcttc 191400
gcttgcaaat ctttgaaaaa tttccaaaca accaaaatc ttctttaatt gcafatctca 191460
cttcagattt taacagttct aaaaatcagg tctgtattta cctctctttt aagtatatgt 191520
catatatatt aaaagattca tcatctttaa ctttctacta cctctacctc tatttaaaat 191580
gggttggtgt tctttctatt ttattgtcat ctttctacta attcacagaa gagtcacttt 191640
aaataaataa ataacaact ttgactcttt cttcccatcg ctctctctcg ggatgactcc 191700
50 ataactgagc tagcctaagc aagaaggctg aagctgctca gtgttcagg gatggcaggt 191760
tcgggaatgg gacatcccag gaaactggag gactaaaatt gcctctgtgg cccttttatt 191820
agacatcaat ctacagcccc aaccgtatga cagtttgtgt actactacag tgtttatgga 191880
ttcaagcaaa cagggaaacc acagctggcc atatatatt tgccttccac tttttaaaag aagaaccgtg 191940
gcctaccatg tcaggttacc atatatatt ttgtgatttt ctaccacgtt tgccctccag ttaagcaaat 192000
55 gcataaaaga tgccttaaac acctattttt aataataaaa ggaaattctt ctagtatatag 192060
ctcaagaaat tacaacaaga attacagtaa tatgttacta gctttaaaaa taattctgtg 192120
gggggttata aaagtatgag actatatatg gtgccataat atttaaaat cgggtagaaa 192180
tatatttgca tttctaattt taaaaaaca aatttaattga atttggtaat ttgaagagac 192240
60 gttacttgaa ttttcgttat gctttgaaga tcagatgaac gcacttgctt ttgagcttta 192300

ES 2 271 092 T3

	aaatgtaaaa	ttctctcttta	gtcatttctta	tgataaatgg	acattttagag	agagcaacta	192360
	attcttccaa	gtctttagagg	gggaaaaaaa	gtgttttatt	accacaataa	gattcaaaaa	192420
5	actgggctgg	gtgcgggtggc	tcacacctgt	aatcccagca	ctttggggagg	ccgaaccggg	192480
	cagatcacct	gaggtcggga	gttcgagacc	agcctgacca	acatggagaa	atcccatctc	192540
	tagtaaaaa	acaaaattag	ctgggcgtgg	tgggcgtatgc	ctgtaatccc	agctactctg	192600
	gaggctgagg	caggagaatt	gcttaaaactc	gggaggcgga	ggttgtggtg	agctgagatt	192660
	gcaccattgc	actccagcct	gggcaacaag	agtgaactc	cgtctcaaaa	aaaaaaaaga	192720
10	ttcaaaaaac	taccatcggt	tactgagtaa	tattgcttga	aagttatttc	aaggatattg	192780
	cttttttaagc	aggagtcact	gagtttcagg	aagctgttgc	taatgaaata	ttttagtcat	192840
	gatctagttt	tctatgatct	tttatcactg	ctttatcttt	gctcaagcaa	actcatcatt	192900
	gcaaaatgct	gtcacttgct	cccttccact	aataatgcct	gatgcacata	tacttcattt	192960
	gcaaagggag	agttttatga	agcagtttat	tgaccgccag	caacaggaca	catggtgcct	193020
	cctgagaagc	ctcccgacca	cctcttccctc	ctcctgcgac	cactccaaac	gcttcagcaat	193080
15	tgaggacaac	aaatacatcg	acccaaaagt	aagatcngct	gtttcgaata	accaggcttc	193140
	taaaagcat	ctatgtttga	gaaaagaacc	gcagagttct	ttagggtcct	ggaatccaat	193200
	ttntcaca	gaataatgaa	anaaaatga	tttcatttgt	aaaagatctc	atgaaacctc	193260
	acatttttta	ctctatgcat	tgaaattttg	catttgcctg	tgtaagcttt	tgagctgcgc	193320
	ccgtgggca	ccatgcgact	ttgtaaacat	caagagcctc	ccaaatctgc	attttctcan	193380
20	gtgcggaata	aagggtctggg	atctccaagg	ctcagtcag	gtgtaatgac	ctgccatctc	193440
	ctgcaagtag	aactgcttat	gtctacttat	tacatcagag	aggatacagag	agcatgtttc	193500
	ttcaaaaatcg	gtcgaagaa	ttgccattta	ttcaatgctt	agtatgtggc	aggaacttag	193560
	gtgcaagagc	ttatlcactgt	tctagtcttac	ctatttcttt	atcatgttga	aagtagaagg	193620
	gaaaattttt	ttcagattcc	acagcaaagt	atcagtaggg	aaccacatat	aaataaagca	193680
	aatttaggta	ataatttttaa	agaaatgtac	tttttctatt	attcactttt	aaaaaaaata	193740
25	atataagggc	tgtgtgcccgt	ggctcaccctc	tgtaatccca	gcactttggg	aggccgaggc	193800
	gggtggatca	cttgagggtca	gaagtctcgag	accagcttgg	ccaacatggt	gtaaccccat	193860
	ctctactaaa	aatacaaaaag	tcagccgggc	gtgggtggtgg	atgcctgtaa	tcacagctac	193920
	tcggggaggct	gaggcaggag	aatcactcga	acctaggagg	cagagggtgc	agtgcagctga	193980
	gattgtgcca	ctgtactcca	gcctgggcaa	cagagtga	ctccatctca	aaaaaaaaaa	194040
30	aaaaaaaata	nangacntag	aatgtattat	ctagggtata	taagtataca	tatttatata	194100
	tacacacata	gacatataaa	tgtatatgtg	tgtatatatg	tatgcatagt	atcaaaactat	194160
	atatatcagc	ttgggtcacat	aatcaatgtc	agttcagtta	gaaaatgaaa	gattaataat	194220
	tgctctttta	tattaaagag	atataaacagt	agagtgtgca	aaaacatcta	gttcacttgc	194280
	aagtattcca	ctttggcatt	cttagagtg	tttttattcc	tttacattgt	tactgcctct	194340
	tttcttttgc	ttatagtga	atccatattt	ctctatgatc	atgtgacaat	aaaatgccaa	194400
35	ctgtttcatc	ctccaggatc	ttctttctct	ccgctttctt	tcctttccca	cagggatgaa	194460
	ccctttggaa	ttccctcacc	tttctcttta	tctgcctccc	cctttttctc	ctctttcttg	194520
	ctcccccctt	ttctctctt	ttcactctcc	cctttttctc	tcctctttct	cactccctct	194580
	ccctaatgt	gatactactc	ccgtttacct	ctcccccagc	tcacagggtc	tctgctgtag	194640
	ttcagtcacg	ttgctcttgc	tgaaaatgat	gatgatttcc	tttgcaggat	gtctcttctt	194700
	tttcaaggat	ttccatgtgt	tgattttcct	tcagccatct	agagatgcta	ttctactatc	194760
40	tttgcagaat	ccaagattgt	aaatgacaag	tctgatgcca	atgtcatttt	tttttttaag	194820
	aattagcctt	ttgggtgggt	gacttgggtt	gcttgggtct	tcaggaaaaac	ttgtaagatt	194880
	ttctgtgtat	ccttggagtt	cagaagcttt	cttagaata	accttatatg	tcttttttca	194940
	tcagaactgc	tccaactaga	gtcttttccag	cttgccaact	aagatatttg	ctcagggaaa	195000
	tttccattta	ttttgcgttc	aatgtgtact	cttccatctg	cttctctctc	ccctgggatt	195060
45	gccatctctc	tattttttgt	ctgtgcttgg	tcttccagga	cactaattag	atttcaactg	195120
	aggctatcct	ttgcttctaa	atcttctcgt	aaaaattatg	atatggacat	atgaccttta	195180
	actatcctta	aaggcttgca	tattaccctt	agctgtcctt	agaggcttta	cttttatctt	195240
	ttattttttat	tttttttagag	atgagatctt	gctgtgttgc	ccagggtggg	gtgcagtggc	195300
	tattcacagg	cacggccata	gtgcactata	gccttgaact	cctgagctca	agtgatcttc	195360
50	ctgcctcagc	ctcccgagta	gccgggacta	taggcagggc	caccatgcct	ggcttttttg	195420
	attttttttta	attaaaactta	tcacctctct	tcttcacagt	tataatccac	tcaacactgt	195480
	gcatggggca	tgggaagcaga	aggtcatatg	tcagtgagata	aaacagtggt	aagatagtg	195540
	cctggcttca	gccagtcagt	ctgaaattgc	agtttgcgtg	gactagaaag	cagggttgtt	195600
	tgttttgttt	tgttttccaa	gcagattgta	agccagaagt	ctgggctgtc	cttgtgacca	195660
	cttatctcca	ggaagaggat	agagagctga	tttccattat	ggccaaagtc	acaaaaccat	195720
55	gacatgcttt	taaaaatcac	tggtaacact	accccactgg	aaacacaaaa	ttgaaatatg	195780
	agttttatttt	ctctctaaaa	ggaaatgtga	ttgtttctca	cattttcctga	acacagttat	195840
	ttgatttgggt	gaggacaaag	ataaaaagag	tcttgagagg	catgtgcggg	gctgaggagg	195900
	agtctaaaga	gaatgtggcc	cgccccctct	tgcgccccgc	cgaagcgaac	cctccccagg	195960
	tacagttgga	ataaacacgt	ttatcccata	caacatgtct	tattgtctccc	acttggaaag	196020
60	tggaaatgtca	aaaacatact	ttttcttcat	cagaggaccc	tattatggga	gtggcaagac	196080

ES 2 271 092 T3

aactgctcct gttactatcc acgctttctt aaagctttga ttcgatctag gttgtcagaa 196140
 aagtagactt aattcttttc aggatccacc attttcagca atagttccca ccagttcttg 196200
 5 gtgttctca taagacctta ggatttgtca accttgttga gtgcccctgg gccagggaaa 196260
 tctaaagcag aaaatccctc ttcaaaggat ttcagtgata aggatttaat ggaagcacia 196320
 attgcgagga cagcattctg gcatttgtat tatgaatacg gcaagccttt ttcattttta 196380
 ttaagaaacc cgaagccac ttaaaaacaa gagcgcataa acacagaaca aaaatccccg 196440
 tcacagaccc taccaccatt agttccctct ataaagtatt tttcagcgag cacttagaaa 196500
 10 tttccattaa aatcccaatt gcctttggaa atcctagtca cagtaaagt acaggcaggg 196560
 ttcttctactc tacgtgnaaa aaaaaaacca cccagccctc tgcaaatgtt gcaaatttgag 196620
 gctgtgttct ctcagtgaag ggtatgaaag aaaaaggaca ttagaggctg gtttatcggg 196680
 gattctcata acatgaacaa aggaacaata aaataaaact gttctcttaa tggttatctt 196740
 gtaccaggag aaacttctga cttcactatg cttagaggga tcacctttct ctttccaggg 196800
 aaaaatagtga agaatccagt gcctgaagac tgcaagtcca gggagaaaaa aacaacaaact 196860
 15 gacagcaacc ccagaagggg gctgggggtt gatgaagcat tgcagaaaac acaaaagcac 196920
 attaggcaag attttctccc agtaattacc caagctttga acagggatga gtaattccca 196980
 tggcaacctc actttgcaga aacctgtttt ttaaaaatag ccctgggtga tcacctttat 197040
 tatacagttt aaaatccctg tccttctccc agaaaacaa cagcaaatga aaatctttga 197100
 aatcttgggg ctgacctaga tcctaaaagg aaaagacagg aaagagtgtt ttcctgctg 197160
 20 tcgtttgaga ctccatagaa acgaccttcc caagtggta tttcccatc ctttatctt 197220
 gctacctacc gttctgtga gcaattgtga gaggttccct tttctctga ttcaggatt 197280
 ttgacagggg gtttccagt ttccaagca aaagaaatca agcaacaatt tctactgta 197340
 ttttctctcc atattattga aatataactc tagtttctt aagcagagt gtgattaata 197400
 aagttagatc tgaacttgac tttccagtaa cctgtataa aaagcagccc gctctgttct 197460
 ccgaagttag acatccagtc aaggtcaagg tctcactgt ggttgagtct acagcgtctc 197520
 25 actgcccgtg ggcctgagga tgggtctgtg ctgctgtctt gggtgatgca ccatttctta 197580
 tgtcagaacc tgcaatagcc tgggaagcat gagtgaacct cctggagcca tgcaggatg 197640
 agggctgtcc cagcacctcc acctcgtgcc cctgtacttc ccagcataga atcagagccc 197700
 acataataat gaacagtga tatttctctc gacagtaggg caatatctgc ccacctctt 197760
 gtcagcctcc tttctgtga agcatatgat agttctttaa taagccttca caatgaacag 197820
 30 ctaacttatg taccagtaaa aggaataatga tctattggaat gactatgttt tgtttacca 197880
 tttgatttta taactcatta acattcattc agtcattcaa caagcactta tagagcacc 197940
 gttattcatc tgctattctc tgggctgtgg gaattcaaca gtgagcaaga tgcgaactgt 198000
 accttttaga agctcatagt ccaatgggag gaaatgcaca tacatgcatg aaagtaaaaa 198060
 gtattagtgg aacctagaga cagaaccccc taagttcccc ttacagaaga agtgtgattg 198120
 35 attgataaag gaagaaagca cccagggcag agggggacat atatgcaaag gtatgcaaag 198180
 catcaggtgc tcgatgtttg agagaaattg ggtagaagag tgattaaagt gtgcaggttc 198240
 caacctcat cagtaaaagt gagataattc tcattttcaa ggtttgttgt gagaatcaa 198300
 taatgtaata atgttaata cctagcattg cacttgggct agcatatgtt ctgtcctct 198360
 caaaccagac aagaaagggt actgttanta aactgtacca tgaagtga ctcagcaaac 198420
 agatttctat tcacagttta ggacaaaaga cttttacata aatttaacct tcagatgtaa 198480
 40 cagtctagtt gagtgaata tattaattac tgatcaattt ccttatggta cctaagtctg 198540
 atttttttag agtttgattt ttgttgatct tttagtgtct atccctattg tctacacggg 198600
 gtctttgaaat ctgaagaagt aaatttaggtc attctggtaa gatttactct tccgnttttt 198660
 ttattgccat acagcatttt ataattgtct atattgattat agagtgtctg ataattgtt 198720
 cttgttaactc ctcacatagc aagtactca gcctgatcta taatttccag gatgaatgaa 198780
 tgtttgttca ccttaaaaga gagagagaga gagagagaat gaacaaanga acgaacgaac 198840
 45 acagcctgnt ttcattttta gngcttttgg tcttttgaaa gaattttttt tttaaataat 198900
 ggcttagctt ctctgcagta ccattcaaga tgtatctcca ggaaaagagt gacagatgac 198960
 atgatgctac catgtaacca tgggttgtat ctcaaaggga agaattgggtg ttcctcatgt 199020
 caaatatgaa aactctgtac acttctctct agcttaaaaa tgcttttagta gataatggat 199080
 50 tcccaattta gtcacaataa tggaaagaaa taaaaagatg cgttaagattt catcatcact 199140
 ggccatcaga gaaatgcaaa tcaaagccac aatgagatc catctcacac cagttagaat 199200
 ggcgatcatt aaaaagtcag gaaacaacag gtgctggaga ggatgtggag aaataggaa 199260
 acttttacac tgttgggtgg accgtaaact agttcaacca ttgtggaaga cagcgtgcta 199320
 ttcttcaagg atctagaact agaaatacat ttgaccagc catcccatfa ctgggtacat 199380
 55 gcccaaagga ttataaatca tgctgtata aagacacatg cacatgtatg tttattgcag 199440
 cactgttcac aatagcaaag acctggaacc aacccaaatt tccatcaatg atagactgga 199500
 ttaagaaaat gtggcacata tacaccatgg aatactatgc agtcataaaa aaggatgagt 199560
 tcatgtcctt tgtagggacg tggatgaagc tggaaaccat cattctcagc aaactatcac 199620
 aagggaacaa aaccaaatc tgcatgttct cactcatagg tgggaanctg aacaaatgaga 199680
 acacttggac acnaggaagg ngmacatca cacactggga cctgtcatgg ggcaggggga 199740
 60 ggggggnnag gtagatatt aggagatata cctaattgaa atgatgagtt aatgggtgca 199800
 gcacacaaac atggcacatg catacctatg taacaaacct gcacgttgtg cacatgcacc 199860

ES 2 271 092 T3

	ctagaaccta	aagtataata	taaataaata	aataaataaa	taaataaata	aataaataaa	199920
	taaaacgatg	cgtactataa	aatcaaaacca	ttttttcttc	ttactgggtc	ttgcagtaaa	199980
5	ttctcaagct	aaaaccaaat	atctgtgtgt	gtgagcactc	accctttcat	ccaacaatca	200040
	tttttgagga	ccatttatatg	caaacagttt	gctggggccct	gagtaaacaa	acacatcttt	200100
	ctatatctcaa	ctaacattag	agtaggaatt	ccctctcaat	gattatTTTT	gcagaatatt	200160
	taattgtgtg	accattttt	ggttggaact	atgtatcagc	tgtttggtat	ccttagtaaa	200220
	tgcgcatgga	gagtcaaaag	taaatacagtc	taggattaag	aattttttat	aggtaattta	200280
	aaagattttt	aatcgcat	tctgtatcat	gcacaaaaga	ggtatcaagg	agttaaggcc	200340
10	gctgctaaat	ctatcttggg	aatttcat	ttgtctctct	ttttaactt	tttccctctc	200400
	tgactacagt	tttacttata	aattgtctct	tctatcaagt	gtcatgctag	tctcagtgtg	200460
	ttgtatttgt	tgctgatgat	ggtgttgagt	ccaagtcctg	cttccctgtg	ttgccacaga	200520
	ccttaaat	cgaatttcta	caccataat	ccagcactt	tgggaggcca	aggctggcgg	200580
	atcacctgag	ctcaggagtt	cgagaccatc	ctgggcaaca	tggtgaaacc	ccatctctac	200640
	taaaaaaaag	tagctgagca	tgggtggcaca	caactatagt	ccagctact	cgggaggctg	200700
15	aggcatgaga	attgcttgag	cccagggggc	ggaggttgca	gtgagccaag	atcatgccac	200760
	tgactccag	cttgggagat	acagcgagac	tccgtctcaa	aaacaaaaaa	aattttggaa	200820
	tttctaatt	cacaaacagg	ttaaaagcat	ctgacattta	ctctagaatc	acaagcccac	200880
	tcactctctt	ttgtctctgc	agatttccaa	tctttgcctt	cctgtttata	ttagatataa	200940
	tcataaagtc	attttgtatt	ttacttttgt	aattaaaatc	tatctagcgt	atatttatag	201000
20	ttttgtttgt	ttgtttgttt	gagacggagt	ctcgtctgtg	cacccagcct	ggggtgcagc	201060
	ggcacgatct	cggctcactg	caagctccgc	ctcccgggtt	cacgccattc	tcctgcntca	201120
	gctcctgag	tagctgggag	tcagggcgcg	cgcaaccacg	ccgggcta	ttttttgtat	201180
	tttttagtag	gacagggttt	caccgtgtta	gccaggatgg	tctnctnatt	cctgacctcg	201240
	tgatccaccc	gcctcggcct	cccaaagtgc	tgggactaca	ggcgtgagtc	tcgcgaccgc	201300
	ggcatttata	gttncctatc	attaagtact	gtatattaaa	cctatctaaa	tttgtttcag	201360
25	tactcgaaga	tattgctttt	ccctcgattt	ttgcacagtt	tcattatttn	atgtgtaaga	201420
	ttttggagat	ttgaccaagt	gaccccgagg	tactgtgtta	gtggccgaaa	cattgtcata	201480
	acattcacgt	gcaaaaaaaa	atcagatcca	ttaagtttta	aattgtttag	tttctaata	201540
	tacaagctgt	tcctatatat	caagttagtt	gattcatttc	aaaataagca	gtccctcttt	201600
	gtaattttta	cgtcattcat	atttcttatt	ttcaaggact	aactacatta	aaatatataa	201660
30	gatagaaaaa	gtaatacttt	aatattatga	aattaatcca	attttcaaat	atatttcaag	201720
	caccaacaat	gcacagtgtc	agacaatgaa	agaaaatgta	ataaacaaag	aatacattat	201780
	acatatccta	aggagtttac	aatctatttg	aattttacaga	aagataaaaa	gatgtttcac	201840
	acagggcagg	gatcaacttg	tgctgggtgc	ctaggagttc	aaaggaagag	cgaagatttg	201900
	gtgtatgcac	ggcatgcaca	cacgtgcaca	tgcatgttta	tatgaatatt	ttactccta	201960
	cacatagtgt	ttttacaggg	ttcagaacac	atgatattga	aataagttac	aataggaaat	202020
35	cttttttttt	gtttgtttgt	ttttttgaga	cagagtcctc	ctctgtggcc	catgtgtggg	202080
	tgcagtggca	cgatctcagc	ctctgcacg	ctctgcctcc	cagggttcacg	ccattctcct	202140
	gcctcagcct	cccgagcagc	tgggactaca	ggcgcccgcc	accatgcccg	gcttattttt	202200
	tctatttttt	agtagagacg	gggttttacc	atgttagcca	ggatgggtct	gatctcctga	202260
	cctcgtgac	cacccacctc	ggcctcccaa	agtgtctggg	ttacaggcgt	gagccaccgc	202320
	acctggccta	caataagaaa	tcttgaccac	tcacttaaaa	ttctcttcac	aaaattcaca	202380
40	ttttaagata	ctgttcaaa	cttcataaca	tgatattata	atgggtattca	cctttatata	202440
	catccataat	caacatttta	atcttgctga	tgctcacatt	aatcaccttt	taaaattttt	202500
	tttctaagca	taattgtca	tcenagagaa	agtttatttt	atagaaacat	cttgccacac	202560
	acatgatctg	tcgtatgcac	tttgggatta	attatgaatt	cacgggtgca	tgaaaattca	202620
	aatcacgtca	aatgagatac	caccttcgac	ccatgcaatt	ttaagtaatt	gcttattccc	202680
45	aattactata	ttttatttgg	gagacttatt	caataaagtg	gctcgttaca	ataattacac	202740
	tacaactttc	tagcagaaat	gacattcatc	aagccattatt	cattgggacc	tggtttttgtg	202800
	tccttatggc	atatgttttt	ataaccactt	tcctatttat	tattaacctg	ttaatatttg	202860
	taaagtgaga	aaagaaaaat	ggagccactc	aaactttttc	ccagttagaa	acagaaatgt	202920
	attgttaaca	ttgtaaatca	aaaaagctat	tgaatattta	taatacttgt	ggtgtgcttt	202980
	gtcaaaataa	tattgatggc	ttcattctga	aggtgtgttc	taggggtcaag	ctatggtttc	203040
50	ttaggtctaa	gcattgcccgc	atcctaaagg	aatctatatt	caagataggt	ctgtgtgtac	203100
	ttctgggtga	ttgaattaat	caaatttaata	ttctgattga	ttgagagttt	tgatggatcc	203160
	cagattttta	ggaatcagta	agtgtaaaat	ataaaaaacta	tgatcatact	agcttttaag	203220
	agttagggaa	tgtattgatc	tctttcagtg	cttcagagtc	attattctga	aaatcaatta	203280
	tgcatatgta	gaacaaacaa	aaagtgtggt	agttttcgatt	ttgcattagg	atgtgagaat	203340
	agcaagagtt	tataatatgt	gtaaacaaaa	tatttcaagt	caagcagata	atatttttgt	203400
55	atgatatagt	ttagaaatg	ctttttttata	ctaagcctag	tgacatttta	catagacata	203460
	atgcagtga	aagatttgaa	cactgaagct	gcatgatcca	gagttctagt	aataattttg	203520
	caattttatta	tctgagtga	cttagacaac	ltaattttta	tgagccttag	atcttttaac	203580
	tggaaaaaag	agataataat	accttaccta	cctatagga	ttagtttgaa	gattaagttt	203640

ES 2 271 092 T3

```

aaaatatgta tatatcacct cagcacagat caaggagcca agaaatacag atgtagaagt 203700
tataaaatgt acattttttaa atgtgcaatg ggcattctata aaattcttca ttcaatgact 203760
agagaataac atttctaattc aagaacacat gtatgatttt aaatgtaacc atttaccaca 203820
5 gactttctaaa tatatacaca tcagtgctctt agaaaagata ttatttgacc aaaatgtaac 203880
aaaatcngaa acctaataag aagaaaataa ccacaaaaaa acctacacat tcagaaattt 203940
aaaactatct tcaataaagc acagaagaaa caccaatgaa aataagaaaa tatctacaat 204000
taaaaaataa tgaacaaaag atgcatcaaa ctgtgtggaa gtatgctaag gcattttttag 204060
aggaaaaaat ttagccctga atgaatatct agtaaaagaa taaaggctta aattaatcct 204120
10 ccaagcattc atttcaagaa tttagaaaaa ttatcaacca aggaacact aagatagcag 204180
aaagaagaa ataataaaga gaaaagcagt tattaatcaa atggggggaa agaggtgata 204240
aataaatca acataattga aattttgttc ttggaagca gtaataaaat tgataaatct 204300
actttaaaat tcaacaagaa aaatttaagg agccttcttc tataaagatg acagaggcat 204360
tgacattggt ttttaacctt gaattcccat atgaanaaca aaaagaatac caagatatca 204420
aaaccccaaa tccatagtta atatttacca taaaactcgg taatccacaa accctaaata 204480
15 aaagcaagtg ttgacaaaca gccacatgat ttgcatgata ttagtgtctg tgggaggaaa 204540
ccaagccttag ttacagagcg tccaatgttc atggaatggt agaacatctt ctttgcctcca 204600
ttctgaaata aaaagtccag gagtggaaac aaaattgaa aggccaggaa caagagtgt 204660
aaggataaaa gcagatccag acaaaatttg tggggggagg aggattggga aacagagctt 204720
ggaaattcca gaaagaaagc taccatattt gatcgatata ttaaaacaac agaagaggaa 204780
20 actctgaagt tagaagagaa atactaaact gtttgggaaa actaattttg tataaaaatg 204840
agtaaggaaa attatcaaag ccaaattccc tgcaaacgtt attataagaa aaaaacagca 204900
gaatgataaa tctcactgta gacaaggaaa gcaacctana aaaacgtgct ctaaccagct 204960
caaactgtag catactattg aaaaattagt taaaagacat taaaatttac ataaggatga 205020
aatagcaaca taaataaaaag tttagaaaaa tcagaaatga ggtgccagaa ctgagaaaag 205080
ttataaatta aagcaatgaa aactaaacga gaaggaaact aaagagacct cagatgattc 205140
25 aaaagtgaga aatagaaaaa ggagaagagg gcaatttttt aaatcaaaga gaaatgaaga 205200
aagagatgaa aatgatttgc aagaaaaatg acaaaattga gaaagtcaaa aatccgacat 205260
ctgcattata ggtgtcccta aggaagaaaa accacagcaa gagaataaaa cgtatactaa 205320
acttttctga aacataaaaa gatatgaaac tatatatgta cagcacacac ctaaaaatat 205380
tggagtaaat gattaaaaaa aatacataca ccagacaaat gacaggtctt taaatttttt 205440
30 aaaaatatat tatctagccc aaataagaac aagtgtatta taaaggaaag aacgtttagt 205500
tatcatgaga tttttcagca gcaatgcttt atgtcagaag aaaatagagt aacatatata 205560
ggatgcccag gcaaaagaata tctgagccag atttttttcc atcctgaaaa ctgactttca 205620
actttcaagg tcagagaaac tgctttcaag atctaagaat atgagtaatg taagatacaa 205680
35 gtaactttgt tctctgaac ctgtaactca ctaaaaaaca tgcctcagat aacctaagt 205740
aactccaaaa gggactctta aaccatttgg cataaaaaat cacattcata tgtaaacact 205800
aactacataa ggacaacatg aagagtgaat tatgtaataa ttatttgttc taatatggat 205860
agagtacaga tatacaaatg aggaggtgaa ngggaagaag atatgcaaac ccttaagata 205920
40 ttcaagtatn ttcttggttg tgtattttca ttctgagact attgtctatg aaatgtgaaa 205980
taaaactgag tcaactgtng gacaatctaa ttctggcatc cctggtgctc ttgataatca 206040
agagtgtctt ttgtggagaa aaaaggagat atagatatca tatagaaaag cttagggtaaa 206100
aataaaaaat ctaaaagaaa cgtggcatgt atacaccatg gaatactatg cagccatata 206160
45 aaagaatgag tctatgtctt acggatgaag acggatgaag ctggaaacca tcattctcag 206220
caaaactaata caggaaacga aaacaaaca cagcatgttc tcagtcataa gtaggaattg 206280
aacaatgaga acatattggc acagggaggg gaacatcaca cactgggtgc tatcggggtg 206340
gggggcaagg ggagggatag cattaggaga aatacctaat gtatagacg ggttgatggg 206400
50 tgcagccaac cactgtggga catgcatacc tacgtaacaa acctgcacgt tctgctcatg 206460
taccocagaa cttaaagtat aactaaaaaa aaaaaaaa aatcctgggt catgaattta 206520
aattgaaaac atcagaataa acccaggcaa aatatttgaa acagtacca actccatagc 206580
agttagcatc tatgggctct agatatgttc ttgaaacacc atttttccaa ttttccaata 206640
55 agtaaaaccg ggcttcttga agaaaatggt tgattttgaa taggaagtgt acaagctgac 206700
cttggagcat cttgtcatc taggaacaag gaagctttgt caaagactac gagggtcata 206760
taaaaagaac ctacagactg accaacttga aaaactccca atgagcacag tagagataat 206820
60 ttgactaaca gtaagaaatg gtaattgaca tggactgaaa tccattaaac attaaataag 206880
tttaaatctt gagttcataa tgacattntt taaaatagta attggttacc ttgagcgatg 206940
atagaaaatc aaccatgtaa aattaataag taaaagtcca taatcaagca ttatctctgg 207000
cttttccata ccagttttgc tactgggtaa ccaataata caggagggaa agcacctcat 207060
65 tataaaacta tcccaactaa taaatgaaaa agaaatgaca gttttgcaa cggaaatgaag 207120
tcaagggatc taagaaatga acatcaagac ccgtaacatc acaaaaagaa acacacacac 207180
tctgttccct tcgatggaa gacctatggc cctgccaaag ggatgaaacc 207240
70 agagtctgta tgatgaaacc tctggatcca gctgccgatt ttcagaaaa atcagagacaga 207300
agaacgtgtt gaactgtacc aagagtgtgc tttcagcaaa atccagactc tctcttggct 207360
75 ggnngtgceg tggcttactc ctacaatccc agcatattgg gaggccacgg caggaggatc 207420

```

ES 2 271 092 T3

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

```

acttgagccc aggcatttca agaccagcct gtgcaacatg aagaaacccc atctctttaa 207480
aaaaaaaaaa tgttacttag ctatatgtga tggcacacgc ctgtagtccc agctactcag 207540
aaggctgaga caggaggatc gattcagccc aggaggtcaa gactgcagtg agtcatgata 207600
attccactgc atgcactcca gcctgggtga cagaacgaaa ccctgtcaaa aaaagaaaaa 207660
aaaaaatcca gactcaaaaa ctatagggtca aatggcccag gtttctctat ttttagggga 207720
aaaaagggtg acatgtagat taattagaag acatcgccaa aaaatcagca agatttcatac 207780
attggaatgt ctttcagggtc caaattatct aatcacaaat aactctatgg gaattgagtt 207840
gaagcttttg aattatgtgt taaagtatgt aattctggaa acgtgtttta acttagaagt 207900
tcaagactta aaatatctct atattgttga taattttaa ttaatttact tgttttgagt 207960
tattaattct gtcaagaat tgttatctga ggcagttgga tgttttcagt tcccaacaa 208020
aaccgaagaa aatcttcttc aacgaatctt tgactttttt caaagtaaac tccttgtaat 208080
tccatcattc atccctcttc tttttattcc cacatctctg atatgtttac atccagaatg 208140
agcaattact ggctcctttc atagctgtaa tttacaattt cagatctgaa attactcatc 208200
atgaaattga tctctgtatt ctttgttttg ctaattatct caggtgattg tcagtatctt 208260
ctagagccag aagagggcac tgcagagcag tgtagctctg agctctttat gtttagcaca 208320
gtctaggaat gccctttgcc aaaaaaatt cgcaagcctt tactatagaa gtaagaaaaa 208380
agaagggaat aactagataa tcactatagg ctttctttat ttagtagaaa aaagaaagta 208440
tataacgatc taataacata tctaggacat caaatgtaat atcatatata tatgtataag 208500
tagatgaaag aagacatata tatgtgtgtg tgagtctctt ctttctttta agaacatccc 208560
aaaggccagg tgtggagggt cacacctgta atcccagcac tttgggaggc catggtgaaa cctcgtctct 208620
ggatcacttg aggtcaggag cttgaggcca gcctggccaa tgtaatccca gctactaggg 208680
aataaacta caaaaattag ccggtgtggt agtgcatgcc gttgcagtga gccgggatca 208740
aggctgaggg agggagtattg cttgaaccca gggggcggag gttgcagtga gccgggatca 208800
caccactgcc ctccaacctg ggcaacagag tgagactctt tctcaaaaaa caaaacaaaa 208860
caaaagaaca tcccaaagct aaatctgat ttttcttatt ataatttga ttctctgct 208920
acctctggca ttagttataa aaacagttct caagtactct cctgtatgaa ttaattctgt 208980
atthttgtct agttcaaat caggacaaag gccattcagt agccttttag caatcttgtg 209040
cagggcagaa atcatttagg caatagtgtg ccagatatta tcccaaaagt ttttcttaac 209100
gtgaaattgc aggggcagta gataagtgat tggattcaga ctctcatctt ccactgaagg 209160
aaagaaactc aacacatgtc attgtctctt caagatgaaa ggtgtatgaa ggaatctgga 209220
gtcctctctt aaaactcact gtcacaggac ctctgtgcct gggctctgct caggactatg 209280
tgtgttctta ggtgtctaaa gagcagatgc tccacgatga tggggccacc agctgagtct 209340
tccatctcca aaagcggctc caagcagctt tccttaggag ctgagctgtc aactcaagag 209400
aggcttaaat catgtcaaaa gtcacacttt ggccgggtgt ggtggctcat gcctgtaac 209460
tcagcacttt gggaggctga ggcaggtgga tcacaaggte aggagttaa gaccagcctg 209520
gccaatatgg tgaaccccca tctctactaa aaatacaaaa atcagtcggg catggtggcg 209580
ggcacctgta gctccagcta ctccgggtggc tgaggcagga gaatcgcttg aaccaggag 209640
gtggagagtg cggtgagctg agattacgcc actgcactcc agcctggatg gcagacaaag 209700
actatcttaa aaaaaaaaaa aaaattatgc caaaagtcaa ctcttccagg aggggagaag 209760
taggaaagt tcaagattta tcattggaaa tagcatgtat gtgctaccaa gaaaatggaa 209820
gttccaaata gttggtatcc actcttgtct ccttgtccat acattaattt ttctcctaag 209880
agttctagtg aataatgaaa ccaattccgg ttttctatt ttgagcagaa aaatgaacaa 209940
accaccttct ctcagtaggg ggaatcacc agtatgttca gtgatgctga tctttactac 210000
atatctgtct taaaaatga aaagtggatt gctagttttg atgttatcta ggttatcatt 210060
tgtgactaaa aagacctgtt tgttactctg gttcttctcc actatggctt tatggacaca 210120
ctgactgaca ttatagcatt tgttcatagc tttgtttgta gaatgggggt ctgtgagttt 210180
gtacctcaac atacctaac cttgttgaaa agaaactaac taggtgatct atttttactg 210240
aatacagagt tttctgtctt ctgagggttt tcttcccccc ctcaactttg tttgacacac 210300
agtatgcctt gtagggcttc ttgcctgggt tcaagatctg gctagcacag cacttataca 210360
ggtagtttgt accaaattaa cttgccctgt gcacacatgt ccacttcagt ccttcacca 210420
gtaccgcctt tgcctctagg aatcttagcc ttcttcaag gccagtgata acctccactt 210480
tttcattgaa gcctttgccc actagtccag actgtctgtt ccaccgcaga gagctccagc 210540
ccctctgate ttgtgttttc tcctttacgt atcatctagc actgtgccc ctactgcact 210600
gtacttgtca ctgatgtct catgtgtcct acccttgtct tcctatctag gctatttact 210660
tctagaaacc aagaactcca aattctatct accctaaatc tectatgggt actaatatca 210720
tgctaagtgc tcagtaaatc taatctattt atcaaaatga acaggtctca attactatct 210780
tcagtctgac tactggagt acactttcct gttatttatt atttattcta gttatttatt 210840
atttgtgaatc tagttattta tttattatta tgagaacata gtggcccat tgcctgtttt 210900
ctctttgccc ttcttctgcc tgccttaact cttgttanac cttccacca tctaaaatct 210960
gcaactagca agccacacag aactgagctt ggggagtata tctttgaatt tacagtcagc 211020
atccaggatg gtttctctct tagttctctt ctctggagta attttatcat cgccaactag 211080
gaagagatct tgaatgcccc tttcatctat tccccaccc tgcaagcaaa acaactccta 211140
aactcattgt tcagattagt gttaggttac aggccaagaa cctgcagcag acataatgtg 211200

```

ES 2 271 092 T3

gattagagaa cattgcgcta atcaaagaca aataaggagt ccagtatgag ggtcaacggt 211260
 aaagtctttg gaaactgaaa attttattca gacgaaggcc attatcagag tgaggcacag 211320
 ccaatgcacc atccgtggct gggacgtggg gccccacaag tttgttcatg gtgctgcca 211380
 aataaaagta aaaatagaca agaattgtca attgtacgat gatgcttttag cgaacatat 211440
 tcatgtttca tgttttaaca atgtcatcta ttgaatgatt tgacagtata ttatttctta 211500
 acattccaaa actaaaagtc atactcttat cattttcagc ttcgcaagtc tgttttcagc 211560
 atcagggcaa ggaaccttct ggaaaaaggag accgcagtca ctaaaatctt aaggtaacac 211620
 caattaatgt tgacacatat ttaaaccaaa gtgggattat attaatcgaa aaatagcttt 211680
 ttgaaaaatg aattaatgtt ctgggcatca gcataatact tctgccagaa agtagctttg 211740
 agtatctatg tacttataaa caatgtaaaa gacatattga tgtcatttctt aaaaaaaat 211800
 tttagtagct cagtaggcct ttctttcaag tattttaaaca taaatgataa gtataaacat 211860
 tgaccaaaag gtgaaaaata cttactgtta tttttaacag ttttatatct tttgtgat 211920
 gtaaggagaa aattgcaatc taaaggataa atggtaaaaag ggtaaacttt ttcattatag 211980
 ttcattacac tattaagagc acattttatta aaaatccnga aataataaaa agtataccaa 212040
 tcttagaagt cctatgaaaa catatgcttt taatgtctact ttctagaaga tgcgctgaaa 212100
 tgaagtatca gttctgaaaa cttctcacta gacttgagtg ttttataaga ctatatgtta 212160
 tattatggag taacatgatg agtataaaaa cacataggca tttagaatat cattttattg 212220
 tacatatatt acatagacat atgtagatga cacaactcaa gatggggagc tggaggttag 212280
 atcgctcgca aggcgagtg acagattcat gccaggaagc cccctgcaa cctgcggtga 212340
 gtgataagga gttctagctc cttctcacta gatttattac taggaataga cattaatgt 212400
 ttctctccag aatgcatatt actataaact ggaagactgt gtgagaaaat aaagcttagt 212460
 atatatgatc tttaaaacta ttcttacttt ataatactac ctaaaatttg tgtgcaaaaa 212520
 aaatttccta actcatcaag acagtatttc tctcaaatat ggctgacgtt catgcataga 212580
 gtttaagtat tgttggagta gctgtcatag gatgaaaaa agcatttctt aggcctgtat 212640
 attatccacca caaaatgtga tgagataaac agacaaggtc tcattgaaat agacaacctg 212700
 cgccccaact taggcttact cccgactggc tggtaactcc atcctggtat taccatcaga 212760
 tcatgcagtg aggcctggcct tgaaccacac atgttacatc aggatcatga ttccagctgc 212820
 acctacatca gacaggttca tggtagggtc ctacagcaag gctgatccac tcaactaaaa 212880
 gagaatattca ccccaagcc agaaactacc tacaaggaca tcataattct cagtctgcat 212940
 cgagtatctg cctgccaagt caggaaactac agggacctta ctcacctgtc cagagccact 213000
 gccttgagtg gtgaatgggc cctctgtgtg aatgggttcc cagagacttt ccaaggcaga 213060
 tgcagaaaac gatactggca aggaagagat ttccagacct cacttctcta ggaactcttc 213120
 cttaaaaact atcatcact ttaccttttt caccctctctg tccttattta cccctctctc 213180
 agtttacaaa agaaagggtga aactctcact catccggaaa ctatggcgtg tattaatctg 213240
 ggaatgtaaaa tcctctgggt tgccaagcaa aaggaccgtt cccacctgga tttctccaaa 213300
 aagagggttc catggggccg tgccttatta ttatccagg tgacagtttt atggataact 213360
 tccttcccaa agctatccac gcttagatag gccttgaaa taacatgatt gtcacaagg 213420
 catgtgggta catgttattt gaattgaaa ataaagccag actttttctg acagattcag 213480
 ctgattgggt caacaatgaa aactgattta ataatgccc aatgtcataa aattgaatag 213540
 attggatggc gaagagtctc caatattttc ttaaaattat tttcaagcac aaacacaata 213600
 atgctagaaa ttacattctt ctatttaacg ttgtgcaaga gggatatagt tgctgatttt 213660
 taaatataca gaagtgtttt tgttttttca attatataat gtacatgagc aatattttta 213720
 agactatcag ggaatataga cacctctaac ttgcctaaca atgggtgtag ttaggggata 213780
 cccacagcca ataaataata ttttactgca gcccgacata ctacagaatg agaggcagca 213840
 ccttaaaact acctgagcta tatcaccttt tgaactcag gaaataaaaa gccataattt 213900
 gaaaaaataa aaaaccttag aattttttta aatacaaat tgatcttaga aagccatttt 213960
 gttttttctt ctgtgcgaat ggtttcttca ttgcttctat gctagtttct gcatgaatta 214020
 agggcaagtg caaaaaatca aactgatatt ttgggaatac ttatcttttc accactaatc 214080
 gtagtaatag taatggcaat gataccatac ctgcattata atgtgatcca tcagttaaaa 214140
 agtcaagaat agattgggtc catgtcaatg agtgtttgta ttgttttata ctgtttttca 214200
 aggaacaata acagctaaaa ggaaaaaaag agggagaaaa agaatttttt tttnnaaaaa 214260
 aaaaaaggaa aacatttgca gtaacctcag gacaattgat tccaataacc ttccacaaaa 214320
 ttgggaagga gaaaaagctc cccaccact ttccagtgtc tttttactgc ctctagggag 214380
 tccgtctctc taggctccaa tctgtctgtc gattaaactc tgccaagggt cctgggatac 214440
 ttagcagtg ggtctcccag gaccatttgc attttgaaag aaggctttta aaaaatgaaa 214500
 gggcttttaa gacaaagagg atgcagattc tgtcttttaa tagatgggtc tatcttgata 214560
 taaataaaaag aaatctggaa gagactgccg ttttagtgtt ctattctctt ccaagaggtt 214620
 ggtgttctta atttcataga attattgttt ttagtcttat ccaagaggtt cctcgccagg 214680
 gaggttaagta acagcagtat agggaggctt gaaaaagaga cctgagctgg atcattccgg 214740
 caaatatcac aggttggcat tgcctctaatt ttgtgtgcag atagagata atcacaaaaa 214800
 ccttaaatcc agagtgatat aagaatagga agtttttatg aaatattagc gtcttgagat 214860
 aactttccaa aaaaatacaa gtatttggga aaaaataaag caacccttg acttaagggt 214920
 tctggaggcc tggctgtgta aacagacaat taattttcaat tctcagctct cttgtctatt 214980

ES 2 271 092 T3

5 ccatggggagc tagggaggagg ccatcttcag ggccctgaa gatctaattgt aggatactgg 215040
 acttggtggtt aaatcccccc tggctgggat caggctctgc ttctctgtaa cattgaacac 215100
 ctcactaatc tgacctcag tttcttctc taccttaaaa agattgtctg aataatctat 215160
 tgaccaagca aaatttaata cttattccag taagggaac tgccactttg ttttcataat 215220
 gtctcagaag ggataagtga gaggtggata tatgtaagggt tttgggtttg ggtttcagtg 215280
 tttgtaggat ggaggtctgt ttagactggg cagaattcct gatatgagtt gaggagatt 215340
 gaagatgcct ggtatggaca agtaatagtt actggttctga agcggcagtt gctgtggttg 215400
 10 aggaccagaa agagaagcg acctgcctgg tgcctctcca ctgctttcca tgttcttccc 215460
 cccggctttg gttcaacatt tgagtaatcc attctttaca gcgagtttgc ccttctattt 215520
 tcattctcct tcttgacttg ggtgatctaa gagaagaaaa ataatgggtg accttatgtt 215580
 gtcctcttca cacatgaaat ttattttttc ttttgtgcct ttcagatttt taaccagaca 215640
 catctattac ctttaacaaa caaatataac tgacttttat agtgggtttt tttttttt 215700
 aagtttggca ttgatcccca ttgggtagag tcttcacaaa aaatcctaata gaataccaac 215760
 15 tattttagtg tgactagctt gaccagttag gtgacctact gtctggagaa aggggttggc 215820
 ccagcagctc atagttcaga taaatgaatt tgtgggaagt gcctgaaatc aacgggtgaag 215880
 ttgtcagctg ttttaacagct ttaccttctt ggacaagtca agtcatattg acgcagaggc 215940
 tcagctctca gccctggaaa ttaagctgga gagctgccag gggctcttagt tctcaggggg 216000
 gacccacatt tccaaatata catcttccat ttgaaacagg atccacatta tcttagcaga 216060
 aagtatgtta tatacattac ttgaacagg aaattccagc ccacagagga agaagttctt 216120
 20 aacacgggat gggccctaga cctgaggta tctaactcac aggtagaatc accttttt 216180
 atgtataatc atctttaatt catgttcttg tacttttgaa aattaattga tgttttgaga 216240
 aatataaatg aatttttttga tatatttgag aactctttga tgagaaaaaa aaaagtgggc 216300
 catttttaca gaacttgagg ctactggccc atgctaaaaat gcagatgatt cacttggcac 216360
 aaacagagc cctgaaatcg agcaaaaaat gcattatcgt agaggatgtt ccactacttg 216420
 25 aattataaaa tccaggattg ctattaaatt tattgttgtt ctgacttaga ctgtatcgtt 216480
 cagctccact aaataaagct tcttttcaaa aggcagtgac cttttctctc atcaggcgaa 216540
 ataaaaaaca aatagcaatg tactttcaaa agcatcacta cctttgttga gatttctctt 216600
 aattcaagc cctgaaatcg agcaaaaaat gcattatcgt tctgcaagg ctgaatgaat 216660
 agagaaatgt taaaataaaa caattaacaa ttttacatta gtttagaagg ttccatcctt 216720
 gtgtggtttg ccatgagtac ctcttagtg aggacaatat atttataacc ttctgaatgc 216780
 30 tcagctctctg atgatgtttg cattctgaca tttggtttta taacgtaact ttctttgcca 216840
 tgcacttata ttaataactg ttttaagtctt aaggaatagt ctttagttta ctgtatcctt 216900
 ctacagaaaa aaattaaacg gatttaataa aatacataga gatagttttt ctcttatcat 216960
 ttttaaagaa tcatttaatg actataaata caacttatat actacttaca tatatatata 217020
 ancactatgt atttattaat ctgcaattat gtaaatgaca ttagctggat tttttttctt 217080
 gaaagaaagt gcccctaaga attcacgcat tcatctcgaga aatatctctg taggttctca 217140
 35 catgcccaggc atttcacacc atttgctttt tcccatttgg aaagttctcc ttttataatt 217200
 attgttccat aggttagcca gctattcagc aactttggat aagggtcatat tatttctctg 217260
 cagctccgca ttctgggagc aactagcaag acaccttgta cactgctggg agggcctgag 217320
 taccttacag cgnctccctg gacctttgag ctacagctct cagtggaaag ggaagtgctt 217380
 ggactgaccc tacagatgag agaaagaaac gacagagacc cttgcagcct aggggtttgtg 217440
 40 ccaacccctg agatagcagc aatttttttc ttagcatttg gtatgaataa ccccaagttt 217500
 taagaaaaata gagtatgaga atgaatgtca taaatattta tctttgcaat tctatgaagt 217560
 ctgcttggtt attgttggct ttttcttaag attttctctga cacttaaaaa ctctgataag 217620
 ttagttagaa gactatttgg aaataagcta agtagataga tgaaaattaa ctgtattcag 217680
 acaaccataa actaaggaga caagatgtgt agatatatgt ttttgcataa aacataaaat 217740
 agtaaaagatt taaaagtggc aaaatataac taaaacaaaa ataataatatt ctaatcacat 217800
 45 ttttagatag tacctgattt ggggtaatca aaatatgtta tattttattg agatagcata 217860
 tgatttatag attgttttta gttaagccca aaagtgatta taatagtgtt atggattaga 217920
 agggctacta ttgagtttta ccaaacagat gtgggaagtt ttttttaata gactattttt 217980
 tgagcagttt taggttttgc gcaaaatgga gcaaagggtac agagatttcc catgtacctt 218040
 ctgccccac acaggcacag tctcccaac tatcaacatc ccatcagag tggtaacatt 218100
 50 gttacaattg atgaacctac actgacacat cactatcacg ccaagtctgt agctgacact 218160
 agggttcact cctagagtac tatagtctat ggggtttgaac aaatatgtga tgatgtgtat 218220
 ctatcattat aacatcatac agagtaattt gagtgctcta aaaatcctct gtgctccacc 218280
 tattcatttc tccctcccca caaacctgg caaccaatga tctttttact gtttccacag 218340
 acatagaaat gcacatagaa atacatagat atgtgtctcc atagacatgc attgatgttg 218400
 atggcagctt tattcctaatt tgccaaaact tggaaagcaac caagatgtcc ttcagtagga 218460
 55 gaattggataa gcaaaactgtg gtacatccag acagtggaaat aattattcag catggaaagg 218520
 aaattagata tcatcatgga aagacatggt gtamacaata atgcctgtta ctgagtaaaa 218580
 gaagtcatgc tgaagagctt acatactgta tgatttcaac tatatggcat tctgggaaag 218640
 atagaaccat ggagatggaa agatatctta acaaggtctt tcttttgtta ttttgcact 218700
 ggagagtaaa gtagtaaaaga aaaatggaat acatatctgt tgaaaatttg ccaatgcagt 218760

ES 2 271 092 T3

tcctgcagca tttacaaaat ttcactttta ttgtagtaaa aagttcagcc tttgcattgt 218820
 aatttgcag tttcggagtc agtagttggg ttactaaatt tgaagcccag tgaatgatgc 218880
 ggggttgag acatttttta tgctgaaatt taatagatgc acgaaaggca tggattttctc 218940
 atgagttaat ttttcttttt tggttatagt atgggtataa gtgcgttaaga taaagacatt 219000
 caagggttat tttattttct gcctacnag aagttctggt cgcctatgta tttacatgcc 219060
 tttctatgaa aacattttta tgaataacac aagattggga agaactaact ggcagttgct 219120
 atgaaagagc cagatccatt tactcaggat agggctgact cacaaaggag tggggtatcc 219180
 actaggataa aaatgcagct ttttctctcat ctacagcaaga ggccattacc gacgagctca 219240
 cccattagca tccgctgttg tctctacttg ggaagatcac attgtcactc tagtggagtc 219300
 aggtataagc catgttccagg aaatactcat tatctattct cttagttata cagtcatagt 219360
 tttacataat taccactgaa agactatttt cctgttgtct gctaattgtga ttacattaca 219420
 ttaaccaacc ttggataata cttttaaatg tattacttgt ggagttcaag atttgagcaa 219480
 aatccctcaa atgtaatgct ctgcaaagtt atactgcagt tccttttagat ggtaattacg 219540
 ttttaatacca cagcgttattg ttaataaata ttttcttata atgagtgaat ataatttgaa 219600
 gactcatagg cctctccctt tcatcacaga atgtataggc tttttccaca ccttctgtct 219660
 gggacattaa gaaagaagac atggagacaa agaagaaaag aaccggggac cccctgtctac 219720
 tgtgtctata aacaactagt ggtgtttaaa ggctaataaa gctccaaaga tctctcttat 219780
 aaccataact attttggcaa ttttaaaata ttttagatgg agaaaatgtca agaaaaatag 219840
 agacaatttc aagacatgat tctctttccc caacgtccat aaaagattat atatatatat 219900
 atatatatnn nngcctgtca tataaggagc aattgaaatt ccacagcaca aaggcaatgc 219960
 aggggggaaa aaaaggatca atctttcata ttattttttc tcaaaggcct ggcaagaaac 220020
 caggggtaat atttttgcaa gtgtttgtctg aagaatattc ccacatttga 220080
 atcatcctca ggggtcctca tcttgtttta ctttcaaagg tagacagggc ataacattaa 220140
 ccccaactgg gaaaaggaaa atgcctcact gtaattctcc tccagggaac aggaataaag 220200
 ggattacata tgcctgcata atgaagaatt tcctcaccca gacaagacaa aagacttcat 220260
 tattttttcac cagacacttg aagtcctgtg cctcccagtt gcagaagctg agggaggcag 220320
 ccagtttttt atatgaagcc actagatgga gttcctaaga aactggcctt ctagtacttg 220380
 ccattgtgaa aagatctagg gaagatgtta aaaaccttgg tacctgacac taccagtcct 220440
 ttctcttaag aaaagtgaga ctgtccctga agatcacagt attcttccag taaaatttagc 220500
 ctgtccttta ctctgggaag caaataaattg agcattttct ttctgaaaat gcacctcctt 220560
 tgtccttaca tgagaccaa aggcactctca atactaatga aaaatgtaaa gtggcaaat 220620
 ataacaaaat ggaatattca agttcttctc cttctgggta ggtctgttac ttcgtaaact 220680
 taaggatgta tgcactctcat ttcttatata aaatatttga agtctcaaat tttgtagtta 220740
 ctactattta cgttttgcaa gtattagatt cctgtaagag gaggtatag gagactatg 220800
 tcccagcaac agatctgac tccagttaaa gaaattgaac taagttcacc tgctacagcc 220860
 tgctctgctc cctctgggtc ttcaggcttc cctaataagct ttcacataca acatagagaa 220920
 agangtatga agtttttagt cgtaagaagc aatgtctttt ttttttcatt actgtctctt 220980
 ctagtgtagg tatgcagccc attattcttg agtggcatca tattctaact tgagataaaa 221040
 ttaagattat ttaacttgcc cctttaaaag tataatttaa acacatgctg ttttgtccgt 221100
 gattattttc atgtttcaaa agcaggggagt gatcagaaaa gaaaatattt gatcttcacg 221160
 gaattttcaag gttcattcat tccacaaaata tttattgagc acctactgtg gataagagct 221220
 gagaaaataat catgaccaat tttaaagaaa accctactct cttagagctc tttggagcat 221280
 ggcatatgtg acgactaaa agaacaaaaga aaatggcatg gagagaaacga ggttctctct 221340
 ggtaaaagatg agaccagaaa gggagggttag agggacacta aacggggctg tgcaagccat 221400
 gctgctcgtt aggcttagtc tttttaaggc agtgataata accgcattcg tgatctattg 221460
 ctgcaggaca aattactcca aaacttaagt gatttaaaaa acacgttttt catctcacag 221520
 ttttagtcag gaatctgggc atcccttagt catgtctctc tccaagctgc atgcatttgg 221580
 acttgaatgg gaagagcccc actcaatcgc atgggtgtta gtggattcag ttcctcgtga 221640
 gctgtgatat gaaggcctca gttccatccg gtttctgtga ttcctcccca agtggaaact 221700
 tccgtagagc acctcacaat atgcagcttg cttcaccagg gcaagcaagc aagatgggaa 221760
 gagcaagtca gcgagagaga gagagagaga atgaatatgc tatgtagagt 221820
 gttataacat ccaccatgac gcgggaaaag atacaacagg aaataatagc aactaaaatt 221880
 caaagaaaagc gttgatgttt ccaaaggcact gtcacattca taatcatctt tacttcttcc 221940
 agtccctgt gaagtcagaa ggaaggcat tattgttctc tgcattttac atatgggaaa 222000
 tggaggctta gagaaagcac atcacctgtc taaggctcca cagcttataa aagctgaagt 222060
 cagaagtgtg tgcctttaaa gcttatgttt tctcaactca tcttctccat taggcttcca 222120
 gacaaaaggca gaactttcca tcagcagctg cactgcaggg tgcacttctt tgaacctga 222180
 gaggttagca agttaggat ggggtcacac agtccccacg cacctgccgc taccctccct 222240
 actcaccct cccaccttt tcacttactc attctgttca tcaggcagca tgagggccag 222300
 aaactgaact tcctaggaat gggaggctga gtgataaagt ggtccctaata caactcacag 222360
 cctagtaagg ggaataacta atgataacaa aatgccatga gcgttaacaa agcttgggtta 222420
 ataacatact gtaggacat ggagtataaa acaagtcttt ttttgtgctt tcacataggt 222480
 gaaatattca tttctcattt catgttactt ttcagagccc atttatatca gtctgtcatt 222540

ES 2 271 092 T3

5
 10
 15
 20
 25
 30
 35
 40
 45
 50
 55
 60
 65

```

atactgtgca tgttaaaaca ctatttggta tttatttcat ggtttgcctt actgtatatg 222600
cttatctata gtaacattgn tattcccttt aaaaaataat aaagcaaact tttaccatgc 222660
ttttgtatga acctggggcac attggattag agtatatgta acctccttagc aggtctgatt 222720
gtgtccaact gaagtccata gctttctgcc aacactgtta ttttccaaaa tagcaaaatt 222780
tcttacatga ccaacaaatg tgacaatggc ttaggctgta caaggctgtt tcattatgca 222840
gaaacgtcct atcatgggaa tctttctata cctgtctcaa tntccagggt agctctaggc 222900
caaagggtca taaaacttcc ttcccattgc cttgctcctg catccaccgt ccaacctcag 222960
gtttataact tccatctgcg gtccttccctc cattcaccag gaacctgtgt gtggccagtgt 223020
gtctccttgt ataatggaat aagatttttct agaattgttct cggttagacat atttatatat 223080
ctgtagaaaa gtctcttcac gctgttttagt aaatgaaaaa tagtgattat ttagggtttg 223140
tttccaagaa tacatttaca ttcagtgaat ttgtatgatt ttccatagat attcaccata 223200
atttatctca tccacattaa aagcatttttt aaggacttaa atatgacata tttagtaagt 223260
tcttatataa tgtattacta tataataagt tcttatatga tgtattatat aagttcttct 223320
gttaatatatgt tcttatattt aaattccttaa attatgcttct attatacatg tatcataaga 223380
gctgctatttt taagtgcgct aagcacatac aaatcttttt ctcaaagatc ttaattctca 223440
gacagatggt aatcatattc aaagccattc aagaaatgca ttttaagaaa cataaatgtg 223500
aaaataatat gtaaaaaatg gcagaattgt gtgttcagggt gttgagcaaa tagagtatca 223560
ctgtagattgc atcatataaa atcattgcat ttccaacctg tgagctatct tcagagcaa 223620
ggcttttctct tcattttacc aatgaggaag ttaggccccaa agatcactca actacttcat 223680
aacagtgtaa cttctggcac acaggtctttt taatcccttg tgttattttc ttgccactta 223740
tcaactatct caagggaatt cctgtcattc ccagttggag aaaattttct ggagaataat 223800
ttttttttct ccaaaaaatc attcacacca caggtgttag gccacccaat tctcttcact 223860
cattagcaan atcagaaatt aacacaagtc cagttattgt ccaaaaaagaa catgttttta 223920
aaagtcttcg tgggtttaaac aagtggtaac tgggtaccag taagctgcaa gcttcagatt 223980
gaggtttctg taagtaataa ttccaaaaaac tgtgtgcttt tttttttttt ttgaactgtg 224040
gttttaaaaa caccacataa catttaccat ctaaaaccatt tctaagtgtt cagttcagtc 224100
gtgttaagta tgtttacatt gttgtgcata attccagctt tagttacttc tctttatgac 224160
tcatttttgc ttgtaagctt atgttttctc atcttctcaa agttctacaa matctccttg 224220
gaacatatat ttaatcattc caggagcctg agtggacaaa tccttcccaa aggggggtta 224280
ttagaaacct tgtttaaatt caaaaccgac atcatgattg cctgtgtgta ttaacttggg 224340
ttcatgtctg tcttaagac atacctgaga ctgggcaatt tacgnaagaa agaggttttag 224400
tgaacttaca gttccacgtg gctggagagg cctcacaaac atagcagacg gtgaaaggca 224460
cgtcttatat ggcagcagac aagagaagag agcttgtaga gggaaactcc ccttttttaa 224520
accatcagat ctatagagac taattcacaa tcacagagaa agcacaaagaa agacctgcc 224580
ccatgatcca attacctccc accgggtccc tcccacgaca catgggaatt caagatgaga 224640
tttgggtggg gacaaagcca aaccatatca ctgtgggtag gctggccttc tgcttatggt 224700
gtcctgatag aagctctacc attatttttt gaaaggaggg agggaggcaga agggaggagg 224760
gcaagagggg agctttctgt ttattttcca gcccttcttc atagctgtga tacttctgt 224820
ttgtaagtgt tcttgacgca gagcgtaaag ttcattttcc tttataatta tacgttattt 224880
gctgtatttt gtgttttcat tnnngtgttg nccnttttaa ataataaaag taatgagcac 224940
ttatgtgtta tcatctcaa gtgtacaaac catgcattta tcttgggctc cttttttttt 225000
cctagagctt gaccccgaca gcgcattgct agcggatcat ttgaggggca gcccgcaaa 225060
gagaggtcaa tccctagcgt gcacgcagc atccgccaa agcgcaaggta aatacttggg 225120
aagacagggc ttcagagact ctaaaaaagg ggggtttttac aggaatggt cgctgtacac 225180
agtcacggct gtcagccctg gctgccagac aggcattggct gaggaatcgc gttctatttg 225240
ctgtttgtta caataatgaa acacctaate agatccaaag attcaaaaaa atctctactt 225300
cacaatcctt ttcccttagag atggccaaat tctcaccttt aagatcagaa ggaaaaattc 225360
tgaattttgt tagatgggat caaagacatt tggagagagt ataagcttct gctatgaaaa 225420
gaaatcatag gcatttgtgg cgttgtagca gaaaaagtgt tttattttga ttttatcatg 225480
gtcactgctt gaaaggccag tttgatcttg agatgtatta accagtgcct gtggtgtgtt 225540
taggtcacta agacatggat caaacagcca gaggtcagc aggggaaaaat ctcttgaac 225600
tttgactcaa gatgtaagt tttaagcaatg ctttggattt cagaaacgtg attatgaaaa 225660
tgtattttaa tgaactgctta gacaatgccc agtgtcttcc tgctgcattc ccatgtctcc 225720
ttaagacttc ataccagagg gaatcaggaa actcaggata tgaattatgt agccaagtat 225780
cagaagtaac tgttaacagc agaaaactcc agtcatccca cacaagcac atgtcttagt 225840
taaaatagta acacaaaagt gtcattatca gttggatttg acttgaatt aaagacattt 225900
taagcattgt atataggatt gatttgcatt attgactttg aatattcact gagaatcgaa 225960
tattctagaa tctagatcaa gggctctataa tttcagggct ttatatatta ggaagtgaaa 226020
ttttatttct agaagaattt tcctgtcaag gactacctag tatttcccag gaaagctttt 226080
tgcttttaga ctctaagtca tggattttatt tactggctct ataaatagtt atcaagtgtt 226140
tgctctgtgc tgggtttctgt ttttaaggaa gaggagcagt ggggtaataa gatagactca 226200
gtgcctcctt ggagctttaa ttttagaata ggagacagat aataagttca taaaaatata 226260
atggaatttc tggagtgttt tctttttatt ttccatcac tcttcattac tgtgacagat 226320

```

ES 2 271 092 T3

```

ttgctttata atgtaaaagta aaatgaagtc atgtaaaata atcaaaagggtg gggattttggg 226380
ggcaggggaat tttagatcacg atgggttatcg tagacccatc tgcatttatcc cggagaccca 226440
aatgaaatga aggagacatg aaaaaaatgc agagaagcca agcgttatat ggcccagcag 226500
ctataccatg caaagattac aatgaaagggt ttggggaatg catattaaat aaccgtaatt 226560
atgaagccct ggtaaaaaaga caggcgtag gttgaatctg gatgaactgg cttaaaaagt 226620
aatcttgaat gttcagagcc aaggatggca cttgagaaag gagggctagc aagagaaagt 226680
tagcaaaagcc ttgggggttat ttcgtttttc tctttttcac cacttatctc ttattttctg 226740
agctttttgga gtgcttgcac actacatctg ctttcattct gtagaaactg ctgttttagt 226800
ccaagtcacat gggtttttatt aagtgttccg ggcaaaatca agagcgagaa gttggcaatg 226860
agaacacctg atatcaccaa taccctatag acatgggttnc tagttggcac agagnctctg 226920
tttaccacca tgatttttaa tatccatagc tctatctgat tggctaccat attgttgaca 226980
tagaattgccc atcaaatcca acatattggc tgcgcaactt agaactgcag agtcagccat 227040
attgcacgga gaacattttc aggtgaaaag tcaaaagaggc aacctcatt caaagcgcct 227100
tcaatatggt tcaaccgaaa tgtacaacct acttaagaat caaatcagaa catgtctttg 227160
aaaaaatggt gtttaaacat agacagcaaa ggccctattt gaatagtctc agtgccggag 227220
cttacttctt cnnagagact tccctacccta tttttcatgt agaagtatag taaaatccat 227280
ctccccacct ccccatagca aaatgccatg gggttctgat catttccaat aaattcttat 227340
aatgtctttt ctcccacaaa ggggagattt aaattagaga attttaactt tttcacttat 227400
tcggaatgat agcangacac agataattaa gtctaaggag tgccttctgt aaaatctact 227460
gagttactgg aactctggcc ttgcaccttc catgggggtc atctaaaggg ctgtgaaggg 227520
cctgcacggc ctgctcacct ctcttagctt taccacactt ggcatcctgg ctattccaca 227580
tgtagacacg ccaggcctgc tcctagctctt ggaagaacac atttctgtag tccctaccaca 227640
gcctgcaccc tcacctcctt ctagtcttct ctaaatagc accttcatat tgaggcttac 227700
cctgacctgt tcattttaaa tcataatctt ctagcctgtc tgtgtctctc tatgccttct 227760
acctattgtg atttttttaa aaatcggatc actaagcatc ctcttacata cttattttga 227820
attatttttt atctgtctcc cactgactag aacatcctat gagaataagg atgttttgtt 227880
tccactgttc atctcctgca cactagaata gtgcctggca cataatagga tttcaattca 227940
tatgtgtgta atgaattact ttttagagga acaaatactc ttgctatgaa gactgtggcc 228000
attaatatat tgcatttaat cgtatacata ttttatatac tgtaaattta tatatttaat 228060
gtaagtatat acatttactt taaattacat atttaattga aatatatacc tttagtataa 228120
atatacataa taacttctca tatagatata tatttattgt aaatatatac 228180
ttagtataaa tatacatatt taatgtaaat atatacattt agtgtaataa tacatatttg 228240
ttgtaaatat atacatttag tataaatata cattgttaaa tatacattta atataaatat 228300
ataaatatat gtttaacagt aaatatatgt aattaatatt tatactttat attgagggag 228360
atatattgtt taagtctttt atatttttga ttcaaaacc tctgtttta 228420
acacaccccc tggttaattta ntttcttagc attccaatac agtgagatat agaaatgcac 228480
aaagagaaga cagtgaataa aagatgattc aggaaaaaaa ggagcaagca gagatgaaaa 228540
ggtagcaggt gctgcaggtt cccatggctc tcatcggga atggcaaat ttcccttagc 228600
ctcatctctc ctataatttc aaagtgcag aagaggaact cagagagaac 228660
cacccatact tgcataagcc actgttcatt gtgcggcgag aacacaggtt cagaaacttt 228720
tgccgggttg tgggtccgagc acgcttcaac gcgtaagtac acttcatttc agccaggtgt 228780
ttggcctgag ccatgcaaac agcaggggtg ttgtcatatg aagaagaagg aacgtgtaat 228840
cctaattggg tcacaaaaata aactgcggac taattaatca tgctgtctct ctttgcctaa 228900
cacccgacca ggtggaaaac aaaggtcgca agtagttaac atttatagaa aactcgcatt 228960
gataaaacac aaaaacagcca ttttcgtttg tgcattttta cagtctctct atacacttat 229020
atcggcatta ttaactccat attttatttt ggaagtactg agacaaaagg agactaaagg 229080
acatggtgaa aggaagggtc ttgtccatgt cttccatgag gcttgtagtt cctttgtggt 229140
aaaaatacct caatttgttt tttggagaat aacgtaaagt tgattagtgc tttcattacc 229200
aactgttata agaaggaaac ccactgttca ctgtctctac cctaccaaca tggagaaat 229260
gtgtaagaag ccgttaagtag agtgacattt gaagacacta gttgtggaca cctaagccaa 229320
gtttgcaggg caacaatgg atgaaatgga tttttgtcaa gcatacctgt atnagtccat 229380
tttcatgcca ctgataaaga catacctgag actgggtaat ttataaagaa aaagagattt 229440
attggattca cagttccaag tggctgggga ngcctttcaa tcatggtgga aggcaaaagg 229500
cacatcttac atggcagcag acaagagagg gaagtgaag cagaaacccc tcataaaatc 229560
accagatctc ttgagactta ttcaccacca caagaacagt atgggggaac cgccccatg 229620
attcaattat ctctgactgg gtccctccta caacatgtgg gaattatggg agctaccatt 229680
caagatgaga tttgggtagg gacgcagagc caaaccttat cagtaccttt aagtaaatat 229740
tctgaagaca ttaagagtca tggaggaaat gaaaaaactt tccatgttcc cattatgtag 229800
ttggagtgtc cctgtatgca tcgtttaagt aaattgattt ctttgttatt aattagttagc 229860
atatgataat cactatctgt tatggactga attgttcccc ctccacaaaa tccataggtt 229920
agagtccaaa ccctcagaac ctcagaatgt gactgtattt ggaaatagga atttttaaca 229980
ggttaattaa aatgagatca ttaggttggg ccctaactca atatgattgg ttcccttaag 230040
agaacatttg gacacagaca tatacagaga gaagaccttg cgaagacacg tagggagaag 230100

```

ES 2 271 092 T3

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

```

acggctctcc acaagtcaag gagacagccc tggaaacaggg ttttccctca cagccctcag 230160
aaagaaccaa ctcagctggc atcttgatct tggatttcca gcctccaaaa ctatgagaaa 230220
ataaacttat gttgcttgag ccatccagtc ttaagcacca gtgggtacttt gttacagcag 230280
ctcgagggaaa ctaatacaca ctattataac atttcaggga tgggaagagac ctcagggacc 230340
actcggtgtc atttgtgtgc cccctccttc aacagaggag gacatttaag cgtgcagaag 230400
ttgagggctt tgctcagggg cccagctact acctggctct ctcttgattg ccagactatt 230460
gttctttctg ctggtctata aagactttca caatttaaa caactgagtc acaattatta 230520
aaatcttcca tgagttttca aagtaaagga agaaaatgcc attttgagga ttgatttgat 230580
cagttcttga agtacgtttt ttttatcttg aattatcctg ttggctgcct gtaccttaac 230640
atctcatggg taatttccca ctctacttag tgtgatgtaa tttccctttt atcagcaagg 230700
cagctgatgt tgaatacaat tgatgaagac tctgttgtaa ttggggacac atacacaaag 230760
actgtaagca atctcattga cagtgtcac aggttctctg aaagtagaaa caacgactct 230820
cccttccaag aaatttcaaa taatcattc taccacatca cagttaaatg cagggggaag 230880
aagtctattt aaattatgga gtatttaatt aaataatctt gaataactaa cattcttgaa 230940
ctattaaggc aaagatttca atgagtggtt tttaaatgaa agtcaaaact taattttgta 231000
ctacccatgt cagaaaattc tgaacaaagt cacaaagtct aaaatcaagt attttgagaa 231060
atataaaaag ttttttcat aagcatcaac tgcaaatctt ttggattttt tcttccaaac 231120
atgttctctg acctccagag ttacctacag ttaacatatt ttataatgga cattgtagag 231180
aggctgtaaa agagatttta ggtagatgag atgtttgcaa atatgatttt tagcaagtta 231240
aaacatgctt gctttgttgc agaattttat atatgtgttc tcttacagat ctaaaacaga 231300
ccctgtcaca ggagctgtga aaaatacaaa gtaccatcaa ctttagtaag catcaccaac 231360
ttcattttcc atgcacattt aaagttttca tgtactattt tatgctgcat acaacgatta 231420
aaatctctct ttttttctt gctatatagt gctatgaaat agatgattgg ggaatgatgt 231480
ttttaaaata ccagtcattg tgatagagcc acagaagcca tcatctctaa ctcttagaag 231540
ccttccctgg aacctttatg tttctcaatt ttgtttggtc tttggcagtg atttgctggg 231600
attggctact tacctggact gggctcatgt catcgtaacc atctgctctt gcatttccat 231660
gatgtttgag tccccgtttc gaagagtcac gcatgcacct actttgcagg taccgcttac 231720
cgctgcaaaa tctcagctta caactaggag gtaaaatact gacctgctgt ttttccgttc 231780
attgtaacca aactgccttt tgcccgtttc agattgctga gtatgtgttt gtgatattca 231840
tgagcattga gcttaatctg aagattatgg cagatggctt atttttcact ccaactgctg 231900
tcatcaggga cttcgggtgga gtaatggaca ttttatata tcttgtaagt ctttgcctat 231960
tgcttaaatg aaaaatgtaa tgggttttga aaatctctg catttcttgg tataagcgca 232020
agagttatga gttacagagg cttagattcc ctaaccgaat tcttaaatgg actctcaggt 232080
agttcattat atgcaaaataa gggccatgca tgtaaaatct aaattaagag catcataaat 232140
atctatggat agttatattg ttcaaataca ctaatcacia ttttatgtat gaatgagaca 232200
tacatttaata aggtctaaca tggcaaatct agtttgcatc ccacaaacct tatggcttct 232260
atactaaaaa aaaaagttt gcctcatata aacctgtta ttgattatga gcccttattt 232320
gctgaaagca aactaaagtg attgtgattg tatctctctc ctgattccat tgcataaaat 232380
acctggctat agcagttgcc cattcaactg tctagtaaaa ctcgctggaa aacctagaa 232440
atgggctcag agaatttttt attttctctg tatgtccaag gaggcatgaa atcaatgtct 232500
ttgcagagac aacaaggaga attgtgatca ttaacaagta gcatgttgca ggtcattaat 232560
aaaatagcag taaccttgat aaaaggaatt ccagccagat cgacatcagt ggagcctcca 232620
gagtagtaag ttaaaagaag aggcagaacg cactggtgta cacacacaca cacacacggt 232680
gtggacaccc ccatttcttt cctgcataca catgatgact ttcctttgag gtacctagca 232740
agtctagatg aggtttgttg tttaaagtta acagatggca cgtacaacca gtgagtggaa 232800
tctctgctaa atgaaaagtt gtggccagtc ggctgtcaga aaatgtaaat agtaggggat 232860
gaattgtata aattccagag atcattttgt cccctttagg tgagcttgat atttctttgt 232920
tggtatgctc aaaatgtacc tgctgaatcg ggagctcagc ttctaattgtt ccttcgggtgc 232980
ctgagacctc tgcgcatatt caaactggty cccagatga ggaaagttgt tgcagaactt 233040
ttcagcggct tcaaggaaat ttttttggtg tgtgagaatt atcctttgat tccagttcac 233100
agtagtccac ctctaattga gctaattgag gaaaagttag tcttgcttat tgaggtcaat 233160
tcaatagttt tggttattgc cagagggtaa tggaggcact aacaaaacac aatgcacctt 233220
caaacacttt actcatgggc acttctggcg tatgagttta ttttaattcac ctaaagagaa 233280
gcactctgag atttgaaaga gttcntatct gctgactctt tccgtactaa cctcttgact 233340
ctaattctta ctctgggttt tagtttccct ccatctgaaa atgaaggata agaagattca 233400
acacnctgta ctccacaaat gggattagga attcatgctt ttgggctcct aatctcattc 233460
tgtgtgttcc tgaataataa tagcacagaa tttgtcttta gatctcagga gntgttaaca 233520
taaaacaact ttaaaaatgc aacatataag tataaccac ttcaattaac ttcagcatta 233580
cagtaatgag tgattacaaa ngatgattga gggggcaaaa cgtactttnt agctgggcaa 233640
acatttgattt agggctcttct gaaaacaagg tcagagataa aacaacaaga aagaggctca 233700
ttgttcacaa tctgttacag aaagatcttt gccttacaaa acagtgatca aaagtttttt 233760
ttattattga tgaggctctgc ttgtgcatga gaagcatgaa ttaatttaca taggcttggt 233820
ttgtatcttg ctttctagag acttacctgt gatgagaaaa cagctgtagt tgtagttgac 233880

```

ES 2 271 092 T3

```

acaatgtat tttaaagata gattgtgatg ttactagagg tatatatatc attactgact 233940
ttttttttct ttttttttga gacagaatct tgctctgtcg cccaggctgg agtgcaatgg 234000
cgcaatctca gctcactgca acttccacct actgggttca agagattctc atgcctcagc 234060
5 ctcccaagta gctgagacta cacgcctgtg ccaccactcc cagttaattt tttgtatttt 234120
agtagacacg gggtcgcacc atgtttacca tgctgccctt gaactcctga cctcaggaga 234180
tccaccacc tccagctccc agttgctgaa tttctttttt aagatggggt taaaaattct 234240
tgttttcttt atgcaaaagcc ataaaaacagt gactcttcac acagctggaa ttaaaagaaa 234300
atatcacctg actgctaattg tatatgaatc ttttgatcaa taataaattt tagaggagaa 234360
10 tttgtgacct tccctaattgg tggtcagtgt gatttttagta cacttaggta tatgtttagg 234420
ttattcaacc agtcaggttc acttggtcca ttttttgccc tctgccactc gtctctgctg 234480
agaccaaaaga agtcagccag cagagggagc atgagttaat taacagattt gctcttcagg 234540
actgaattct tcccttccct ctatgcatag aacattctcc taacgcacac ctccacagtt 234600
acaagacagc taagccactg tcccgctcat ttgtgctctg ctaataaaaa tatgaatcca 234660
ggccggggcac agtggctcac gcctgtaatc ccagcacttt gagaggccca ggccgggtgga 234720
15 ttgcctgagg tcaggagttc aagaccagcc tgaccaatat gatgaacccc tgtctctact 234780
aaaaatacaa aaattagctg ggcttggtgg cgtgtgcctg tagtcccagc tactcgggag 234840
gctgagcgag tagcaattgct tgaacccagg aggtggagggt tgcagtgagc tgagattgca 234900
ccattgcact ccaccctggg ggacagagtg gcactccatc tcaaaaaaaa aaaaaaaa 234960
agaaaaaaa ataaatatat atatgtccat ttgggaaaaa atagacaaaa tataattact 235020
20 taacattttt tttcttttgt tccattaaat aaaaaagatc aaggtgttga ttttaaagtc 235080
agaaaagtcc aagccatata aaaaatacct tatccattt tcttacctga aattcatgtt 235140
tccatttaaa aaattcaaa cttgttaatt ttctcctttt gaccttccag taaggctaatt 235200
tgtgtgacct atgggtggaga agttaaaaa tatcatcaaa aacctatgat ttttatacaa 235260
tgttatctta gaagtcctat ttatgtcact gttaaacca aacctaatat ttagtcttta 235320
acaagagatt taacatttca tcaatttctt tcagggtctc attcttttgc tgacattaat 235380
25 gctcgttttt gcaagctttg gagttcagct ttttgctgga aaactggcca agtgcaatga 235440
tcccaacatt attagaaggg taagatgtat ctttctgtct tttgaaataa aaattaaggg 235500
ccaagtgtgg tggcatgtgc ctacaatcct agcactttgg aatgccaaag agggaaaggt 235560
acttgaactc aggaggtcaa ggttgctgag agctatgac tcaccactgt actccaacct 235620
gggcaacaga gcgagagccc tgtccctaaa aagaaaacaa aataataata aggtgtttac 235680
actcccttgg caagcatgtg gtaccagtgg ctgacaagcc tagtttaaga actccctata 235740
30 aaaccttaag aattctcttc ccacaaaccc ctttttgctt aagcatgtga tatgtctctt 235800
ctggctagaa aggttaataa gatgaaaagc acacctcaga gaatgtcact cttccctcct 235860
attccagtggt caaccactg ttgacaactt gagygtgggt acccaagatt ccagctgttt 235920
acagctgtaa gctttggata ctttcccttg aggtcttagc taacttgatc cttcctttgt 235980
tgtcacataa gactcatatc agcaaacagc cccatgcmaa aatgtccaag aagcacggtt 236040
35 tggttctcac cactttttat tgcctcccca ctctcagctt tctcccccatt agaaangcca 236100
gtgcctttac attagctcta gctgccaga atctccctct ttatgacaac caacaaggac 236160
ctccacaag agccaaactt gaatacttgc actacggcgt tcttttctct tcttccagtc 236220
40 attggttata aggtgaaggct agctgctgta acaagcccaa tatttcggta gcttcacata 236280
atgaaatgta tatattgcat cttggatcag ttgcaatata tacatttgca atatatcac 236340
tatatacagc tctcctccaa atgaccactc agggactcac atgccttcta tccatgccc 236400
ccaccctttg ccatgtcttc agagccttct tcaatgagct ggagataaca gtggagagcc 236460
45 atctccaact gagtgggctg tgggagaatc tgctccaccc acattcctct gtaaaagaca 236520
gagatactgc aaggggggct ggaatttagt tgtgtgctcc agaaaaataa aaggggggaca 236580
cagtttggtt aataattaga caatttttgt aatatcataa agtgtcccat tctcttagga 236640
50 ttcttatggt acaagtaaat tcataaagta aaccaaccac tgctgatgta taaactagaa 236700
aagcattttc tctttgatcc caataaaatg atgcctcagt tcctaaatgt atattctcaa 236760
aaggcctact agaccctgaac tacattattt atttctagca aatatggcta tctagtatag 236820
45 attttaaatg atacaaattg ttctctaatt gtgacaaat acaggtaaca tctttgttca 236880
gccaaaatac attataaatt atatttaata tgagaatttg aaacaaagcc cagactggga 236940
gagacatttc aagagctttg atacacctga gaagacagaa caaggaatgt ggcctgagc 237000
tcatgctgta tcaaattagc tgataaagaa agtgacagag acctgacgca ttcacccaca 237060
55 agcttggtg aggaagaag agtgattttt gatccacact gaacagaggc cagaagata 237120
ataacacttc aggatgaagc ctgctaggaa tcttgatga ctcagtatat taacagtggc 237180
ctggccgggc gcggtggctc acgcctgtaa tcccagcact ttgggaggcc gagggggg 237240
gatcacgagg tcaggagatc gagaccatcc tggctaacaa ggtgaaaccc cgtctctact 237300
60 aaaaatacaa aaaaaatta gccggcgcta gtggcgggcg cctgtagtcc cagctacttg 237360
ggaggctgag gcaagagaat ggcgtgaacc cgggagggcg agcttgagc gagccgagat 237420
cccgcactg cactccagcc tggcgagacag agcgagactc cgtctcanaa nnaaaannnn 237480
55 nnaaaannnn anaannanna aaannnnana aaaccggggg ccctaaaaac gggggggggtt 237540
tacttttttc ccttatcccc ccccaaagtt aaaaattggg ggggaccgcc ccccccaaaa 237600
aaccctaacc cccattttta ggggcctttt ttcctttttc caaaaacag ggggttttgc 237660

caagggttaa atggaaaccc taagggaacc tccccttttt aaaagccccc cccccaacc 237720
aaaaccttta aaaaaaattt ggccggggaa aacgggggtt aaattttttt gtttttcaaa 237780
aaccaaaaaa aaaggccggg ggccggggcc aaaaaccctt taaagaaagg ggaccccgct 237840
65 taaatttttt ttgaaaaact tccccctttt tttctaaaaa aaaaaataat tccaaaaaag 237900
gggggaaagg taatcccccc acttttaaaa cccccctt tcctttaaaa aaaaaaaaaa 237960
t 237961

```

ES 2 271 092 T3

<210> 3
 <211> 47841
 <212> DNA
 5 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <221> exón
 10 <222> 3895..4001
 <223> exón 28
 <220>
 <221> exón
 15 <222> 9611..9731
 <223> exón 29
 <220>
 <221> exón
 20 <222> 9816..9914
 <223> exón 30
 <220>
 25 <221> exón
 <222> 15776..15869
 <223> exón 31
 <220>
 30 <221> exón
 <222> 16382..16488
 <223> exón 32
 <220>
 35 <221> exón
 <222> 16697..16771
 <223> exón 33
 40 <220>
 <221> exón
 <222> 17934..18053
 <223> exón 34
 45 <220>
 <221> exón
 <222> 23644..23712
 50 <223> exón 35
 <220>
 <221> exón
 <222> 24928..25076
 55 <223> exón 36
 <220>
 <221> exón
 60 <222> 25913..26006
 <223> exón 37
 <220>
 <221> exón
 65 <222> 30767..30899
 <223> exón 38

ES 2 271 092 T3

<220>
 <221> exón
 <222> 31561..31676
 5 <223> exón 39
 <220>
 <221> exón
 10 <222> 34044..34201
 <223> exón 40
 <220>
 <221> exón
 15 <222> 37493..37643
 <223> exón 41
 <220>
 <221> exón
 20 <222> 39652..39801
 <223> exón 42
 <220>
 25 <221> exón
 <222> 41563..41680
 <223> exón 43
 <220>
 30 <221> exón
 <222> 44131..45841
 <223> exón 44
 <220>
 35 <221> característica misc
 <222> 45842..47841
 <223> región reguladora en 3'
 40 <220>
 <221> alelo
 <222> 31646
 <223> 99-79310-29: base polimórfica A o C
 45 <220>
 <221> alelo
 <222> 42373
 50 <223> 99-79311-50: base polimórfica G o C
 <220>
 <221> unión_cebador
 <222> 31618..31635
 55 <223> 99-79310.pu
 <220>
 <221> unión_cebador
 60 <222> 32080..32100
 <223> 99-79310.complementario de rp
 <220>
 <221> unión_cebador
 65 <222> 42324..42344
 <223> 99-79311.pu

ES 2 271 092 T3

<220>
 <221> unión_cebador
 <222> 42704..42723
 5 <223> 99-79311.complementario de rp
 <220>
 <221> unión_cebador
 10 <222> 31627..31645
 <223> 99-79310-29.mis
 <220>
 <221> unión_cebador
 15 <222> 31647..31665
 <223> 99-79310-29.complementario de mis
 <220>
 <221> unión_cebador
 20 <222> 42354..42372
 <223> 99-79311-50.mis
 <220>
 <221> unión_cebador
 25 <222> 42374..42392
 <223> 99-79311-50.complementario de mis
 <220>
 30 <221> unión_misc
 <222> 31634..31658
 <223> 99-79310-29.sonda
 <220>
 35 <221> unión_misc
 <222> 42361..42385
 <223> 99-79311-50.sonda
 40 <220>
 <221> característica_misc
 <222> 26, 350..351, 353, 356..357, 366..367, 371, 383, 389, 392, 396, 399..400 404, 411..412, 416, 421..422, 435..438,
 440, 442, 446..447, 450, 455 457..459, 461, 463..465, 1805, 2175, 2328, 2402, 2561, 4048, 4661, 6659 6799,
 45 7509, 7534, 8289..8290, 8294, 10663, 10789, 11052, 12083, 12904 13017, 13916, 14116..14117, 14680,
 14971..14974, 17093, 18448, 18669 18767, 18808..18811, 18838, 18971, 18985, 20714, 20903, 21355..21367
 22901, 24093, 24112..24115, 24171..24173, 24868..24869, 25356, 25797 25879, 26062, 26234, 26824, 27130,
 27254, 27437, 28745, 28781, 29278, 29475 29526..29528, 29617, 31152, 31790..31791, 31796, 32011, 32262..
 32273 32296, 32415, 33656, 33719, 39140, 39142, 39343, 39944, 40945..40947 41948, 42166..42169, 43371..
 50 43372 46709..46720
 <223> n=a, g, c o t
 <400> 3
 55 gtttaaaaaa aaggtgaagg cctctnggct ttttttcccc aaattttttt gggaaaaaaa 60
 agattttttt ttcccccttc cacaagggcc caaaaaataa aaacccttcg ggagaaaccc 120
 gcttggggaat tttggggggc tccgggaatt taccaagggc ccggcccggg ggggggggtt 180
 ccccccttta ttcccccccc ttttgggggc caagggggggg ggtttccagg gttgggggat 240
 taaccccttt ttggttaaaa aggggaaacc cccttttttt ttaaaaaaca aaaaaaaaaa 300
 aaccgggggg gtgggggggg gccccttttt ccccttccct tgggggggtn ngncannaaa 360
 60 aaggggntaa ncccgggggg ggnnggttnc antaanccnn aatncccccc nngccnccca 420
 nncggggggg aaaaannnnan ancccnntcn cccanannna nannnnaaaa aaaaaaaaaa 480
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa agtggcctaa gagcatggtg attttacatt atccactcat 540
 acccagccaa agctgaagat tgatggtgac agcagccagc agatgagcat agacacagat 600
 ttcgatgatgc atttatcctg tttcctagag cagtggaggtc tgtgcgaggc tcagatggaa 660
 65

ES 2 271 092 T3

	agcctaagga	gactcagcca	tcatagagag	caccagcacc	aagcagaacg	attgaaaaga	720
	aattggcacg	gtgagacggg	gcttgagctc	ttttgtcttc	tcaaatccaa	acataagagg	780
	ccgagggcga	ggccaaaaac	gccatgagtg	aagggtgacgt	cggctgaagt	tctgttgagg	840
5	aacttcagcc	catcttacta	aaagaagaga	taaataccaa	gaaaggggga	aagtagatac	900
	accaacattt	agatcacaca	cagttcctgt	taaagacaac	gaagcttcag	ttgctgcgcc	960
	catagtttcc	agttgggaag	atgtgttttc	ttgtatgagg	ctgagcactt	cctccctctg	1020
	ctcctttgtt	tggtgtctta	aaactcaaca	gatgtcatga	gatcaatata	gatatagata	1080
	tggagcctag	gactttgtca	ccaaaaccct	gtaaacaaac	gctgaggata	ccttttgaca	1140
10	aatagtcat	aaatgtcagt	tggtgtccaa	gcactgtgat	aggtgaaatg	aaatgtggaa	1200
	gggaaacatt	aggaggtcct	tgcttctgtt	ttgtggcatt	ttctgtccaa	tcagaacgtg	1260
	tttcatgttc	aagcaacagt	aatataaagt	cagcagtttt	caaaagccta	tgagaagcag	1320
	aaataacatg	taatctatga	tgtcagcatg	ggaaattgtg	cttccaactg	ggagtactgt	1380
	actggggagg	cttcaggggg	gaggtgggat	ttgagatgag	caggaaagga	ccttccaagg	1440
	agagcaagca	gtgaagaagg	acacggagca	tacaaagaag	ggtcacagtg	tagaggcagg	1500
15	gaccgaacaa	ggaggaagga	gcatgggctt	cgaaatcaca	gcttctgaga	ttggaatcct	1560
	acttcaggag	aggtgatggc	ctggctctgt	cacttaatcc	ttctgggaac	tattttctgcc	1620
	ttgaatgctt	ctcacacaat	gatattatga	agattagatt	accttgttta	tgcgaggtac	1680
	ctaactatgc	aatgaaggat	agtggttagt	tcattcccgc	ccatgtagga	aaaaactgaa	1740
	gaacaaggcc	agaaatgtaa	gttagggaga	gatcctcaag	tgcttgaaat	gcctggctaa	1800
20	ggggnttttg	aatttcgttg	atgagaagtg	agaaaccaca	aaagggttgt	aagaagagga	1860
	atcagacaca	tcctagtggc	cacaaagtac	aaagcaccat	tcctagtggc	gtttttgtta	1920
	cccataccta	agtgaggata	tccattccta	atgaggaaaa	caggtgtaga	aagattaaat	1980
	aatttgtcca	aggtcaccca	cctaataagt	ggagaagcag	ggaaactagt	tccaggcacc	2040
	ctggcttttc	accaagatac	cagactgctt	catgcaatca	aaggtgggct	caggtggggt	2100
	caggaagaca	aattggaaaa	ggcagtggag	ccaaatatgt	caaggggacct	ttatacaata	2160
25	cactacaaca	cagcnccttc	tcaaatatgt	tctacataaa	aaggatgggt	tatggaaaga	2220
	taatcgcaat	gtagttttag	ctgaaaaaag	tgggcgatgg	aagaatataa	actttatgag	2280
	ctcagataca	tataggaaaa	aagactggaa	ggatatactc	caaaacgnnt	cattgtgttt	2340
	gtctgtggca	atttggggta	agttttcttc	cttttatattg	tccaggcttt	ataaattaaa	2400
	gnatgtgtta	tttgcattaa	aatattctta	ttttaaagaa	tcagtctggt	aatccagaaa	2460
	gaagtaacgt	tggtcattact	aaactcatcg	tagtaagaat	ggagacttgg	gccaagaagg	2520
30	acagggaaag	cccagggaac	cctaagcttg	atgctggggt	nctgctggga	tgctgggtcca	2580
	gggacagaaa	ggaggaggcc	aagaggagac	atggcttagg	gtcaaagagg	acgtgaagca	2640
	gattaaaatg	gaatttttgt	tgaaatatct	aaacagtgat	caagaatttt	accatctaca	2700
	ccttgaaccc	agaaaagaga	tttaggttca	aaatatgacc	atcatagcca	aagaacaaaa	2760
	aataaccaaa	gggagaatag	gaaatgagtc	aaaaacttcc	tatagatggt	taattttttaa	2820
	aactttttta	acagctttat	tgagatgtaa	tccacatacc	acacaataca	cccacttcaa	2880
35	gtgttcaata	tttgggtttt	ttagctgatt	catagagttg	tatacacgac	agccactttt	2940
	agaacatttg	tatctccttg	aaaagaaacc	ctatgtctct	taactattac	ccccatccct	3000
	ttagcctcca	cctaagacc	taaaacaaca	ctaataattct	ttttgtctct	atagagttca	3060
	ctgttctgga	cttctatatg	aataaaatca	taacatatgg	tcttttgtga	cttttttctc	3120
	aattagcata	atattttcaa	ggatcctcca	tggtgtagca	cgtatcagga	cttcatccct	3180
40	tcctatggct	gaataatatt	cacttgtatg	gttggaaccac	attttgttta	tctgtttgtt	3240
	caaaaatgga	catctggatt	gtttccacct	tttggtctatt	gtgaataatg	cttatataaa	3300
	catttttatac	aagtttctat	agggacatat	attttcatct	ctcttgggta	gatacctagg	3360
	agtgaggttg	ctggctcata	tggttaactct	gtgttagtgg	tttgaggacc	tgctagaatg	3420
	ttttccaaag	tggttgcacc	attctacatc	cccaccagta	tgtaagggtt	ccagtatgag	3480
	gatttgcgatt	cctccacatc	ctcgccaatg	cttgttgtta	tctgactttt	tggttataggc	3540
45	tttctcagtg	gggtgtgaggt	gatatatcat	tatgggtttt	atttgcattt	tccggatggc	3600
	agatggcaca	tgatactgag	catcttctgc	tggtcttttt	ggccatttgc	atatcttctc	3660
	tggagaagtg	tctactcagg	tcctttgtct	atttaagtaa	tattctcagc	atcgattttt	3720
	aactgcctgt	ctccaaagtc	tttgttacta	tttgcctgggt	agctgtccac	atcactgttg	3780
	ttagataaaag	ggccttttgg	attccgtgaa	agaagaaaga	gtttcctatc	ctttatcttt	3840
	tctgagttca	ttttctgacc	agggtttccc	tctcctcttg	tttttctact	ttaggaagat	3900
50	tgcaatggca	tattcagaat	taatgtcagt	gtgtcaaaga	acttaaat	aaaattgagg	3960
	cctggagaga	aaaaacctgg	attttgggtg	ccccgtgttt	ggtaagtata	tcataaaaaa	4020
	atatctctgaa	gaatgggtgtg	tttgtcanta	taaggcttta	aataagtatc	atatggcatg	4080
	taactaaaag	tagtttttgc	agagatgtta	aaatgatctt	aagtcataca	gggcgaagcg	4140
	ctagattata	ttggaagata	gaaataaggt	aaaaaataag	agagcaagta	tgcaatgag	4200
	ttctgtatag	cttcatgaaa	ctagagaaat	attatctcag	tatttttcta	atacttcaga	4260
55	aatatgtatc	tggtattcaaa	tgcttataaa	aattaggctt	aacaggattt	tctgtcaaat	4320
	taaaactaaa	cttatcctga	gtttatatct	ttaaaggagg	atctgatgtc	ctcataatag	4380
	aaccctaana	cataaagcta	tttccatttt	aaaacccttt	tacactgaag	gacttccatt	4440

ES 2 271 092 T3

	attgaaacac	tagagaggaa	taatcagtga	cacagttgat	tgcttctaac	tttcccttta	4500
	atattccctt	ttcttttaaat	tgagttttca	aagcacttag	atcaaagcta	gaaatacctt	4560
	gtaccttctt	tcttatttta	ttaatgacca	tgagtgaatc	tctcagtcct	tgctcattggt	4620
5	gaactgagtg	ttctgtcacc	ttcatattgtc	ctttaaaatt	nttatctgtt	ttttaagttt	4680
	tcttttagaa	aatgtgtaag	aataacaact	gagtcacagc	acctctgctt	ttgtcacaat	4740
	tgatgttctt	ttctaaatgt	caaaaactctt	taaaagggaac	agcatttcac	ccagctgtac	4800
	cctagcactc	actgttacct	ctctttggca	tttttctcat	atgaaattcg	cttttatacg	4860
	taatccaata	gaatgcata	tgggttttta	ttttttaaaa	tatccaagaa	ctgagaaaaa	4920
	ggattcattt	gggtgatgtg	gcttcagctt	ggagagagag	gaatgtgaga	catgagaata	4980
10	tcttgcccc	actgctgact	agaaaagccg	tccaatttcc	attgaaataa	aaattaaagg	5040
	agcataaaaa	ttttcttcca	tgagataaaa	attaattata	gcataaagtt	atttatgtta	5100
	taatttatta	atttttatta	attcaaagat	aatcatcatg	aagtaaatgt	agtcaggaat	5160
	agaaacact	ggggcatttc	atttccttca	ctatagagaa	aggttagagg	tgccctccac	5220
	ctctgccaa	tgaggtaccc	cagggggatc	acttaacgtc	agagatgggc	agggcaagaa	5280
15	gagagactct	tgtggccagg	ctgctcatca	ccatctggag	agcaggggta	tctggtgttc	5340
	ctggagagcc	cagtagtcac	tgccctaggc	cacatcatct	gagtcctctt	gagccttgcc	5400
	ggaaagggtt	tgtgtctggg	aaagggtaac	cccctccaaa	gggtccgtag	gtgtgtttcc	5460
	aggagccaga	cttgagaatc	accagagac	tgcacactta	caggagaaaa	ggtgcaatga	5520
	ggcactcctg	ggctggagag	gggtttcaaa	ctcttgaaca	cctatggcca	gaatccaatt	5580
	gtatcagatg	cacaagactt	aaactccatt	cctccattcc	tttcaacgac	atcccacctc	5640
20	agtcattgtg	gaatctcgtg	tggtcctgaa	gaggatgagt	gggaagtgaag	aaagtggcca	5700
	actttttctt	ctttctctca	accgggggtc	ttgagctgct	aaggatggga	ttgttatatg	5760
	agttatagga	tcagttggat	gtaaaactga	attactgaaa	ataaccaaaa	agctctggga	5820
	cctccccaag	aatttcagaca	gggagctgga	acacacttga	aggtagtgtt	tgagagaaaag	5880
	taaacctgcc	agtgtgtccc	tatagcactc	aacctagtcc	ataaaaccag	ctacatggga	5940
25	tttttaaaat	caaagttaat	ttaaatgcaa	tatttttatgg	aaggtattat	taggggtttc	6000
	aaaggcaatg	ccattctaga	agcataagca	aatagccagg	cattccttga	acatcatcac	6060
	aagtgtctct	gtccattttct	ccaggataat	gtgacttggg	ttgtagtga	atagacacct	6120
	tcgatctaat	aaatgtcatc	gttaaccatg	ataacttttt	acactttcct	tcttaagtaa	6180
	gctaataaag	agttggaagc	tgaaattttg	taattttata	ttggctaaat	tatgattaa	6240
	aaaataacat	atctagggaat	acactagagg	aatgcttttg	taattataat	taggacataa	6300
30	atattgacta	attcaggaga	cagtctagtt	tcaatattct	ctcttcagat	taataaatgt	6360
	actttcttct	gaatcactca	gtcactctag	gtcacctcag	taaaaaggat	taaacatata	6420
	aatagattata	aatcacagtgt	gatttatttt	aagaggaggt	ctggaatata	ggaaaatggc	6480
	atgcatggga	gaaaaactaa	caaagtattc	aggcttataa	taaatgtatt	tattgagtgc	6540
	ttgctcttca	ccagctagta	tgcttgtcac	tggtgtaagg	ccctgaataa	gcgatggccc	6600
35	ctacccctta	ggagcttaaa	gtctagtggg	aaacagaaaa	taaaattaca	aataatttna	6660
	tataaatatg	taagggcttt	aatgtctcac	agagaagccc	ctaagcttac	ctctggctca	6720
	cccgaaactc	atctccatgt	aatgttaagc	tacactgtga	tatgttctag	gaagaagggt	6780
	atcaggtttt	atagggtcna	agggccaaac	aatttggggg	accaacatct	cagaaggggc	6840
	tgtacaaaa	aggggtccta	ccccttaggt	ttctttggct	tcatcatata	cctgcctctg	6900
	attctctacg	aaaggctaag	ggtaacaatg	acacacagga	gaagcaccta	accccaacta	6960
40	tgacgggcca	aagagaaggga	ccagatgaga	agacacactg	gttacctttt	gaaggacaac	7020
	caatagggaac	tagccagggtg	aagggggcag	ggtcagaggc	aggtgaggag	gaaagtctag	7080
	gcataaggtt	ggtattacaa	gttaaggcaa	ctctatgccc	aaagctcaag	gcaaaaagcg	7140
	ttgggggtgct	gtaggaagta	cgacgtttct	gatttctttt	aggagagatg	gttgtgttaag	7200
	atacagcatg	ccgttttttg	acaaagtctt	tttctgcatt	tccacatcca	agggcagacg	7260
	ctcagtcacg	tcttcagggt	gcccccatgt	tccccaaggg	aagagcagct	ctccctacct	7320
45	tgatcttggg	gggccttggg	gcacctcttc	tgaggagtaa	aaaactgaca	aaattatgtg	7380
	gtcagatcta	atgtcttagt	tttctgaatt	ggacaggcaa	gattacaata	tttcacaaat	7440
	taaccagaaa	aaatgacaac	cttttcaatt	caaggaaggg	tagcaggtaa	aaatgacaat	7500
	aatagatgnc	atttgggatt	tattgaaggga	ctcngtagtt	acaggtaaa	tttcaaactt	7560
	tgcaactttg	ctagcatgaa	gaaagcataa	gaaaacactt	tacatgatta	aaactgaaaa	7620
50	agacttattt	ttttaatgtg	ataaattctt	ccaactattg	aagtctttga	tgctacattt	7680
	tgttttactt	ggttttagtta	gaatatattt	cacatattct	aacttctaga	agatctagaa	7740
	cataacagta	gttttcagtg	ctgcaaaattc	agctaagaaa	gcacttctac	aaaagaaaaa	7800
	gagcaggtaa	ggaagtccaa	caccggctct	gagaaccggt	tcacttgctt	gtaaaaaatc	7860
	cttattcaag	caaactgtgg	catctgtaga	atccttataa	cttctgtcta	ctgtaaaaata	7920
	tatgaaattt	agtggaaaca	tcccaaaggga	aagattgttg	gaagcatcca	aaagaatata	7980
55	tttgtaactt	catacataaa	aaaatataaa	gcagaattcc	aaaatatgca	tttctgagtg	8040
	gggcttttgc	actatattaa	agaccgtctc	cactaatcag	ccctaagccc	ttaagaacaa	8100
	atcagtttca	gtttaatgtt	ttcttcttat	atcctcatct	atttaatat	caaaaaactt	8160
	atgaaggcac	atcttgtgat	tgtctctata	gtttaaaaaa	cataaaagat	ggtagaaaa	8220

ES 2 271 092 T3

	tacagaacca	gattttccct	agagcgttgc	ctgtcctgag	ggttaaattt	tgagaaatga	8280
	gctagcagun	gggnaaaaa	tgatcaaaat	ataatttaaa	taggctccaa	ggggcctact	8340
	ctagtcagtg	gtccggagct	cagttcttca	ttaaattcaa	gaaatatagt	ccatgatttt	8400
5	ccagtgtttg	gttatcaaaa	tcttaattat	ttaaaattag	cctctaataa	gaaggaaaga	8460
	gggggaaaag	ccactgaaag	cttcttctat	taacaacaaa	aatgttagct	aagaaccata	8520
	acaattaaag	aagatgcaat	ctagtaaaaa	ggatcacttt	tataattggg	aagagaaaag	8580
	tataaccatg	ttaaaagaac	aagaaatgag	acatccctgg	ccccacaga	agtgggagct	8640
	aaacagtggt	tacacctcga	cataaagtgt	gaaactctgg	acagcgggga	cttcaaatgg	8700
	gaggaggaaag	gaaggagggtc	ataggttgga	aaaattacct	gttggtattct	gcgtgcacta	8760
10	tctgagtaat	gggttcatta	gaagctcaaa	ccccagcatt	atgcaataca	cccatgtaac	8820
	aagcctgcac	gtgtaccccc	caaattctata	agaaaacaga	aaatgaataa	gccaatgagt	8880
	ttcagggaatc	aggaatcagc	gggtggaggta	gaaagcatac	caccataaaa	ggggaccaga	8940
	cagggtagcc	actgatctta	ctcagagttt	ataagaaaaa	atccaactgg	aagagagtaa	9000
	tttggaaaaa	tacatactac	aagcaaacac	ctcttgccgt	ctcagtgaac	tctaaatgca	9060
	tactactctt	ccagccctgt	gttcaccatg	atgacacaaa	gtgaaataaa	gtgactaaat	9120
15	tctactctac	actttctata	ctaaccacag	caattgtaat	ttatgccttt	cgaaagattt	9180
	tcaattctac	aaatctctta	ccaaatccca	atgcttcttt	gtgcaaatcg	gtgcaaatcg	9240
	ataaaatcat	ctgtccagtc	ctcagggtta	tcaggacaag	gtagaaatgt	tgcagaacct	9300
	ctcaagctag	aactagagct	gttttacatt	gagatcaccc	catcattacc	taatgaacac	9360
	aatcaattat	aacacattga	tgcatgttta	tgatttagca	aacgaatgcc	atatagcgta	9420
20	aaaatgtgtg	tgtatcacata	tacacacata	tgtagtgtgt	tgtagcagca	cacgtgtgtg	9480
	tgtagtatatg	tgtgtgtata	tacacacaca	cacacatata	ccacactcat	gactggaaag	9540
	ggctacagat	atttgccttc	gggtgctgct	tattggaatt	tcacagaaca	ttcctgtatt	9600
	ggaatcgcat	ggcgaaatcct	cggaacttta	atttcgacaa	tgtagggaaac	gctatgctgg	9660
	cggtgtttga	agttctctcc	ttgaaaggct	gggtgggaag	gagagatggt	attatctatc	9720
25	gtgtggggcc	ggtaagcgag	cacatcgaa	cctttgaaca	cttcaagagc	agctttcatt	9780
	tggttttgatg	aataaccata	ttttccttta	tgtagatcca	tggaatctat	attcatgttt	9840
	ttgtattcct	gggttgcatg	attggactga	ccctttttgt	tgtagtagtt	attgctaatt	9900
	tcaatgaaaa	caaggtaag	atttttggtt	tgtagaccac	agggttttag	ctttcttagc	9960
	cactcacttt	gagctatttg	tttcttttca	cacgcggcgt	gaagccgctt	taaactgtaa	10020
	tgtagctggt	gtaaataatc	tctataaactg	ttttacaagc	tccctcattg	ctgcttttca	10080
30	gacacattat	ttaagagtac	agttctcttg	ctaaatttac	ccttttggtg	acagtgtcat	10140
	taattcacccg	acaactgaga	ggcgctcttc	ctattgttca	aattgaaaaa	aaagatgggc	10200
	agcaagttat	taaaatacaa	tagatgaaag	tgattcgcta	attacaggta	atattacttt	10260
	cactaaatgt	aaattgtatg	cttctgtgta	actcagtagg	tgaactcagg	attttgatgg	10320
	gggtgagggg	agtcgtgtag	aaatttcaaa	atcctaattc	acagaaaaaa	agatttttgtg	10380
	gcagggcctg	gtggctcacg	cctgtaatcc	cagcactttg	ggaggccaag	gcgggtggat	10440
35	cacttgaggt	caggagttca	agaccagcct	ggccaacata	gtgaaaccct	gtctctacta	10500
	aaaatacaaaa	aattagccgg	gcgtgggtgg	gcagcctctg	aatccagct	actgggttgg	10560
	ctgaggcatg	agaattcggtt	gaacctagaa	ggcagagggt	gcagtggacc	gagatcacac	10620
	cactgcattcc	agcctgagca	acagagcgag	actcaaaaaa	anaaaagaaa	aaaaagaaaa	10680
	aaagattttc	taatttcata	tgaacttgac	atactttgtg	aactcgggaa	gcctgttgag	10740
	tttgaacag	ctctaattgat	tagaacaag	gctcacaaat	gggaaaatna	caatgtagtt	10800
40	tctatcaaaa	gtgtgagttt	ggggaagAAC	attctatttag	cactccttgg	agaggggctt	10860
	gctcatctag	gcacttgagc	tatgcctctt	attgttttag	acgcagtctt	tggaatcata	10920
	gtaagggaag	tgcatgagc	ttttgagcac	acactgtgta	ctaagatttt	acatattcaa	10980
	tcaattctca	caactctcaa	atgcacgggt	gcagaaaaag	caatgactag	tctggggctt	11040
	ataagggtgtg	anaaacagg	ccagaattca	gaattgggtg	ctattaccgc	aggctctgtg	11100
45	attcttcgaa	ggcatgagta	gaataaagtc	aaccttccct	ctgcattaa	tggaagctag	11160
	atctgcctgt	aaagcaccgt	gctgctcgat	gttattccatg	gctaggactg	attcccatgc	11220
	gttcacatca	gagctcttca	gtttgtgttg	ctacacatgg	gactgtatct	gtcattcact	11280
	gtcctcaggc	tcaacgtgag	tggtaccagt	tagccagtca	attgacacct	ttgatgtgtg	11340
	gctaattgagc	atgtcatttc	attcaggctt	tcaaaagggtg	agatttaaaa	attcctcttt	11400
	tggtgccccga	ctctactttg	accctcagaa	acatgggatg	ttagagacag	aaagaacagt	11460
50	agtgtatcatg	tcaccagacc	ccttatctta	ctcctatcac	attcattaac	gagatgcttt	11520
	gagccctaca	gtgttgagtt	taataccaag	cagaaaggag	aagaaggatc	tttttagatg	11580
	cctttgagcc	atgtaatgca	gcagacactg	agaattctag	aatataagca	gaagctaatt	11640
	agtcaattaa	caggagagtt	taggcactgc	ttgcccagaa	caccgttaag	aagccgtctg	11700
	agcagacacc	tgatttcagg	aagattagaa	tgatcacag	ctcacaattc	agcaacatac	11760
55	atagaacaac	ataaaatgtt	cagtaactgg	aaataaatgt	ataattaat	gcaacacttg	11820
	agcttagaga	agtggctgag	gttagcagaa	taaccaggga	ggctccatc	cagcactgta	11880
	tttatgttct	gcaggtagga	aagagtaacg	tgccctgttt	gggggatctg	gggcgtatgt	11940
	tctatcagct	caaatgggca	cttaagaaa	ggagaaattg	acaagaaatt	atattaccaa	12000

ES 2 271 092 T3

	gctttacaaa	cttgatttgt	taattggaga	tatcaattgc	taaattatgt	gagcctttta	12060
	gaaaagtctc	ttctctcgca	agnttttttt	tttttttttag	aaagcagctc	atgagctgcc	12120
5	atctaacagc	atttatacat	tattcaatca	ttcaacagat	gtatttgagc	atctactagg	12180
	tgccagaggc	tgctcttgac	actgaggacc	tagtgaaacta	acctaaccac	taaaccacaga	12240
	aaagtatttt	gcctcatg	agcacacatc	ttaatagtca	tacccaaagg	cacataggta	12300
	aatttccaaa	tgtagagaca	acagagatag	aaaaatgagg	aatcttttag	gtacaattca	12360
	gaatcatgca	aaaatatgtc	ttcttttgaa	aatggaaacc	tctttaaaga	gttccaagtc	12420
	tataatagta	atatagattt	tttcttgatt	tctctactat	gtaagacaat	gtgtttgatt	12480
10	tattaaccta	acttgataat	aataaacttt	cagagggttt	tatatattaa	tgatcagatg	12540
	atatctccat	gcctattatt	cttttagatc	ctttcagagt	tcaactttcc	aaaatttttt	12600
	ttatgtataa	caaagtaatt	acattagtgt	ctatgggtggc	cagagaacaa	gtgtttgctt	12660
	ataattagtg	agaaaagtgg	tttagcaatg	tgattatcag	aaaagaacaa	ttttaaacaa	12720
	acactattat	tgggaaataa	tgatgtacta	aagaatgaca	aaataatcac	cagaaagata	12780
	tagaacttcc	aaatcccaaa	atgtacaaag	caaaaattaa	acaagtgtga	aaaagaagct	12840
15	agaaaatcca	aaatcatagt	gaagatatatt	aacatatatc	tcaaaaaatc	tcataattca	12900
	gagnagaata	aaaggaaata	tgagatttga	tacaataaac	acaatcaagt	gaatgtataa	12960
	ggaaaactct	aattacaaca	atttgagaat	gtgcattatt	ttcaagcaca	aaatgtntct	13020
	ccagaaagtc	cataattacc	caagaattga	taatgttaaga	atgtttttctg	accataattga	13080
	aaacaaaaac	aaaaaaaact	ctacaatttg	gaaatattaa	gacaataacta	taataaattt	13140
20	atgagttgaa	gaaattataa	tagaaaaatc	caaaaatattt	acagacaaaa	catttttatag	13200
	cgcatatata	aaaaactaat	gagggtatagg	taaatcagta	attacaaata	aatgtatcat	13260
	tttaagctga	tatatataag	aagaatcaca	agttaaataat	taatatgtca	aatatccaaa	13320
	tcaataaatt	ataataaagt	aaaatcaaat	aaagtagggg	ggaagaaagt	aacaaagatt	13380
	aggacacaaa	ttaatgtatc	agaaaagtaag	gaaacttgta	tagctttctat	aatattcaag	13440
	aataacaaaa	gctgggtttt	ggtttttttt	aaatcaagtc	aataaacctc	taggaagggt	13500
25	gaacaaaaat	aaaaacatga	aacaagaaag	taagctacaa	tcattaaaag	agtgtcagta	13560
	ttgttatagg	tatagaaaat	tagacttaca	gaaaaaacta	gaaagaccca	gcagggaccc	13620
	atgtatgtag	aaaacagaag	cagctcaaca	aatttagtgca	gaggggtggtg	agaccaacaa	13680
	ggagtggtgt	tgggagtatt	gattgtattg	atgtaaagag	ctatgctgag	atctctacct	13740
	cactgcatac	tcaaaaatga	attccagatg	aattaaagac	ttcaatatga	aaagcaaaat	13800
	ttaaaccatt	tttaaagcat	gtcagcattt	attttttatt	tgaatttcag	ataagcagca	13860
30	aataatgttt	ttgcctttat	tatttttaat	cagcgcataa	ttgtacatat	ttatcnggta	13920
	cagtgtgata	tttcaattca	tgtattataa	tgtgtaatga	tcaaatcagg	ataattagca	13980
	tatctatcac	ctcaaacatt	tatcactggt	ttgtgttggg	aacattcata	atcctctctt	14040
	ctaggtattt	aaaaataaac	aattaattgt	tgtcaattag	attcaccata	tattaccatg	14100
	gaacactaaa	atttannttc	ctccattcta	gctgtatttt	catatccatt	aatcaacatt	14160
35	tgactatccc	tattctagtt	cccctcccca	cccctagtaa	gcattttggtt	tttgccctgg	14220
	agtagttatg	tgcatctatc	cattagccac	caagtgaaat	ctataaagga	aaaaaattat	14280
	aaactcgatt	atattttaaat	taaaattttc	tgaatgacaa	aagacactct	aagcaaaata	14340
	aaaatacaag	ccaagactaa	gagaaaatat	gtacaactta	cataattgat	aaaagattag	14400
	tatccagcat	gtataaagaa	tctctacaaa	ccattaaaaa	gtaaatatca	aaatacaaaa	14460
	atgagcaaat	gatatgaatg	tgcaattcac	ataggaagat	acaagcatca	ccatttacac	14520
40	acatgcaaat	gtttcatctc	gttaatatta	aaacaacatt	agatacatatt	tcacacctat	14580
	caaaatggtc	agattacaat	gtctggcaat	atcaagattt	gcaagaaat	taggatattg	14640
	taacacctgt	gtattgctgg	taggaaattt	gttttggttn	ttgctctttg	gaaagcaagt	14700
	tggtcaacat	tggtaaatgt	aaagatgctt	aaattcctag	accccatcaa	ttcttctcct	14760
	agagatcaac	aatggagaaa	ccctcataga	tatttactgt	gagacagtac	atggatgctt	14820
	attgcagcat	tggttatagt	ccataaatca	aaaatgaata	acttcggata	ttcgtacagt	14880
45	ggatgggtgt	tgtgagcagt	agattttagta	atctagtgtg	atggaagta	atggaagta	14940
	tactgttcaa	tgcatatata	aagaaacagc	nnnnataatc	acatgttggg	gtccatttct	15000
	ataaatatta	aaaaattcag	aacaaattct	tacgtattga	ttcatgctga	agcacaaaag	15060
	tctgaaaaca	tagtaaggag	gatgcacgcc	tgaagggtag	tggttagctc	tgggtaagga	15120
	aagggagagt	ggggtttttg	tctagttttt	aaaattacac	ttcagctttt	atgataaaat	15180
	ataatgcagt	gcagtgcaat	acaatataat	ataattttta	tcatatgcat	tttaatcaag	15240
50	tactctatta	tacagaatat	ggaattccat	ttaggcagtt	atcacagcac	tactttctta	15300
	aatgcaaac	tctatgactt	tgtatctctc	aaaaacagtt	ttgcaattgc	acatattaga	15360
	catttttttaa	agaaagacaa	cataccctta	actggaagcc	acagcattga	caagctataa	15420
	ttttgtctgt	atgaaatgaa	aggaaactaa	ctactattag	tgagtatcct	tttttgaaaa	15480
	tgtaattatg	tagaaactcc	tctttacatt	ttcccaaacc	tgaatattac	acatctccaa	15540
	agatacaagt	cgaaggctgc	tgaattctct	ctgaaacacc	tggtcatcat	tttgggaact	15600
55	cctccaaga	ccaactttga	gcattctgac	catgtttctc	tcaccaccac	gggtgggaaga	15660
	acatggctag	tgcaagccct	cacatcagtc	ctgtttgtct	cggcacccca	tctgccatgt	15720
	tcttggtgca	agcacatgac	aaaaggcctt	ttcctgcttt	cttttgtctg	ttaaggggac	15780

ES 2 271 092 T3

ggctttgctg accgctcgatc agagaagatg ggaagacctg aagagccgac tgaagatcgc 15840
 acagcctctt catcttccgc ctcccccggg taccctaaat gctctgattt tattcatggt 15900
 gggcactagt gtgcacgatt ccccgaggag ctccagattt aattaaaaa ataatcgtga 15960
 5 ggcgctggg aggttgtgca taaggtaata cagaaacagg ctccaaacca cagatctctc 16020
 cataaggcta ttaaaatcaa ccacccaaag gctgtgcttc agtgctctca gactaagcct 16080
 taatgaaaa atgaattttt aaataaaata tattgtctct tgctttttaa aaatataagt 16140
 gaaatgtatt aaactgacag aaattgaatg atgcacttct ccttccaata tagacggcat 16200
 catgcactgt cgttttgaat attcagagcc agccattgct gcaaaaaacac ctccacaatag 16260
 10 acggaactgt ttggggagaa aaatgtaatg ggttttaaga taagcattta agaaaaataa 16320
 cgacaagaaa gtaaatgtga cctgtgtcta aaatgccctt gcccaaacct ttcttttcta 16380
 gataatgatg gtttttagagc taaaatgtat gacataaccc agcatccatt ttttaagagg 16440
 acaatcgcat tactcgtcct ggcccagtcg gtgttgctct ctgtcaagggt acttcgtttc 16500
 accctaagac tccgggaatg aattttgtat tcactgctac atccgagagt atcacaagct 16560
 gctatatgca ttccaggtta tgttcttggg tgtaaaaatt aagattccact gtcaatggca 16620
 15 aagtggcgag aagaggggca agcctgtatg tgtccgatgg acgtgggcaa cgactcgtgt 16680
 gctgtttctg ttgcagtggg acgtcgagga cccgggtgacc gtaccttttg caacaatgtc 16740
 agttgttttc accttcactc ttgttctgga ggtactgtaa tgagtcagct agctctgggg 16800
 gaatctgtgc acagttttta agtaaatcag cctccctctt tgatgccact tactctctc 16860
 tctgtgttcc attgcctttg aagtttgccc ttaggatatt tccacttaa gcggttctgc 16920
 20 ttaactcgaa caaagacatc actttatcca tcagattttt ctaactacag aaatgctgct. 16980
 gtegatgtgt gtgtctgaac attggcctgt ctagtattgc gagttctgat atttagaggg 17040
 aatggtgtga gccactataa ttcatgtact caaattgcaa tagagacgca aancaagttg 17100
 gccacagaca gggtattttta acatgtgatt ctcataatat tgctttccag ggcagtcttc 17160
 ctgaaataca agcagattct tattttgccc tacactgggt gatgtttccc aaaatctatg 17220
 gccttttgct taagggaagaa aaatgtccca tgatcagaac tagtcataaa acgaagagga 17280
 25 aagagtgtag agaacacaga ttgttaagct acttagcttc aaaaataaaa tcataatatc 17340
 tggtaataaa ctcttatttt tagttactac atgtttacaa ttattcttta aatagatagt 17400
 ataaccgagc atgctggctc actcctgtaa tcccagaact ttgggaagcc gacgtgggtg 17460
 gatcacctga ggccaggagt ttgagaccag cctggccaac gtggtgaaac cccatctcta 17520
 ctaaaaatac aaaaatttagc caggagtggc tgccactgccc tataatctca gctactcggg 17580
 aggtctgaggc aggagaattg cttgaacccg ggaggcagag gctacagtga gccaaagatca 17640
 30 tgccactgca ctccagcctg ggtgacagag cgagactcag tctcaaaaaa taataataaa 17700
 taaatagaca gacagacaga tagatagtgt aggcacgtgg cctaaaagga aacctcaaag 17760
 ggcattaaag tgtttgtctc attttcaatg gaaaagatac tgtgtccaca tcaaataatt 17820
 taaaattttc ttcatttgaa aaaaatacat acacataatg catctcaagt taatacattt 17880
 aaatatgtac taaacactct ctctgtttat tttcttctt gctttttctc caggttacca 17940
 35 tgaagatcat agcaatgtcg cctgctggct tctggcaaa cagaagaaac cgatacgtc 18000
 tcttggtgac gtcgcttggc gttgtatggg tgggtgcttca ctttgccctc ctggtagca 18060
 tagaagtcaa gctgattatt tcagtttggg tcagttctgc tcagtcctgt 18120
 ttccagctctc attttactcc acatcaacct gctctgaggt gttagatgga cctccctaaa 18180
 gccacgcttt gactgtgatg ggctctcaga catgcttggg tctacatgta cacaccccca 18240
 cactcttcac acaggcaaaa ctggccccc ccaagacctc gaogatgcaa gctagaaaga 18300
 40 gaaggagctt gactgcaaca tggtttagcc cctcattttta ccaaagggga aaacaagaaa 18360
 gagagaggaa gactgcaaca gagactgaga actgtccaaa ttcacacaag ctagtatcag 18420
 aagactatag tcctgttttc ctgttttncb cagctgaaat atagcatttg ttccactttg 18480
 ttataatcgc tatttcacaa tgtgattctc aagtgttcc actgtttcat tttctataag 18540
 acatttagcc tccacttctc taaagcatat gatttcccat ctctatatc gtgttctcac 18600
 45 tattttacct aaagtgcctt caccctccat tcagctcgag atccactca aaatctgcag 18660
 ctatgggnt actgaactgt aatctagggc catattgtcc aatgaaaata aaatgtggcc 18720
 acagatatca cttaacattt tctagaagcc acaataaaaa agtagtngtt tagaaaatat 18780
 aactattaaa ttgttaataa ttattaannn nataaataat aattaattat ttaattangt 18840
 aatatatttt attattttaa atatgtatta attaaaagat gcattatgtg tatgtgtatg 18900
 50 tatatatattt tattattttat atagtatat attatatatt aatatattta attaaataat 18960
 taattttaat nattatataa ttaanttaat aattattttaa ttatataatt atttggttat 19020
 aattattttat gtataattat ttttatata cttataacta ttatgtatgt aattatactt 19080
 atgtaattat aattattttat ataatttaat tattaacaat ttaataatta tattttctaa 19140
 actatatcca aagtattatt attttcatgt gtaagcaata taaaattatt gagataagta 19200
 gtatccttgt atctgtgtgt gaagtctttg gctgagtatg tatcttacct ttacagcata 19260
 55 tcttcattta aattgccaca ttttaagtgc tcagtaacca catgtgggtc catgtggctg 19320
 ctggttacca tggttggatg cacagctctg gaagatatgg gtcctagtct aggttccacc 19380
 attttccagc cttgactaat ttatttgcc tcaatgatcc tttgttccct gctctgaatg 19440
 gccaatataa cttcataatc cacctattcc ctctggcatt atgaagatca agtgagataa 19500
 tatatttgag gctttcttga actagaagaa ttatacaagc ctgtaggcat tattataatt 19560

ES 2 271 092 T3

	accttctttt	tgtagtcat	acttgatctc	atcccaagga	atattatcgg	tttttccctg	19620
	tttcttctta	tccattctcc	catccctcta	gtgttagaga	catgctggga	aagactcatt	19680
	tacacatcct	aaagggcttg	ccttaatacg	agacgctgtg	ctcatgaaca	tagtgagcgt	19740
5	ccttcttaaa	ccagtgggta	ccttcagcat	caggggctgt	atgaagccta	ggtagactct	19800
	cagtcacctc	gaagtatttt	ctcagcaata	aatgggtctc	aattcctagt	acaagacaca	19860
	gtactagtaa	ctgagaagaa	tgttaataagc	aaaacaaata	tagttgctgc	tcttgtgaac	19920
	cttatatcct	agaaaagtag	atagatagtc	atcaattgct	cacaaatcta	tgagtataat	19980
	gactatgatg	aggagagatga	aggagagcct	gtgttctctg	gacaacatag	ataatagtgg	20040
	gagatggctt	catcagagag	gtcttggaag	acatcccaaa	gggagtgatg	gctccatctg	20100
10	taggataagg	ggagggcatt	tcaggtagtt	gtccctgtga	tggaaagatg	acagagctgg	20160
	aagaaggata	gatcacatagt	actagcatag	tacaagattt	ggatgggtaa	gaagggtatca	20220
	gactcttgat	aggggagatga	tcagggtgaa	gaattcagat	tctcatccta	aaaactattg	20280
	gttgtcatta	cttccaaaac	ataaagaggg	aaggtagctg	caatagatct	ttagtataca	20340
	tgggaagaaa	aggcagcaag	gcccattgtt	ttcctttctc	cagataaaat	ttgtattagt	20400
	cccttctcac	actgttatga	agaaataccc	aaaactgggt	aatttatataa	ggaagatatt	20460
15	ttaatgtgat	caaagtctca	catggctggg	aaggccccag	gcaacttaca	atcatgggtg	20520
	aaagggagac	aaacacatcc	ttcttcacaa	gggaacagga	gagagaagaa	tgagtgccta	20580
	gcaaaggggg	aagtccctta	taaaaccatc	agatcttggt	agaactaact	caatatcatg	20640
	agaacaggat	gggggaaact	gcctccctta	attcaattat	ctccacctgg	tccctcccac	20700
	aacatgtgga	gatnatggga	actacaattc	aagatgagat	ttgggtgggg	acacagttaa	20760
20	accatatcat	tctgcctgga	cccctcccaa	atctcatgtc	ttcacaattc	aaaatacaat	20820
	cataccctcc	caacagtccc	cgaaggtctt	aattcattcc	agcattaact	taaaagtcca	20880
	agcccaaatg	cttatctgag	aanaggaaag	tttctgctgc	ctatgagcct	gtaaaatcaa	20940
	aagcaagtta	gttacttctc	agatacaatg	ggggtacagg	cattgggtta	atatcccatc	21000
	tccaaatggg	agaaattggc	caaaacaaag	gggctatagg	caccatgcaa	gtccaaaatc	21060
	caatagggca	gtcattaaac	attaaagtcc	caaaataatc	tcctttgact	ctgtcctata	21120
25	tatatccagg	gcacactgat	gcaagagggt	ggctcccatg	gccttgggca	gtccaccatc	21180
	tgtaggcttg	cagggtagag	acccctctct	ggactggtat	tgagtgtctg	tggcttttcc	21240
	aggcacacag	tgcaagctgt	cagtggatct	accattctgg	agtctggagg	atgggtggccc	21300
	tcttctcaca	gtccactag	gcagtgtctc	agtggggact	ctgtgtgtgg	actcnnnnnn	21360
	nnnnnnncaa	ccacacattt	tccttccgca	ctgccccagc	agagggtctc	catgagggct	21420
30	ctacccccac	agcaaaactc	tgcttggaac	tccagttgtt	tctatacatc	ctgtgaaatc	21480
	taggcagagg	ttcccaaacc	tcagttcttg	acttctgttc	acccacaggc	ccaaaaccat	21540
	gtgtaagcca	ccaagtctgt	gggcttgcac	tctttgaagc	atcagcctga	gctgtatatt	21600
	ggcacctttt	agccatggct	ggagcagaag	ctgctggaag	gcaggggcacc	atgtcccaaa	21660
	gctgcatttg	gcagaggag	ctggggcccc	accacaaaaa	ccattgttcc	cttctaggct	21720
	tccaggccctg	tgatggaagg	ggctgtctgt	aagggtctctg	gcatgccctt	ggggacattt	21780
35	tccccattgt	cctgggtgatt	agcattcagt	ccctcgttac	ttatgtaaat	ttctgcaact	21840
	ggcttcaatt	tctccctagt	aaataagggt	ttcttttcta	taaaaatcat	cagactgcac	21900
	attttccaaa	tattttactc	ctgcttccct	ttgaacactg	tgtcaccttag	aaatttatct	21960
	taccagatac	cctaaatcat	ctctcttaaa	ttcaaagtcc	cacagatctc	tagggcaggg	22020
	gcaaaatgct	gccagtctct	ttgctaaagc	ataacaagag	tcacctttgc	cctagtctcc	22080
	aataagttcc	tcattctccac	ctgagaccac	ctcagcctgg	acttcaactgt	ccatatcact	22140
40	atcagtatct	tgggtcaaagc	tatcccaaca	gtaggaaagt	ccaaacttcc	ccatatcttc	22200
	ctgtcttctt	ctgagtcctc	caaattgttc	caacctctgc	ctgttaccca	gttccaaagt	22260
	cgcttccaca	ttttcaggta	tccttatagt	agccccccac	tctaagtacg	aattttactgt	22320
	gtagtgcctt	tttcatgctg	ctatgaagaa	atacccaaaa	ctgggttaatt	tataaaggaa	22380
	cgaggtttaa	ttgactcaca	gttctgcatg	gctgggaagg	cctcagaaaa	cttatgatca	22440
45	tgggtggaagg	ggaagcaaac	acatctttct	ccacatgggtg	gcagggaagaa	gtatgagtga	22500
	ccagtgaag	gggaagcccc	ttataaaact	atcagacctg	gtgagactta	atcatcacia	22560
	gaacaggatg	agggaaacca	ccccagtgat	tcaattatct	ccacctgggtc	cctccaggga	22620
	tacatggggg	ttatgggaac	tacaatccaa	aataagggtt	gggtgggaac	atagccaaac	22680
	catatcgaaa	tgcaacctaa	agctactgag	tccaagcaaa	agtcaagttag	actctctaata	22740
	ccagataaac	ctcagagagg	aaatctttaa	cccaaagacc	aacttccctt	ttctgtcctaa	22800
50	ttgcctttgt	tcttctccaa	gaacctcttt	ggctcttgga	nggatgctat	tctccaccgt	22860
	attttgcagt	ggactattgg	tccccatcca	tccccatcca	nggatgctat	gtgcacacat	22920
	tcattgtgct	ggacctcacc	aaggatctca	ctggaccccc	ttcgogggggc	ccatctgtga	22980
	ctgtcatcat	ttggctaggc	aagcctcctt	gagagttaac	acactctggc	atcggtctgaa	23040
	tgtaagggtt	gttattgcag	ttatagctgg	tgggatcttt	gtttctcaaa	tgaagctttc	23100
	ttattcataa	agtgcaagtca	tctcttctgt	ctaatacacac	ccttgaaaaa	agagctggat	23160
55	gtgttcttga	gcagggaagg	cctctctgaa	atcagcttag	aggaatgagt	gtatgtttgt	23220
	tcttcagttg	tgtctagaat	ctgacttctg	gcaatctttt	ccaccatcag	ccctttctct	23280
	ttgocaggat	tcctttacct	cctatgtcag	ttgaccttcc	tatgttgcaac	tgttaccctg	23340

ES 2 271 092 T3

	tggtttttcac	accctgtatg	caaaagagct	ggtcaccatt	ttatgtaaaa	taaattttcaa	23400
	aatacagaat	ttagctgagc	aaaacagAAC	ccgaagtttc	atttgagact	gaatttttaa	23460
	tctaataat	attcatgagt	ttttgcagtg	acctttttcag	cacctttttt	agatcacttt	23520
5	cttataataa	tttacacata	ttaagctaatt	tattcagtat	acttcacaga	aggcttaaaa	23580
	aatggaactg	taacaagatc	ttttgtgcaa	attatgagaa	gctgtcttct	gttttaattt	23640
	cagaatgcat	atacttacat	gatgggcgct	tgtgtgattg	tatttagggt	tttctccatc	23700
	tgtggaaaac	atgtaagtac	attgttaaga	atcttatctt	aaaggtcata	tatgtgttaa	23760
	tgaagaatg	gtgattaatt	gattacagcc	ttacctcggt	tatttaggga	tgtaatcaca	23820
10	aattactaga	catcataagt	caagattaac	aaataattaaa	cattgtttaa	tgaatcagta	23880
	gcttagttat	cattcgatgt	gtttcctgcc	atttatgttg	cttattcttt	atattcaata	23940
	attaagtaaa	ttattttaaat	ttattaattt	aatttaattaa	agataaccag	tcatgaaaac	24000
	aaaaaccaat	attctttctt	aatgcatttt	tattttttatt	ttcaataaag	ttaagtaact	24060
	tcaagaaaa	ataatcttta	atgaattttt	atngtttcca	tgattccaga	tnnnnttttt	24120
	tttttttttt	tttgagatgg	agtcttgctc	tgtcaccagg	ctggagtgca	nnngtggcag	24180
15	gatctcggtc	cactgttttc	tccacctccc	aggttcaagt	gattctcctg	cctcagcctc	24240
	ccgagtagct	gagattacag	gcatgtgcca	ccacacccag	ctaattttttg	tattttttagt	24300
	agagacaggg	tttcaccacg	ttagccagga	tgagattcca	gatttttttaa	tattatttgt	24360
	taatgtccat	gggtatatct	cacatatatt	tttcatTTTT	tacaatgctg	tttctctttt	24420
	tattacaac	ttattttcat	atatacattc	catatatata	cataaccaat	atacttaata	24480
20	tttgatagtt	atttagtatt	ataccattgc	ttaggtttgt	ttttgtgaaa	gtctgtttgt	24540
	ggaagaaacc	tgagtttact	tgtgttcagt	caaaaatgtg	tagcccttat	catagagaat	24600
	tgaaggagcag	aagagaaaat	ggaagggtgaa	aatgcttagt	gttactctta	ttaattttgtg	24660
	tgaagaggct	gaaatgttg	aagtaaaaat	aaaatctgcc	caacgcctgg	tgggttttga	24720
	agaatatatt	gatgtaatac	cttagagaaa	gcaactttca	aatgatacac	ctaagagtga	24780
	ttttgagcca	atctgcttaa	agattagtgt	ctaccaggt	cttccatagc	ttaatagatt	24840
25	gaatatcttc	tctctctctc	tctctctnng	tctctgtctc	tctctctctc	tctctctgtc	24900
	tccccgcctc	ccaccctgg	tccccaggta	acgctaaaga	tgtctctctt	gacagtgggt	24960
	gtcagcatgt	caaaagcctt	ctttatcata	gtaggcatgt	ttctcttgct	gctgtgttac	25020
	gcttttgctg	gagttgtttt	atttggtaact	gtgaaatatg	gggagaatat	taacaggttg	25080
	gtatatactt	atctttctat	tcatTTTatca	agcaaacctt	ttggtaataa	aatTTTaaat	25140
30	aaacaaatgt	tttttgtcta	ttaaagtcta	ggagagggga	aagggaagta	atcagttgga	25200
	aattaaaaata	aaatagccaa	gttttaaatg	atatTTTtcc	agttgaaaaa	ggttattcaa	25260
	ctgaaaaggt	ctactttcaa	aaccttagaa	aaattagaaa	taaaagaaaa	caaaaagaat	25320
	ctataattcc	accaacattc	agtaatcatc	actccnaatt	ccagcacttt	ttctatctac	25380
	atattgccaa	aaaatgatat	attatTTTTa	gatggaacaa	ttttaagata	actctggggt	25440
	tctttctcag	caaaatattg	gaattttagag	ccccccaaat	ggttgttaata	tatgaaaagc	25500
35	agttttcaac	gatttgccct	agttttatag	atgcacatt	ttttttcaag	tcttgataca	25560
	acaaagtata	taccgatatg	tcaagttgta	ggaattagat	acatggctgc	cccacctttt	25620
	atagcatcgt	ccaagtga	gaaggaatca	cttagttgce	aaagcctgcc	tacttagtca	25680
	ttccaatgtg	tgaatatata	attagtggcc	atgctagagt	tgggtgttca	gacggctata	25740
	cttgagggca	agtataaatg	acaaattaat	aaaaagggtat	aacctttgga	aaaggtnact	25800
40	tagcaaccac	atttgctaca	acctccactt	gttttggtgt	tggcaaacca	tgtattttca	25860
	tgacaaaccc	ttctataant	cacattctgt	taattTTTTt	ttcttaaat	aggcatgcaa	25920
	atTTTTtctt	ggctggaaaa	gctattaccg	tactgttccg	aattgtcaca	gggaaagact	25980
	ggaacaagat	tatgcatgac	tgtatggtaa	atatctctca	tcatgaacaa	ggcttagact	26040
	tagaatcagc	atgaaactct	tncaacacaa	tgttggcagg	atcatccttg	ttagcgttaa	26100
	gactttatgt	atgaaatata	aatcctgaca	cttcagttcca	taaaattgca	ttattataca	26160
45	ttccaatgtg	tgaatattta	gggcaaaata	ctcaattaac	ccaacttgag	ctattgtagt	26220
	tccattcaac	aaantatgca	ttttgtgagt	gttgttcttt	ccctcccatc	tttaatatTT	26280
	tggtaatgaa	agtcaaacag	gaagcccttt	aatttaaatgt	gttcagtgga	tagttcactg	26340
	cccctcagct	atatgctagg	ccctaggtct	tcaacaactc	caaggcacac	tcaaggagct	26400
	tacctcaagg	gctctgagtt	actcttccct	tatactataa	agtatacttt	atacttccct	26460
	cttactatat	cctgtcttcc	ccaagcatca	tccttctggt	ctcagtttaa	acagggtctt	26520
50	tgctttaagc	taagacagcc	agctacatgt	tcttatgctg	ctctatagtt	ctcctttgta	26580
	ataaggagct	gtagtgaatt	actggcttac	attcatTTTat	tttatctctt	tctcaccgta	26640
	ggacagacca	atgctgtgtt	aaaaaatgtc	tgcagtgatg	gaaatctgca	ctgtccaatt	26700
	cgggagccac	tagccatatg	tggttatgga	gcatttaaaa	tgtggctaac	acaactgagg	26760
	aactgaattt	tagttttta	tttatattat	tacattttta	ttaacataaa	tttaaatTTa	26820
	catngctgca	tggagctagt	ggtcaccata	ttggactgca	cagcactcaa	ctgtcagtag	26880
55	gaagaagaga	tagggccgct	tatgtctttc	ttaccagttc	ctcccaaac	ttggcacaac	26940
	cctagcacac	agttaggagt	ctgggacttc	atgcatgaat	taacaaggag	aatttgccaa	27000
	atcaaataga	atcaaggcca	aaattttaatg	aatcttaaat	aaaaatacaa	gcagaatgct	27060
	gggattatag	aagagagagc	tagtttatct	ggctgagaaa	aaccagaaag	ttctctcaga	27120

ES 2 271 092 T3

	gggtgtcggn	ttttatagag	cctgtaaac	atgagagagt	ttttgatgac	tttaagtcttg	27180
	tgctattcca	tagcatccca	taacagtggt	ccaagaatgg	ggcttactcc	tcacacaatt	27240
	tgaatgtgaa	tttncatagt	gcaggcacat	cctgtttttac	tgtgcttccc	ttattgcctt	27300
5	ttgcagacat	tgcattttta	caagttgaag	gtttatggca	atcttgtgtg	gagcaggtct	27360
	atcagggcc	tttttccaat	agcatgtttg	ctcactttct	ggttctgtat	cacattttgg	27420
	taattctcac	tatttcngac	tttttcatta	ttatctgttt	tgggtgatctg	tgatcagtga	27480
	tcttttgatg	tttcttttct	agtttttttt	gaggggtgcc	atgaaccatg	ctcaataaga	27540
	tggagaattt	aattgataaa	tgtcatatgt	cttctgattg	ctgcaccgaa	catctgtttc	27600
	tccaactctt	ctctcttttc	ttgggctctc	ctatgtcctg	agacacaaca	atattgacat	27660
10	taggcccatt	cacaacccta	caatggccta	taagtgttca	agtgaataga	agattcacac	27720
	atcagtcact	tcaaatcaaa	agctagaat	gattaagcct	atggagggaag	gcattgtcaaa	27780
	agctgagtta	gcccacaaag	taggtccctt	gcaccaata	gttactcaag	ttgtaaatc	27840
	aaaggaaaag	ttcttgaagg	gaattaaaat	gctactccag	tgaacacatg	actgataaga	27900
	aatagcctta	tggctgatat	ggagaaaaaa	tttaccggg	ctcagtagaa	gatcagacta	27960
	gccacaacat	gcccttaagc	taagccaaa	tcgagaagaa	ggcccttact	ctcttcaaat	28020
15	ttatgaaggg	tgagagaggt	gaggacgtg	tagaaaaaaa	tgtttgacgc	tagcaagggt	28080
	tggttcatta	tgtttaagga	aagaaaagag	ccatctccat	aatatgaaag	tgttaagtgt	28140
	gctgatataa	aagctgtggc	aagtattcta	gaagatctag	ctcaataaat	taagggtggc	28200
	acactaaaca	atggattttc	aatgtagaca	aaacagcctt	ctattggaag	aagatgccct	28260
	ctagaactta	catagctaga	aggagagaag	caatgcctgg	attcaaaagt	tcaataaca	28320
20	gacttactct	gttgttaggg	actaatgcag	ctgggtgactt	tcagtgggaag	ccaatgtcta	28380
	tttaccattc	caaaaatcct	aggaccctgc	aatgggtttga	ctgtgtcccc	acccaatct	28440
	catcttgat	tgtagttccc	ttaatctcca	tgtgtcgtgg	gagggaccag	gcagagataa	28500
	ttgaatcattg	gggggtggtt	cttccatcct	gttcttgtga	tactgagtga	gttctcacta	28560
	tagccgtcat	gagatctgat	ggttttataa	gaggtttttc	ccccattttt	cttggcactt	28620
	cttgcgtcca	ccatgtgaag	aagaacatat	ttgcttcccc	ttccgctgtg	attgtaaatc	28680
25	tctgtaggcc	tcccaatccc	tgctgaactg	tgagtcaatt	aaatctcttt	cctttataaa	28740
	ttacncagtc	tcagggtatgt	ctttatttagc	agtgtgagaa	nggactaata	cagtctctta	28800
	agaattatgc	taaatctacc	ctgcctgtgc	tctataaatg	gaacaacaaa	gcctggatga	28860
	pagaatagct	gtttgcagca	tggtttgtctg	gatatttaag	ccactctctg	agacctactg	28920
	ctcagaaaaa	aaagattgct	ttcaaagtag	tactgtctcat	taacaatgca	tctacctggt	28980
30	caaccaagag	ctgtatcagg	agatgtataa	ggagattaac	attgttttca	tgctctctaa	29040
	cacaacatcc	attctgtcca	tggatcaaga	agtcatttca	actttcaagt	cttattatctt	29100
	cagaaataga	tttcataagg	ctaataagctg	ccatagatag	tgattgtctct	gatggatctg	29160
	ggcaaagtat	attgaaaacc	ttctggaaag	gattcactat	tctacatgcc	attaagaaca	29220
	ttacncagtc	gcgcagtggt	ctcacgcctg	taactcctagc	actttgggag	gtcaaggngg	29280
	gtggatcacg	aggtcaggag	atcgagacca	tcctggctaa	catgggtgaa	ccttgtctgt	29340
35	actaaagata	caaaaaatta	gccgggcatg	gtgggtggcg	cctgtagact	cagctactcg	29400
	ggaggctgag	gcaggagaa	ggcgtaagcc	caggaggcgg	agcttgcatg	gagcggagat	29460
	tgaccacatg	cactncagcc	tgggcgacag	agtgaagactc	cgtctcaaaa	maaaaaaaa	29520
	aaaaannnaa	cattcatgat	tcattggaag	aggtcaaaat	atcatcaaca	ttaacaggaa	29580
	tttggaaagaa	gttgattcca	gccattatgg	atgactntga	gggtttcaag	acttcagtga	29640
	aggaggtcgc	tgacatgtg	gttggtagaa	atagcaagag	aactagaatt	agaaatggaa	29700
40	cctgaagacg	cgactgaatt	gctgcagctt	cctgatcaaa	cttgaaggaa	tgaagattgc	29760
	tccttatgga	tgatcagagt	ggtttcttga	aatggaatct	actcttgcatg	aagatgctat	29820
	gaacatagtc	ataatgacaa	caaaggattt	ataatgttac	ataaaattac	tcgataaacc	29880
	agcagcaggg	tttgagaggg	ttgactccaa	attcgaaaga	agttctattg	tgggtaaaaa	29940
	gctagcaaac	agcatcacat	gctgcagaaa	aatctttcat	gaaagggaaga	gtcaattgat	30000
45	atgataaact	tccatgttga	cttgttttaa	gaaatcgcca	cagccacccc	aaccttcagc	30060
	agccaccacc	ctgctcagtc	agcagctgtc	aacattgagg	caagaccctc	caccaccagc	30120
	agaagattac	aactcactga	aggctcacat	gattgttagc	ttttcttagc	aataaaagta	30180
	ctttttatta	aggctctgtac	ctttttggac	ataatgccat	tgtgcactta	ataagccaca	30240
	gtatggtata	aacatgagtt	gcattgtgcac	tgggaaacca	aaacatgcat	aggactttat	30300
	tgcaatattc	actttatcac	agcagctctg	aactgaaact	gcaatgtctc	cgaggatatac	30360
50	ctgtagagtc	tatatcccca	aatcttaacc	cattacttca	gtcagagaaa	aacttgcmaa	30420
	tgtcttttta	tttgattttc	tcacagtggtc	taacttatcac	ttggggctgg	ttggggctgg	30480
	tgggtggtggc	agaaagaata	tctagtggag	atcagttcat	tttcattgtg	cttttaaaaa	30540
	tggcaataaac	cttgggattc	tacaagataa	cagcatagca	taagtgaat	attcttcttt	30600
	atttctgcta	cagatgatgt	acccaatgta	tgtggctttt	gaaagcttac	tttgaagtta	30660
	atttatgtct	atattgttag	gaatctattc	attaactata	gtcagctaaa	agaaatttgt	30720
55	attctctact	cttatctctc	ccttcttcca	ccccaatgcc	ccaaagggtc	agcctccggt	30780
	ttgtactcca	gatgaattta	catactgggc	aacagactgt	ggaaattatg	ctggggcact	30840
	tatgtatttc	tgttcatttt	atgtcatcat	tgctacatc	atgctaaatc	tgctttagag	30900

ES 2 271 092 T3

	taagtgatgt	tagttgaata	ctttttactc	tttaaaactca	ggtagcttaga	taattatgta	30960
	ttatttttcaa	gcaattaccc	tggattttctt	gggggtgggtg	tttcatggca	ttaattataa	31020
	attgttgtct	ctcaatccag	aagctgaaaa	gacctttgaa	aggcacgtaa	atgacagttg	31080
5	actgcaattt	taagagttgt	agcattttatt	atgatcatta	atttcaaaag	ggctcttctc	31140
	atggattgag	tngaacaaat	atcagagagg	actatctttc	tagccttgaa	atatcacatt	31200
	tatgtttttg	aaaggtacac	cttattttacc	cagatgtggg	cccaccaga	actcaatttg	31260
	acctttaaaa	atggccctgg	aactctcaac	taagagttaa	agccagctgg	catgactatc	31320
	tctatcacaca	gaatgtgtgt	ttgtgcttac	gacctctatg	ttttggaaa	gcaggagctg	31380
10	gagaaatagc	tttagtccaag	tgtaaacatg	ccaatttgga	aaccatacta	aaagcacttt	31440
	aaaaatttgg	cttatgatat	agggtataga	atccattatt	aataatagat	gtttttactct	31500
	ttctaaaaata	tgacagatta	gcataaatggt	ctaactttctg	aatttttctt	tttttaaaa	31560
	ccataattgt	ggagaatttc	tccttgtttt	attccactga	ggaggaccag	cttttaagtt	31620
	acaattgatct	tcgcacacttt	caaatmatat	ggaaacatggt	ggatgataaa	agagaggtat	31680
	gggagtgggg	tggtgtttca	tgccctcacct	caaagagact	tatcaacatg	tctcaaacac	31740
15	ttaaatgggt	ttcagggttg	caaataacac	agattgaatt	tttaaatggn	ntgaanttgc	31800
	agaaagccat	cattttacagt	tcagcagaat	cctctaggaa	gggagacagc	atcgttcttc	31860
	cttatactat	ttcccaacct	gaacatcctc	ttcttcagac	tttccgaagg	ccagcaggga	31920
	aagggaagcca	aagggaactct	gtaggaatca	gccttgggct	caggccagaa	aaagaggtga	31980
	cactgaaact	accaagggga	cagtatatatta	ncaaatlcat	gatcacctca	aactcaagta	32040
	gcaatcccaa	ttaaaagtac	aaaggagttta	tttaagtggc	atctgaaggt	gtgtattgga	32100
20	ttatttttga	gttactactt	gaatgtttta	accataaagt	ttacccaacy	tttcttaaaa	32160
	ttagccaaag	tagctgcagt	ctgctcttcc	tcttctgttc	attgtcgtca	tcaacctcca	32220
	cctccttccc	ttctcctctc	tcctcctcct	ctaccccttc	tnnnnnnnnn	nnntcttccc	32280
	cctcctcttc	cccctnctct	tcctcctcct	cttccctctc	ctcctcgtcc	acctcctctt	32340
	ccacctctatc	ttccccccta	cctcctcctc	ctctacccct	tcctctacct	tctcctcccc	32400
25	cacctcctcc	ttctncaact	cctcctgttc	ttctcctctc	tcctcttctc	tcttctctcat	32460
	cctagcaaac	actcaggcac	agttcttaggc	actgaggata	tagcagtgaa	caagatggaa	32520
	cagctcctgt	actcacagag	cttacagctc	aataggtgga	gacaaataat	aaaaagtga	32580
	ataataataa	atagtgcagt	atttccagaa	gttaaaaacta	tagacagtag	ttgggggttg	32640
	ggctgcgccc	gcagggaatga	ccatgaagga	ggcctgaggg	gtgctgtggg	acctcatgtc	32700
	tgaacaacaa	ggaaagttct	gccaggggtat	ttggggcgag	atctggaaat	agttcaagaa	32760
30	gagttgatga	agggcacaaa	gaccaagaag	ccagcctggg	catcataaat	gaggggctcc	32820
	ggcagtgac	tcaccccaat	ttcttccctc	ttcttggtag	ccctgcccgc	ccagggctca	32880
	gtcttgaggg	ctttcctttc	aaggtagtga	gagccctgcg	tgaggggcat	ctgagctcac	32940
	tctcagctcc	tcaggatcca	cctgtctctc	tgtaactgtc	accacaggga	acctgtcttc	33000
	atgcaataca	cacatgaaga	cccactgccc	tgcacaccga	gatgtcagta	actggcaggc	33060
35	agtcagtggt	gccagtggtc	cgcccagcac	tttcatctaa	agaaagatac	agccaggggg	33120
	catggtgggt	tggtgtgcat	ggaaggtagc	aacacatctt	agattctcag	tgctctggatc	33180
	agttctgagc	ccagaagagg	gcagagctga	aggcctaatt	ctcttgtata	tagtttttct	33240
	aatcctgaa	aagacatgaa	aaggagttag	ttagctctct	tttttttttt	tttttttgaga	33300
	tggagttcca	ctctgtcccc	aggctggaat	gcagtgggtgc	aacctctgct	tcttgggttc	33360
	aagtgattcc	ccagcctcag	cctcccaaat	agctgggact	acaggcatgt	accactatgt	33420
	ccgggtaatt	tttttatatt	tagtagagac	tgggcttcat	catgctggcc	aggctggctc	33480
40	cgaactcctg	acctcagggt	atccacccgc	ctcggcctcc	caaagtgcgt	agattacagg	33540
	catgatccaa	cacgagttat	cttttaattg	tagaaaaaca	tgtaataaac	attgagacgt	33600
	tcttagcatc	ccgattgagt	gaagaggagg	attacacgtg	tggtctctgt	ccattnccct	33660
	gtgtgagtac	attatggccc	actcagtgca	tggtgtggag	gtggcgtctg	tgggacagnc	33720
	tatgcaagca	tcagcctggg	gagagcaaga	gtagggtcct	ggggggctga	aggggagctt	33780
45	cccatgcctc	actccaaatg	ctgcaatgtg	gtgacatccc	agaaagagaa	gcaccagcag	33840
	aaattttatca	ctcagttttt	tatcctctgc	tcttcttagt	gcacttaatt	ctaccaggct	33900
	ccaaggaggt	gaccagcttt	cttcacatct	ggtgctaatt	atgctagctt	ttgagaaata	33960
	gcaccttttt	ttttttcttt	tgagaaaccc	aagtgaatca	tcgaggcctg	atgatttgct	34020
	acttcttggt	ctctgccccg	caggggggtga	tccccacgtt	ccgcgtcaag	ttcctgctgc	34080
	ggctactcg	tgggaggctg	gaggtggacc	tggacaagga	caagctcctg	tttaagcaca	34140
50	tggtctacga	aatggagagg	ctccacaatg	gcggcgacgt	caccttccat	gatgtcctga	34200
	ggtacaaggc	aggctttcgc	agggtgaat	ggggggcaga	aaccacagct	gtcagccttc	34260
	aaggcctctg	cagtacaatt	aacaagtgtg	tttccaaccc	aaaatgccac	atctgctgtg	34320
	gtcgtgaagt	ggggtcacat	gtcccaggcg	ctaagtgcct	tttctgccc	tcctccagtg	34380
	aacattttcca	agtaggtgcc	tcgcagggga	gggctggg	gctgtgcct	gatgtcccgt	34440
	agggacccct	gcccactgag	gtgcaccccg	aggggagagg	tggaaaggat	ctgggagagc	34500
55	acagtcacac	cccttccctg	tgatgcggga	actgcccaga	agagctgagt	gacttgcttg	34560
	cgggttacagg	gctctggcaa	agctgggact	aacatgcaga	gcacctcact	tgcatgggtc	34620
	tgatgagaat	ttgcctggcc	tgcctctgtga	tgggtgcccc	gttggctaaa	acaccagatt	34680

ES 2 271 092 T3

	ttccagacat	ttcatgagcg	cccagacagg	acagaggggc	aaatggagtc	tctgcctttt	34740
	cttcttctcg	ggagacttct	gtatttgttt	ccttgggcta	ctgtaactta	gcaccttaag	34800
	ctgaggggatt	taaacaacag	aaaggatatg	tctcgaagtc	ctggatgctg	gaagcccag	34860
5	atggagggtat	tgcggggctg	attccttctg	aggcctgtga	gggagaatct	agcctagcct	34920
	ctccccctggc	tgctggaggct	gcgctgccaa	tggtggtcat	tccctggcct	gtagaagcat	34980
	cagcttggtc	tcccttcac	ttcacatggc	attctgtttg	tgtgtgtgtg	tgtgtgtgtg	35040
	tgtgtgtgtg	tatctatgtt	caaattcctc	cttttataag	aacatctgtc	gtattacatt	35100
	aggagtccat	tctactccac	tgtgatctca	ttttaactta	attactaatt	acatctgcac	35160
10	tggtctatctt	ccaaataaac	ttacgttctg	aggtactaga	ggttaggact	ccaacatctc	35220
	tttttttggg	aggaaacatt	taaccataaa	cagcttctta	agcaggagtc	catggataaa	35280
	acagaggccc	atggacttgc	aagggggaaa	caattacatc	tttattttca	ctaatacctc	35340
	tttgaatgt	gtcattctct	tccatgatga	acgtaggcaa	caaaccacag	tgcatttagc	35400
	aatctccatg	ctcttgttac	caggagaaat	catagatatt	tcagatgac	ataaactgac	35460
	gccttgactg	acatcttaaa	atatcattta	tgctcaccag	tgtctctgag	ttatggtagt	35520
15	catttgagct	ctgctagatg	gtattattta	atggaataat	aaaggaagca	cttacttatg	35580
	ttactttatc	actgccgttt	taaagtaaat	ttgagaattg	tatttttaata	taattggttt	35640
	cctttgtaat	acggtgtatt	tcatccgtg	catttaaaagc	attatttcaa	gaaatgtccc	35700
	atagcttca	ctgccacagg	ggtccatgcc	acagaaaaaa	ataagagcga	ctgactagca	35760
	gtagctarrr	taatcacata	gcagtaccta	caaggagtgt	gtgggatatt	gtgtgtgtgc	35820
20	tcaaatttca	ggagaactca	ggtgtacaga	aatatgcttg	tggccagaag	ctgaaaaaaa	35880
	aaaaggatca	gatcagcaca	ggaagaatct	gggaaaagtt	ctctcaagtt	atcaatttca	35940
	cctacgactca	tccagttcct	ccaccaacaa	gctaaaaagc	agaaaaacat	gggacggaga	36000
	aatgcattgt	aatcacaaag	gaggtcatct	ctgtcagaat	gtttctgagt	ctttctctct	36060
	agtggcaaat	tttttttgg	gacatgaggc	agataggcat	actgttgtca	ttaataatta	36120
	atatccagcc	tcttttgaac	acaccgatgt	atctaataaa	aatagaccca	ggcaaaatct	36180
25	gtgatggggc	tgctctctcc	cttctctatt	attcccctag	cccagtatat	gataaaaaca	36240
	aaagtggaag	ataaaagcaa	tgaagctttg	atgggattct	tgatgagtca	gggaagagag	36300
	gaagagaaaa	ttcatttttt	ttccctctgt	ggtgggaaga	gatttagcaa	agagaagccc	36360
	aatgtaccag	tgctctcaag	agcctccagg	ctgtgatttg	ggctctagga	tggaaactgag	36420
	ctcagactca	tgggtagctc	acaggtgcac	cagggtgcat	gggtctgagc	cataaactgg	36480
	aatcctgtgg	ctacacctgg	gtgcatcaca	ctgccaaag	gggtctgtct	ctcctctggg	36540
30	ggtggactgc	tcagtcacag	catcctggga	gctgccttat	tgcctccatga	actgtaatgc	36600
	tgtgttggct	ttacctacaa	ctgcatgggc	ctgtctgtgt	tcaagggtta	aatgggagtg	36660
	gatattcaac	cctgggtttg	tttggtagcc	tctgaaatta	ataagggaag	ccaggcatgg	36720
	tggctcacac	ctgtaatccc	agctctttgg	gaggctgagg	cagggtggatc	atttgagggt	36780
	aggagtttta	gaccagtttg	accaacatgg	tgaaaactcg	tctctactaa	aaatacaaaa	36840
35	ctagctgggc	atggtggcac	acacctgtaa	tcccagctac	ttgggaggct	gaggcagaag	36900
	aaatgcttga	accaggagg	cggagggttc	agtgtagctg	cagcgcgcca	ttactactca	36960
	gcctgggtcaa	caagagtga	gctccatctc	aaaaaaagaa	aaaattaatt	aataaggaag	37020
	atacagaagg	atgaatgaga	gaaacagaga	gggaagtggg	atgcaggag	tagggatgtg	37080
	tgaacgcacag	ccgagcatat	taaccatcac	ctcggggggc	taagtgtgaa	gaaagtatgg	37140
	gaggtgctgt	cttctctctg	cagagaaagt	cgcgagcctt	ttcctagcct	ggatcttttg	37200
40	ctttacaggc	acttagatgg	cacttactac	tataagagcc	tcacagatat	taactcactt	37260
	agtcattaaa	taaaggagtt	accaggacta	tctatcatct	ttgttttaca	gacgagggaa	37320
	gggagacaca	gagagggtgac	aggaccagcc	caagacatgc	gggtggcgag	gggtggcggtc	37380
	aaaacactag	acttattaga	ctgagtgtatg	tccctctctg	attttgacgt	atcctaagggt	37440
	gtaaatctca	ggtgaatcag	agctgcgatt	gcagggtgtgt	ttctcccacc	agcatgcttt	37500
	cataccggtc	cgtggacatc	cggaaagagct	tgagctgtga	ggaactcctg	gcgaggggagc	37560
45	agctggagta	caccatagag	gaggagggtg	ccaagcagac	catcccgcatg	tggctcaaga	37620
	agtgcctgaa	gcgcacacga	gctgtgagtg	aactgcacac	atgcagggtg	gggtccccgcc	37680
	ccgccccgcc	ctgccccgca	ggaggatgaa	agaaaagagc	ttcgtgaaca	tgggatttagc	37740
	tccttctgtg	atcagccttc	tatcccttta	aactatgtcc	actacctcca	cctacagtgg	37800
	tcagatcatg	atgcagactt	tcactctagt	ccacagtcag	ccctgccctc	tttagcagag	37860
50	tccattagga	gtttccatgg	aatccccatt	ttataatatg	acatgaagac	ttaaaaagca	37920
	gtttatttgg	caggtgtggt	ggctcatgcc	tgtaattccca	gcactatgag	aggtcaaggg	37980
	gggagctcaa	ctcacttgag	gccaggagtt	ggagaccagc	ctgccaacat	ggcaaaacc	38040
	catctctact	aaaaatacaa	aaattaacca	ggcgtggcac	acatgcctgt	agtcaccagct	38100
	actcaggagg	ctgaggcatg	agaatcactt	gaacctggga	ggtagaagtt	gcagttagct	38160
55	gagatcatgg	cactgcactc	cagcctgggt	gacacagtga	gaatctgtct	caaaaaaaa	38220
	aaaaaagttt	attgatatta	aaatatgatg	tccatttatt	aaactcaact	gttcaaaatt	38280
	ctagaatttt	ccacatattg	aatttgcaaa	actactttta	attgtgtgta	aaaattttcaa	38340
	caaactgtga	taatgtcatt	tattctgaaa	agaccacctc	tcaagattaa	tgatgtttcc	38400
	tgcttctctga	cttataagcc	tataagattc	tctaactcat	aaattaatga	atgtatactg	38460

ES 2 271 092 T3

	cattgacata	tactgtat	acagtgaatg	ttctctatgag	ataattactt	ttatgaatgc	38520
	ttttggcatg	tttcacagac	agggaaaaaa	cccaaagcaa	tcactaaaca	tttatatata	38580
	acagagattg	tttcaatcct	cttctctcaga	gcaacaacgt	caattgcaga	aacatgtatt	38640
5	tctattggag	gagaaaaagg	tcccagagaa	aagatacaac	tcaacctcct	atagcaaggc	38700
	cagctgcccc	gtgatgtccc	atcactgctg	gccactgtag	ctatgttagc	tccagggatc	38760
	aatctgtcct	cctctggctc	tgagagggca	caaggagtc	tggctttagt	atatgcccag	38820
	acagactgg	ctcctggatt	gacctgaaaa	cttcagaacc	aagacaagca	caaaggtttt	38880
	ctcatccacc	caaggctctt	tgctctctac	aacttgcagg	aaagtgggaa	aggggttggg	38940
	attgtattgg	cttaatgagc	ctagaataaa	ataagaggag	aaaaaataga	atagccacat	39000
10	tagtaatttt	aaataagaca	taagctgggc	acagtgtctc	atgcctgtaa	tcccagcaca	39060
	ttgggaaact	gagggcggag	gatcgcttaa	gaccagaagt	ttgaaactag	cttgggcaac	39120
	agagtgcagc	ctcctctctn	gnaaaaaaaa	aaaaataa	aaatttaatt	agccagccac	39180
	agtcatgcac	acttttagtc	tcagcttctc	aggaggctga	ggcaggagca	tagcttgagc	39240
	ctaggagttt	aagggttacag	tgagctataa	taatcgacc	actgaactct	agtctacggg	39300
	acatagttag	atcctatcta	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aancagaaaa	caccaacaac	39360
15	aaaaagaaaa	caaaaataaa	aaatacaag	catcaatgac	cgtcactatt	ctgattgtta	39420
	cacaaatgaa	aatggactgg	gaagtcaatg	catacctctc	taagccacc	tttgcatcag	39480
	cctaccttaa	ttgaacattg	aaattagttc	aggatcctta	cttggaaatt	cctaagaggt	39540
	cacccgcat	gcagggtctta	ggagagggga	gaagaaaata	agattttgtg	ggcgggtggg	39600
	caggcaggat	cttgggctta	ttttactgaa	caaacacatc	catttccata	gaaacagcag	39660
20	cagctgtgca	gtatcatcca	cagcctgaga	gagagtcagc	agcaagagct	gagccggttt	39720
	ctgaaccgcg	ccagcatcga	gaccacccag	cccagtgagg	acacgaatgc	caacagtcag	39780
	gacaacagca	tgcaacctga	ggtatgggca	cgaggcgctc	tctgtcccag	gacactctgt	39840
	gggcttcttt	cttttaataa	aaataataaa	aatgggtgct	ggtcagatca	ttcaaaacag	39900
	gtgacaatat	ttctaatagg	aatattttca	ttaaaaaaa	aaanggcaac	ggaaatccat	39960
	tgatccagat	tatgtctatg	tctttgccat	cttggatgca	gttgagggtta	tttaaaaga	40020
25	gtctgactca	tatgaatgcc	aaaaaaagtg	aatgccttga	acttcaata	tctgtagt	40080
	tatttttgtc	agcaacgtta	acatcagctc	taagggctgc	atttgaatct	gggtatatta	40140
	catggagtat	gggtttacagg	aagctctgcc	ctaatatatt	tcttcccttc	tctaaagtca	40200
	tagaaatttg	cagtaaaatc	agtgaanaatg	tttgttaatta	gctttcaacc	tccttaata	40260
	atcagactca	ttgaagatat	atcctttcct	gggtgggtat	cagaagaaca	tatggaattc	40320
30	aggacaattg	actttgaggag	tttctattta	ttaaagtcaca	gcataatttc	attttcaaac	40380
	tctatgtatg	tgtctatata	aaaaagtaca	aggagttatc	agcgtcctgg	agagtcctgt	40440
	gctgtgagaa	gcagctggct	gggaggacct	gcccccttat	gaggcagcaa	ttacgatttg	40500
	aggttaacaa	cgtggagctg	atcccgctg	ctgtgcagag	cccccagcag	caccaggctc	40560
	ctgtgggaag	ccaggggcca	gagtaacctt	ggagccttaa	ggagccttaa	ggctccacgg	40620
	cccagcagg	tgctccagga	ggcccactgg	tgccatagct	cagttttcag	tagatctcat	40680
35	gttttgggct	ccccagcctt	tagaaatcat	ctgccaccga	ctgcagggac	ttctgcggag	40740
	ttagtcaacc	aaggggcaag	gggaggcatc	tgcaatggcc	ttgccactgg	tcacctgaa	40800
	gatgggttgg	aatgtctcgc	atgggagagg	gaggcaggct	gaagtacgga	cagacagtga	40860
	gacagggtca	atgaggttgg	agaaagtgat	gatttcagag	ccctctgttt	ttagatgaaa	40920
	aagcctaaga	aagaaagagg	tgacnnnana	aaaaaaaana	ggatactaaa	gagatgtgaa	40980
	gaccaaggct	tttgttagga	aaggggagagg	tgacaggtga	acctgagaac	aggtgaaatg	41040
40	tggtgggaag	cttggcatct	ctcttctctt	cactgtagct	tagattgtta	tcagctccat	41100
	cctccaccag	ggcccatcat	acagctttgc	ctgcagagaa	ctctttccct	gaagctctaa	41160
	gtgtggatct	ccaggctggt	gacagtagac	tgcccccgcc	cagccgggtc	ccactgcccc	41220
	accttccttc	ctgcagttcc	ccttccttac	ccccctggtt	gccagcgaag	atatgaagg	41280
	aaacaatgac	attctcaggc	atggagggga	acgaagcagt	gggggttacc	caggacaaga	41340
45	tgctccagga	agagtggtgt	ctccttcagc	agggcggtga	gtgggtggtc	tttttcttct	41400
	gtgaccttct	ataccatttt	tcacttttcc	ccattgtgga	cactctgagt	ccatgtgtgt	41460
	cttcccaact	gtcctcctgc	catgtgtttt	cctttcttat	agtaaaagga	ggagagcgca	41520
	gggttaaaaa	gacggtaact	gtgtgcttct	cctcccatgc	agacaagcag	ccagcagcag	41580
	ctcctgagcc	ccacgctgtc	ggatcgagga	ggaagtcggc	aagatgcagc	cgacgcagg	41640
	aaaccccaga	ggaaatttgg	gcagtggcgt	ctgccctcag	gtaggtccat	ccaggcat	41700
50	ctccagcgat	cgaggcattt	ttaaaggatt	tactctgttt	gtgtgttttg	ggcttgcct	41760
	ttcaaaatgc	aagtctgcac	ctacagttgt	ttacagacag	caacataatg	aaaaatgtag	41820
	tcttgtcaaa	aacattgtcc	cccaaaataa	cttctctaaa	tatgacttac	attagcccc	41880
	attttccggg	tacatttcag	gctatcatgg	ttgagaagcc	agcacttatg	aaaaagacaa	41940
	gattcagaa	gagggagaaa	tttccaagg	ctttctgtgt	gcctcaagg	atgctcaaac	42000
	atgggcanaa	gtatttcaact	gaagagggag	tgggcagatg	caatcatcca	gaaatgccca	42060
55	cgaagtctct	aaaaaaggga	caggccccc	atttctctca	gcacactttg	cagctgagcc	42120
	ggtcactggc	tttaggcaag	ctgctttacc	tccatacaat	aacaannnnc	aacaacaaac	42180
	acttacgtag	tactcactgt	atgccagtc	ctcttctaag	tgcattactt	gtgttctctc	42240

ES 2 271 092 T3

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

```

attcaatcct ttaataaaca gtcccattat tttccatatt ttactgattc agtaagagaa 42300
ttttcttcta tgagcttctt ctctataggg ttttggaaag ccaggataat cccattaaaga 42360
gcactcagga atsgagggag agcaatgctc cccacagccc agtgcctctg tacatgtttt 42420
tttctataga taactaagtt catgctaaag caggagcttt ataatgctct ttaactgtgc 42480
cccaacttca gccaattga aaggagaaga tgtgtagcat atgtgttcca caaagcagat 42540
gacagcacag ctacattttt gaggctgacg atgttcagtg ggtcttcact gggactacca 42600
ccaaggaaag tatccctttt catatccagg aacctatttt tcagagatca gagaagatct 42660
aggttctctc tgattcaaac acagcagaga atgacagcat caagacaacg tagatggtag 42720
tgccaggtea taaattacaa gctgagtcgg ttcaatttta tcctgtaggc aattaggagc 42780
tagcaaaagat ttctgagcag tatgtgactt ttggaatctg tgctttagga agttgacttg 42840
gcagcaaaag agggaattgt ctatgacaga gcctggaggc aggttacaag ctggaggaaag 42900
ttaccgtggt gtgagcacia ggcaacaaag gcattggacag agctgggggc cagatactgc 42960
agggacagat agggagagtg acctggggag aatgcacagt ccttggtatt catttaaatg 43020
gacaaaagaa atgatgctgt tccattgggc caggcgagtg ggtcaccctc ggctcaccct 43080
tgtaatccca gcactttggg aggccgaggc aggtggatca tttgaggcct ggagtccaag 43140
accagcctgg tcaacatggt gaaaccctgt ctctactaaa aatacaaaaa ttagctgacc 43200
ggtagtggtg tgcacctgta atcccagctg cttggggaggc tgaggcagga gaatcacttg 43260
agcctgggaa gcagaggttg tggatgaacca agattgtgct gctgcactcc tgtctgggtg 43320
agagagtgag aacctgtctc ccaaaaaaaa aaaaaaaa nngtacttcc 43380
actggtccat gcctaggtgg tccccaccaa aaacggatg cgtgaaatag acatgctctt 43440
gggggtcaggc tgagtttgag gaggcagagg agaagaaaaa tagtattttt agggggcagc 43500
aacaatgtca cagggtgcat gctatgcat ttcctaagtc atctcatgta acctgtttta 43560
atcctgacaa tagtctaatt aggtactttt cattgtcttc atcttacaat ggaggaaact 43620
tgggttcaga gacgtgaagt tgcccatagc tacatatcca caggttgcag aggtgggtcc 43680
caacaccatg actgtgaggc ccagaaacca cacctttcct cccataccct cactgcattc 43740
ccccctgcct ttactgtggg tcacactctc ctctcttttt gtttttttta ttgcatatgc 43800
taatgaatgc acaggttctt gtgacactta atagttcccg aattgggaatt tttttagtga 43860
ttttctagtt tttttaatta ttcaaaatg aaagggttga gcagcacgtt tttttcccaa 43920
atgacatcat tagttgtcca tgagcacaat taaaaaaa atctatcgtg aacataaaga 43980
atcaagtcct gaaaaggatg ttactttage atctgtggct aggcacagtt agccaaaagt 44040
taactgaatg ggaatatcat ggttttttag gattgattac aatagggtga agcaatacca 44100
agtggctcat aggtactcat aattccacag ccccaaaacc aataagccat tcagtgtcct 44160
cagtcaactt acgggtttgga ggaaggacaa ccatgaaatc tgtcgtgtgc aaaatgaacc 44220
ccatgactga cgcggtcttc tgcggttctg aagttaagaa gtggtggacc cggcagctga 44280
ctgtggagag cagcgaagtg ggggatgacc ttctggatat ttagggtgat gtcgaatgat 44340
atgaatttct agtgggtgaa accgttttct aataatgtcc ttgattgtcc agtgagcaat 44400
ctgtaattga tctataactg aattccagct tgtcacaaga tgtttataaa ttgattttca 44460
tcctgccaca gaaaggcata agctgcatgt atgatgggtt actatcaatc attgctcaaa 44520
aaaatttttg tataatgaca gtactgataa tattagaaat gataccgcaa gcaaatgtat 44580
atcacttaaa aatgtcatat attctgtctg cgtaaactaa ggtatatatt catatgtgct 44640
ctaattgcagt attatcaccg ccccgcaaaa gattgtctag cccaaagtgg ctgatattta 44700
gggtacaggg gttatagctt tagttcacat ctctccattt tccactagaa atatttctct 44760
tgagtggaatt tattatttat aattgtctg aaaaggctcag cactgaactt atgctaataa 44820
gatagtagtt ttacaaacta cagattctga attttaaaaa gtatcttctt tttctcgtgt 44880
tatattttta aatatacaca agacatttgg tgaccagaac aagttgattt ctgtcctcag 44940
ttatgtttaa gaaactgttg cctccttcta agaaaattgt gtgtgcaagc accaggcaaa 45000
gaaatggact caggatgctt agcgggttaa aacaaacctg tagataaatc acttgagtga 45060
catagttgag caaagatggt aagtttctta agaaaccttt taataactga gtttagcaaa 45120
aagaataaaa ctatatagct caatttatct aaaaaaatct ttgcatgtgt gatgttatca 45180
ttggcttcat ttcttaccca aggtatgtct gttttgccat aaatcagcag agtcattttca 45240
ttctgggtga tccatacaca ccattgctat gttagatttg aaatgacatc tctgttaaaa 45300
gaatcttcta tggaataaat ggtgccctgc aaaatcttcc tctgaactca caggttaggg 45360
atcacacaac ttacttaatc gttttttgtt ttgtgttttt ttctttatat gtcattggcc 45420
catgtcctcc gggaataata gaaaagcaaa atgattacaa agtgcgtgta gatttcttgt 45480
gctgggccc ccaagtagaa ctggacttga ctggacctt taactatttt attacagatt 45540
ggacatttgc tgttcagatg ttttttaaca gagggtattt ctcagaatcc tgtgacctcc 45600
aggtgtgttt ataattctatt ttctcttatt taacattcct cagatagata ggcaaatagg 45660
acattccttc tgtgtcacag aagtatcgtg gtatggcag tctacagttt atatgattca 45720
ttgtaactat gagataaaga acaaccagtc atgtggccaa aaggattaga tttgatttga 45780
tgttcacttg gagtttactt ttgtacata caagataaaa taaatattgg atttgtaaaa 45840
taatttactc tgagttgacc atttttaaac ctttttcttg gtggggcagg cactcggtag 45900
cagcacattg caaacctgga ttgaatatcc agtccataat tagttggcaa aagctgtgtc 45960
cctgatactc atttcaactc aattctctga gccagaatgt tcctttcaca ctgtgtctga 46020

```

ES 2 271 092 T3

	taaggctgag	tgaataccct	gtgccctcta	agcctacaat	gaacagaaaa	ggcacttaca	46080
	gggtccagggc	atgggtctgt	actagtgtctg	cataaaaaaca	agatgttttt	ggctcattac	46140
	acttgagtaa	tacagcttca	ttctcacgaa	actgctgagc	cctttctaaa	acgtctggaa	46200
5	ttgatgttca	gcagaacatc	attgttggtc	attctgcagt	gaagccaggg	gcagaatacc	46260
	aatgtattta	aagccatagc	accctatatt	ttcaatgaag	cgaaacagtc	acacacttcc	46320
	tgtaggactc	ctctctacga	ttttcctgaa	acaggtagag	catatgcaag	ccagagaaat	46380
	taagcgccac	ccccatttag	attttacccc	tagatatgta	aacatatgaa	aaatcccat	46440
	acacagatgg	gaaaaacttg	gtcacagtgt	tccttggtcc	gtaggggaagc	cagacactga	46500
	tactaatcct	gtcatcacgc	caccactgc	ctttaattag	aggggtgctgt	cagttccaaa	46560
10	ggcaccagaa	agcatatggg	gtggaatact	tacttgactc	agagccccctg	agagagcagg	46620
	ccacacatgt	gtgacctgta	tggcacttca	aggagactca	aagggaacaa	ggatggacag	46680
	aatggaaggg	ccaatgctat	tcactctann	nnnnnnnnnn	tttttttttt	ttttttgaga	46740
	cggagtcttg	ctctgtcacc	caggctggag	tgcagtggca	cgatctcggc	tcactgcaag	46800
	ctccacctcc	cgggttcaca	ccattctcct	gcctcagcct	cccaattagc	tgggactaca	46860
15	ggtgcccgc	accatgccca	gctaattttt	ttgtattttt	agtagagacg	gggtttccac	46920
	atgttagcca	ggatggtctc	gatctcctga	cctcgtgatc	caccgcctc	ggcctcccaa	46980
	agtgtcggga	ttacaggcgt	gagccaccgt	gcccggccca	ctctattctt	aatggtactt	47040
	ccagaccaac	atacatcagc	agtgtctggc	tggctgtgcc	ttggccaagc	tgaatgagat	47100
	aagggtacat	agaagaaaaa	ccagtgttat	aaagccttac	aggaaagcag	ctttaagcca	47160
20	gtggaatgat	gtgtttgcct	gtttccttgt	aggaaagtggc	attctataca	tgggtggttt	47220
	tcagtatatc	agtaagcagt	ggaactgttt	ctaaggcctt	caacagatcc	caaaatttta	47280
	acagaccaa	agccaggcag	ccctcgttga	agttgaggtg	aagatgaaaa	cggcactcat	47340
	gtggtctctt	ctcacccact	attatgggtt	gaagtgtgac	ccccagaagg	ataggttgaa	47400
	gtcctaacc	ttagtacctg	tgaatatgac	cttattagga	aatagggtct	tcgcagatat	47460
	aattacttat	gaggagggtca	tactagagga	gggtaatccc	ttactccaac	atacctggta	47520
25	tcctctgaag	acacaggcat	gtggggagga	tggccatgag	acggtgaagg	cagaggcatc	47580
	ggagctatgc	tgccagagc	caaggacac	ctgggtacc	agaagctgca	agaggcaagg	47640
	aaggcgctc	ccagaggcct	ctaagggaga	atggccccct	gtcaacacct	tgattctgga	47700
	cttctagcca	gaagaactgt	gagaacatac	atttctgttg	ttttaagctg	cccagtttgt	47760
	ctgctttttt	atcattttat	catttttagtt	tttttagttta	gtctctgtct	tctactaact	47820
30	ccctttccaa	ttctacttta	g				47841

<210> 4
 <211> 6799
 <212> DNA
 35 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <221> 5'UTR
 40 <222> 1..65
 <220>
 <221> CDS
 <222> 66..5282
 45 <220>
 <221> 3'UTR
 <222> 5283..6799
 50 <220>
 <221> señal_poliA
 <222> 6081..6086
 <220>
 55 <221> señal_poliA
 <222> 6777..6782
 <220>
 60 <221> alelo
 <222> 1658
 <223> 99-79316-158: base polimórfica C o T
 <220>
 65 <221> alelo
 <222> 4481
 <223> 99-79310-29: base polimórfica A o C

ES 2 271 092 T3

<400> 4

	gacagctctg agcgctgggg ttacagactg tggttttgtg cttgctcacc aaagctaacc	60
	tcagc atg ctc aaa agg aag cag agt tcc agg gtg gaa gcc cag cca gtc	110
5	Met Leu Lys Arg Lys Gln Ser Ser Arg Val Glu Ala Gln Pro Val	
	1 5 10 15	
	act gac ttt ggt cct gat gag tct ctg tgc gat aat gct gac atc ctc	158
	Thr Asp Phe Gly Pro Asp Glu Ser Leu Ser Asp Asn Ala Asp Ile Leu	
	20 25 30	
10	tgg att aac aaa cca tgg gtt cac tct ttg ctg cgc atc tgt gcc atc	206
	Trp Ile Asn Lys Pro Trp Val His Ser Leu Leu Arg Ile Cys Ala Ile	
	35 40 45	
	atc agc gtc att tct gtt tgt atg aat acg cca atg acc ttc gag cac	254
	Ile Ser Val Ile Ser Val Cys Met Asn Thr Pro Met Thr Phe Glu His	
	50 55 60	
15	tat cct cca ctt cag tat gtg acc ttc act ttg gat aca tta ttg atg	302
	Tyr Pro Pro Leu Gln Tyr Val Thr Phe Thr Leu Asp Thr Leu Leu Met	
	65 70 75	
	ttt ctc tac acg gca gag atg ata gca aaa atg cac atc cgg ggc att	350
	Phe Leu Tyr Thr Ala Glu Met Ile Ala Lys Met His Ile Arg Gly Ile	
20	80 85 90 95	
	gtc aag ggg gat agt tcc tat gtg aaa gat cgc tgg tgt gtt ttt gat	398
	Val Lys Gly Asp Ser Ser Tyr Val Lys Asp Arg Trp Cys Val Phe Asp	
	100 105 110	
25	gga ttt atg gtc ttt tgc ctt tgg gtt tct ttg gtg cta cag gtg ttt	446
	Gly Phe Met Val Phe Cys Leu Trp Val Ser Leu Val Leu Gln Val Phe	
	115 120 125	
	gaa att gct gat ata gtt gat cag atg tca cct tgg ggc atg ttg cgg	494
	Glu Ile Ala Asp Ile Val Asp Gln Met Ser Pro Trp Gly Met Leu Arg	
	130 135 140	
30	att cca cgg cca ctg att atg atc cga gca ttc cgg att tat ttc cga	542
	Ile Pro Arg Pro Leu Ile Met Ile Arg Ala Phe Arg Ile Tyr Phe Arg	
	145 150 155	
	ttt gaa ctg cca agg acc aga att aca aat att tta aag cga tgc gga	590
	Phe Glu Leu Pro Arg Thr Arg Ile Thr Asn Ile Leu Lys Arg Ser Gly	
	160 165 170 175	
35	gaa caa ata tgg agt gtt tcc att ttt cta ctt ttc ttt cta ctt ctt	638
	Glu Gln Ile Trp Ser Val Ser Ile Phe Leu Leu Phe Phe Leu Leu Leu	
	180 185 190	
	tat gga att tta gga gtt cag atg ttt gga aca ttt act tat cac tgt	686
	Tyr Gly Ile Leu Gly Val Gln Met Phe Gly Thr Phe Thr Tyr His Cys	
	195 200 205	
40	gtt gta aat gac aca aag cca ggg aat gta acc tgg aat agt tta gct	734
	Val Val Asn Asp Thr Lys Pro Gly Asn Val Thr Trp Asn Ser Leu Ala	
	210 215 220	
	att cca gac aca cac tgc tca cca gag cta gaa gaa ggc tac cag tgc	782
	Ile Pro Asp Thr His Cys Ser Pro Glu Leu Glu Glu Gly Tyr Gln Cys	
45	225 230 235	
	cca cct gga ttt aaa tgc atg gac ctt gaa gat ctg gga ctt agc agg	830
	Pro Pro Gly Phe Lys Cys Met Asp Leu Glu Asp Leu Gly Leu Ser Arg	
	240 245 250 255	
	caa gag ctg ggc tac agt ggc ttt aat gag ata gga act agt ata ttc	878
	Gln Glu Leu Gly Tyr Ser Gly Phe Asn Glu Ile Gly Thr Ser Ile Phe	
50	260 265 270	
	acc gtc tat gag gcc gcc tca cag gaa ggc tgg gtg ttc ctc atg tac	926
	Thr Val Tyr Glu Ala Ala Ser Gln Glu Gly Trp Val Phe Leu Met Tyr	
	275 280 285	
55	aga gca att gac agc ttt ccc cgt tgg cgt tcc tac ttc tat ttc atc	974
	Arg Ala Ile Asp Ser Phe Pro Arg Trp Arg Ser Tyr Phe Tyr Phe Ile	
	290 295 300	

ES 2 271 092 T3

	act ctc att ttc ttc ctc gcc tgg ctt gtg aag aac gtg ttt att gct	1022
	Thr Leu Ile Phe Phe Leu Ala Trp Leu Val Lys Asn Val Phe Ile Ala	
	305 310 315	
5	gtt atc att gaa aca ttt gca gaa atc aga gta cag ttt caa caa atg	1070
	Val Ile Ile Glu Thr Phe Ala Glu Ile Arg Val Gln Phe Gln Gln Met	
	320 325 330 335	
	tgg gga tcg aga agc agc act acc tca aca gcc acc acc cag atg ttt	1118
	Trp Gly Ser Arg Ser Ser Thr Thr Ser Thr Ala Thr Thr Gln Met Phe	
	340 345 350	
10	cat gaa gat gct gct gga ggt tgg cag ctg gta gct gtg gat gtc aac	1166
	His Glu Asp Ala Ala Gly Gly Trp Gln Leu Val Ala Val Asp Val Asn	
	355 360 365	
	aag ccc cag gga cgc gcc cca gcc tgc ctc cag aaa atg atg cgg tca	1214
	Lys Pro Gln Gly Arg Ala Pro Cys Leu Gln Lys Met Met Arg Ser	
	370 375 380	
15	tcc gtt ttc cac atg ttc atc ctg agc atg gtg acc gtg gac gtg atc	1262
	Ser Val Phe His Met Phe Ile Leu Ser Met Val Thr Val Asp Val Ile	
	385 390 395	
	gtg gcg gct agc aac tac tac aaa gga gaa aac ttc agg agg cag tac	1310
	Val Ala Ala Ser Asn Tyr Tyr Lys Gly Glu Asn Phe Arg Arg Gln Tyr	
	400 405 410 415	
20	gac gag ttc tac ctg gcg gag gtg gct ttt aca gta ctt ttt gat ttg	1358
	Asp Glu Phe Tyr Leu Ala Glu Val Ala Phe Thr Val Leu Phe Asp Leu	
	420 425 430	
	gaa gca ctt ctg aag ata tgg tgt ttg gga ttt act gga tat att agc	1406
	Glu Ala Leu Leu Lys Ile Trp Cys Leu Gly Phe Thr Gly Tyr Ile Ser	
	435 440 445	
25	tca tct ctc cac aaa ttc gaa cta cta ctc gta att gga act act ctt	1454
	Ser Ser Leu His Lys Phe Glu Leu Leu Leu Val Ile Gly Thr Thr Leu	
	450 455 460	
	cat gta tac cca gat ctt tat cat tca caa ttc acg tac ttt cag gtt	1502
	His Val Tyr Pro Asp Leu Tyr His Ser Gln Phe Thr Tyr Phe Gln Val	
	465 470 475	
	ctc cga gta gtt cgg ctg att aag att tca cct gca tta gaa gac ttt	1550
	Leu Arg Val Val Arg Leu Ile Lys Ile Ser Pro Ala Leu Glu Asp Phe	
	480 485 490 495	
35	gtg tac aag ata ttt ggt cct gga aaa aag ctt ggg agt ttg gtt gta	1598
	Val Tyr Lys Ile Phe Gly Pro Gly Lys Lys Leu Gly Ser Leu Val Val	
	500 505 510	
	ttt act gcc agc ctc ttg att gtt atg tca gca att agt ttg cag atg	1646
	Phe Thr Ala Ser Leu Leu Ile Val Met Ser Ala Ile Ser Leu Gln Met	
	515 520 525	
40	ttc tgc ttt gty gaa gaa ctg gac aga ttt act acg ttt ccg agg gca	1694
	Phe Cys Phe Val Glu Glu Leu Asp Arg Phe Thr Thr Phe Pro Arg Ala	
	530 535 540	
	ttt atg tcc atg ttc cag atc ctc acc cag gaa gga tgg gtg gac gta	1742
	Phe Met Ser Met Phe Gln Ile Leu Thr Gln Glu Gly Trp Val Asp Val	
	545 550 555	
45	atg gac caa act cta aat gct gtg gga cat atg tgg gca ccc gtg gtt	1790
	Met Asp Gln Thr Leu Asn Ala Val Gly His Met Trp Ala Pro Val Val	
	560 565 570 575	
	gcc atc tat ttc att ctc tat cat ctt ttt gcc act ctg atc ctc ctg	1838
	Ala Ile Tyr Phe Ile Leu Tyr His Leu Phe Ala Thr Leu Ile Leu Leu	
	580 585 590	
50	agt ttg ttt gtt gct gtt att ttg gac aac tta gaa ctt gat gaa gac	1886
	Ser Leu Phe Val Ala Val Ile Leu Asp Asn Leu Glu Leu Asp Glu Asp	
	595 600 605	
	cta aag aag ctt aaa caa tta aag caa agt gaa gca aat gcg gac acc	1934
	Leu Lys Lys Leu Lys Gln Leu Lys Gln Ser Glu Ala Asn Ala Asp Thr	
	610 615 620	
55	aaa gaa aag ctc cct tta cgc ctg cga atc ttt gaa aaa ttt cca aac	1982
	Lys Glu Lys Leu Pro Leu Arg Leu Arg Ile Phe Glu Lys Phe Pro Asn	
	625 630 635	
60		
65		

ES 2 271 092 T3

	aga cct caa atg gtg aaa atc tca aag ctt cct tca gat ttt aca gtt	2030
	Arg Pro Gln Met Val Lys Ile Ser Lys Leu Pro Ser Asp Phe Thr Val	
	640 645 650 655	
5	cct aaa atc agg gag agt ttt atg aag cag ttt att gac cgc cag caa	2078
	Pro Lys Ile Arg Glu Ser Phe Met Lys Gln Phe Ile Asp Arg Gln Gln	
	660 665 670	
	cag gac aca tgt tgc ctc ctg aga agc ctc ccg acc acc tct tcc tcc	2126
	Gln Asp Thr Cys Cys Leu Leu Arg Ser Leu Pro Thr Thr Ser Ser Ser	
	675 680 685	
10	tcc tgc gac cac tcc aaa cgc tca gca att gag gac aac aaa tac atc	2174
	Ser Cys Asp His Ser Lys Arg Ser Ala Ile Glu Asp Asn Lys Tyr Ile	
	690 695 700	
	gac caa aaa ctt cgc aag tct gtt ttc agc atc agg gca agg aac ctt	2222
	Asp Gln Lys Leu Arg Lys Ser Val Phe Ser Ile Arg Ala Arg Asn Leu	
	705 710 715	
15	ctg gaa aag gag acc gca gtc act aaa atc tta aga gct tgc acc cga	2270
	Leu Glu Lys Glu Thr Ala Val Thr Lys Ile Leu Arg Ala Cys Thr Arg	
	720 725 730 735	
	cag cgc atg ctg agc gga tca ttt gag ggg cag ccc gca aag gag agg	2318
	Gln Arg Met Leu Ser Gly Ser Phe Glu Gly Gln Pro Ala Lys Glu Arg	
	740 745 750	
20	tca atc ctc agc gtg cag cat cat atc cgc caa gag cgc agg tca cta	2366
	Ser Ile Leu Ser Val Gln His His Ile Arg Gln Glu Arg Arg Ser Leu	
	755 760 765	
	aga cat gga tca aac agc cag agg atc agc agg gga aaa tct ctt gaa	2414
	Arg His Gly Ser Asn Ser Gln Arg Ile Ser Arg Gly Lys Ser Leu Glu	
	770 775 780	
25	act ttg act caa gat cat tcc aat aca gtg aga tat aga aat gca caa	2462
	Thr Leu Thr Gln Asp His Ser Asn Thr Val Arg Tyr Arg Asn Ala Gln	
	785 790 795	
	aga gaa gac agt gaa ata aag atg att cag gaa aaa aag gag caa gca	2510
	Arg Glu Asp Ser Glu Ile Lys Met Ile Gln Glu Lys Lys Glu Gln Ala	
	800 805 810 815	
30	gag atg aaa agg aaa gtg caa gaa gag gaa ctc aga gag aac cac cca	2558
	Glu Met Lys Arg Lys Val Gln Glu Glu Glu Leu Arg Glu Asn His Pro	
	820 825 830	
	tac ttc gat aag cca ctg ttc att gtc ggg cga gaa cac agg ttc aga	2606
	Tyr Phe Asp Lys Pro Leu Phe Ile Val Gly Arg Glu His Arg Phe Arg	
	835 840 845	
35	aac ttt tgc cgg gtg gtg gtc cga gca cgc ttc aac gca tct aaa aca	2654
	Asn Phe Cys Arg Val Val Val Arg Ala Arg Phe Asn Ala Ser Lys Thr	
	850 855 860	
	gac cct gtc aca gga gct gtg aaa aat aca aag tac cat caa ctt tat	2702
	Asp Pro Val Thr Gly Ala Val Lys Asn Thr Lys Tyr His Gln Leu Tyr	
	865 870 875	
40	gat ttg ctg gga ttg gtc act tac ctg gac tgg gtc atg atc atc gta	2750
	Asp Leu Leu Gly Leu Val Thr Tyr Leu Asp Trp Val Met Ile Ile Val	
	880 885 890 895	
45	acc atc tgc tct tgc att tcc atg atg ttt gag tcc ccg ttt cga aga	2798
	Thr Ile Cys Ser Cys Ile Ser Met Met Phe Glu Ser Pro Phe Arg Arg	
	900 905 910	
	gtc atg cat gca cct act ttg cag att gct gag tat gtg ttt gtg ata	2846
	Val Met His Ala Pro Thr Leu Gln Ile Ala Glu Tyr Val Phe Val Ile	
	915 920 925	
50	ttc atg agc att gag ctt aat ctg aag att atg gca gat ggc tta ttt	2894
	Phe Met Ser Ile Glu Leu Asn Leu Lys Ile Met Ala Asp Gly Leu Phe	
	930 935 940	
	ttc act cca act gct gtc atc agg gac ttc ggt gga gta atg gac ata	2942
	Phe Thr Pro Thr Ala Val Ile Arg Asp Phe Gly Val Met Asp Ile	
	945 950 955	
55	ttt ata tat ctt gtg agc ttg ata ttt ctt tgt tgg atg cct caa aat	2990
	Phe Ile Tyr Leu Val Ser Leu Ile Phe Leu Cys Trp Met Pro Gln Asn	
	960 965 970 975	

ES 2 271 092 T3

	gta cct gct gaa tgc gga gct cag ctt cta atg gtc ctt cgg tgc ctg	3038
	Val Pro Ala Glu Ser Gly Ala Gln Leu Met Val Leu Arg Cys Leu	
5	980 985 990	
	aga cct ctg cgc ata ttc aaa ctg gtg ccc cag atg agg aaa gtt gtt	3086
	Arg Pro Leu Arg Ile Phe Lys Leu Val Pro Gln Met Arg Lys Val Val	
	995 1000 1005	
	cga gaa ctt ttc agc ggc ttc aag gaa att ttt ttg gtc tcc att ctt	3134
	Arg Glu Leu Phe Ser Gly Phe Lys Glu Ile Phe Leu Val Ser Ile Leu	
10	1010 1015 1020	
	ttg ctg aca tta atg ctc gtt ttt gca agc ttt gga gtt cag ctt ttt	3182
	Leu Leu Thr Leu Met Leu Val Phe Ala Ser Phe Gly Val Gln Leu Phe	
	1025 1030 1035	
	gct gga aaa ctg gcc aag tgc aat gat ccc aac att att aga agg gaa	3230
	Ala Gly Lys Leu Ala Lys Cys Asn Asp Pro Asn Ile Ile Arg Arg Glu	
15	1040 1045 1050 1055	
	gat tgc aat ggc ata ttc aga att aat gtc agt gtg tca aag aac tta	3278
	Asp Cys Asn Gly Ile Phe Arg Ile Asn Val Ser Val Ser Lys Asn Leu	
	1060 1065 1070	
	aat tta aaa ttg agg cct gga gag aaa aaa cct gga ttt tgg gtg ccc	3326
	Asn Leu Lys Leu Arg Pro Gly Glu Lys Lys Pro Gly Phe Trp Val Pro	
20	1075 1080 1085	
	cgt gtt tgg gcg aat cct cgg aac ttt aat ttc gac aat gtg gga aac	3374
	Arg Val Trp Ala Asn Pro Arg Asn Phe Asn Phe Asp Asn Val Gly Asn	
	1090 1095 1100	
	gct atg ctg gcg ttg ttt gaa gtt ctc tcc ttg aaa ggc tgg gtg gaa	3422
	Ala Met Leu Ala Leu Phe Glu Val Leu Ser Leu Lys Gly Trp Val Glu	
25	1105 1110 1115	
	gtg aga gat gtt att att cat cgt gtg ggg ccg atc cat gga atc tat	3470
	Val Arg Asp Val Ile Ile His Arg Val Gly Pro Ile His Gly Ile Tyr	
	1120 1125 1130 1135	
	att cat gtt ttt gta ttc ctg ggt tgc atg att gga ctg acc ctt ttt	3518
	Ile His Val Phe Val Phe Leu Gly Cys Met Ile Gly Leu Thr Leu Phe	
	1140 1145 1150	
	gtt gga gta gtt att gct aat ttc aat gaa aac aag ggg acg gct ttg	3566
	Val Gly Val Val Ile Ala Asn Phe Asn Glu Asn Lys Gly Thr Ala Leu	
	1155 1160 1165	
	ctg acc gtc gat cag aga aga tgg gaa gac ctg aag agc cga ctg aag	3614
	Leu Thr Val Asp Gln Arg Arg Trp Glu Asp Leu Lys Ser Arg Leu Lys	
35	1170 1175 1180	
	atc gca cag cct ctt cat ctc ccg cct cgc ccg gat aat gat ggt ttt	3662
	Ile Ala Gln Pro Leu His Leu Pro Pro Arg Pro Asp Asn Asp Gly Phe	
	1185 1190 1195	
	aga gct aaa atg tat gac ata acc cag cat cca ttt ttt aag agg aca	3710
	Arg Ala Lys Met Tyr Asp Ile Thr Gln His Pro Phe Phe Lys Arg Thr	
40	1200 1205 1210 1215	
	atc gca tta ctc gtc ctg gcc cag tgc gtg ttg ctc tct gtc aag tgg	3758
	Ile Ala Leu Leu Val Leu Ala Gln Ser Val Leu Leu Ser Val Lys Trp	
	1220 1225 1230	
	gac gtc gag gac ccg gtg acc gta cct ttg gca aca atg tca gtt gtt	3806
	Asp Val Glu Asp Pro Val Thr Val Pro Leu Ala Thr Met Ser Val Val	
	1235 1240 1245	
	ttc acc ttc atc ttt gtt ctg gag gtt acc atg aag atc ata gca atg	3854
	Phe Thr Phe Ile Phe Val Leu Glu Val Thr Met Lys Ile Ile Ala Met	
50	1250 1255 1260	
	tcg cct gct ggc ttc tgg caa agc aga aga aac cga tac gat ctc ctg	3902
	Ser Pro Ala Gly Phe Trp Gln Ser Arg Arg Asn Arg Tyr Asp Leu Leu	
	1265 1270 1275	
	gtg acg tgc ctt ggc gtt gta tgg gtg gtg ctt cac ttt gcc ctc ctg	3950
	Val Thr Ser Leu Gly Val Val Trp Val Val Leu His Phe Ala Leu Leu	
55	1280 1285 1290 1295	
	aat gca tat act tac atg atg ggc gct tgt gtg att gta ttt agg ttt	3998
	Asn Ala Tyr Thr Tyr Met Met Gly Ala Cys Val Ile Val Phe Arg Phe	
	1300 1305 1310	

ES 2 271 092 T3

	ttc tcc atc tgt gga aaa cat gta acg cta aag atg ctc ctc ttg aca	4046
	Phe Ser Ile Cys Gly Lys His Val Thr Leu Lys Met Leu Leu Leu Thr	
5	1315 1320 1325	
	gtg gtc gtc agc atg tac aag agc ttc ttt atc ata gta ggc atg ttt	4094
	Val Val Val Ser Met Tyr Lys Ser Phe Phe Ile Ile Val Gly Met Phe	
	1330 1335 1340	
	ctc ttg ctg ctg tgt tac gct ttt gct gga gtt gtt tta ttt ggt act	4142
10	Leu Leu Leu Leu Cys Tyr Ala Phe Ala Gly Val Val Leu Phe Gly Thr	
	1345 1350 1355	
	gtg aaa tat ggg gag aat att aac agg cat gca aat ttt tct tct gct	4190
	Val Lys Tyr Gly Glu Asn Ile Asn Arg His Ala Asn Phe Ser Ser Ala	
	1360 1365 1370 1375	
15	gga aaa gct att acc gta ctg ttc cga att gtc aca ggt gaa gac tgg	4238
	Gly Lys Ala Ile Thr Val Leu Phe Arg Ile Val Thr Gly Glu Asp Trp	
	1380 1385 1390	
	aac aag att atg cat gac tgt atg gtt cag cct ccg ttt tgt act cca	4286
	Asn Lys Ile Met His Asp Cys Met Val Gln Pro Pro Phe Cys Thr Pro	
	1395 1400 1405	
20	gat gaa ttt aca tac tgg gca aca gac tgt gga aat tat gct ggg gca	4334
	Asp Glu Phe Thr Tyr Trp Ala Thr Asp Cys Gly Asn Tyr Ala Gly Ala	
	1410 1415 1420	
	ctt atg tat ttc tgt tca ttt tat gtc atc att gcc tac atc atg cta	4382
	Leu Met Tyr Phe Cys Ser Phe Tyr Val Ile Ile Ala Tyr Ile Met Leu	
	1425 1430 1435	
25	aat ctg ctt gta gcc ata att gtg gag aat ttc tcc ttg ttt tat tcc	4430
	Asn Leu Leu Val Ala Ile Ile Val Glu Asn Phe Ser Leu Phe Tyr Ser	
	1440 1445 1450 1455	
	act gag gag gac cag ctt tta agt tac aat gat ctt cgc cac ttt caa	4478
	Thr Glu Glu Asp Gln Leu Leu Ser Tyr Asn Asp Leu Arg His Phe Gln	
	1460 1465 1470	
30	atm ata tgg aac atg gtg gat gat aaa aga gag ggg gtg atc ccc acg	4526
	Ile Ile Trp Asn Met Val Asp Asp Lys Arg Glu Gly Val Ile Pro Thr	
	1475 1480 1485	
	ttc cgc gtc aag ttc ctg ctg cgg cta ctg cgt ggg agg ctg gag gtg	4574
	Phe Arg Val Lys Phe Leu Leu Arg Leu Leu Arg Gly Arg Leu Glu Val	
	1490 1495 1500	
35	gac ctg gac aag gac aag ctc ctg ttt aag cac atg tgc tac gaa atg	4622
	Asp Leu Asp Lys Asp Lys Leu Phe Lys His Met Cys Tyr Glu Met	
	1505 1510 1515	
	gag agg ctc cac aat ggc ggc gac gtc acc ttc cat gat gtc ctg agc	4670
	Glu Arg Leu His Asn Gly Gly Asp Val Thr Phe His Asp Val Leu Ser	
	1520 1525 1530 1535	
	atg ctt tca tac cgg tcc gtg gac atc cgg aag agc ttg cag ctg gag	4718
	Met Leu Ser Tyr Arg Ser Val Asp Ile Arg Lys Ser Leu Gln Leu Glu	
	1540 1545 1550	
	gaa ctc ctg gcg agg gag cag ctg gag tac acc ata gag gag gag gtg	4766
	Glu Leu Leu Ala Arg Glu Gln Leu Glu Tyr Thr Ile Glu Glu Glu Val	
	1555 1560 1565	
45	gcc aag cag acc atc cgc atg tgg ctc aag aag tgc ctg aag cgc atc	4814
	Ala Lys Gln Thr Ile Arg Met Trp Leu Lys Lys Cys Leu Lys Arg Ile	
	1570 1575 1580	
	aga gct aaa cag cag cag tgc tgc agt atc atc cac agc ctg aga gag	4862
	Arg Ala Lys Gln Gln Gln Ser Cys Ser Ile Ile His Ser Leu Arg Glu	
	1585 1590 1595	
	agt cag cag caa gag ctg agc cgg ttt ctg aac ccg ccc agc atc gag	4910
	Ser Gln Gln Gln Glu Leu Ser Arg Phe Leu Asn Pro Pro Ser Ile Glu	
	1600 1605 1610 1615	
55	acc acc cag ccc agt gag gac acg aat gcc aac agt cag gac aac agc	4958
	Thr Thr Gln Pro Ser Glu Asp Thr Asn Ala Asn Ser Gln Asp Asn Ser	
	1620 1625 1630	
	atg caa cct gag aca agc agc cag cag cag ctc ctg agc ccc acg ctg	5006
	Met Gln Pro Glu Thr Ser Ser Gln Gln Gln Leu Leu Ser Pro Thr Leu	
	1635 1640 1645	
60		
65		

ES 2 271 092 T3

```

tcg gat cga gga gga agt cgg caa gat gca gcc gac gca ggg aaa ccc 5054
ser asp arg gly gly ser arg gln asp ala ala asp ala gly lys pro
      1650      1655      1660
cag agg aaa ttt ggg cag tgg cgt ctg ccc tca gcc cca aaa cca ata 5102
gln arg lys phe gly gln trp arg leu pro ser ala pro lys pro ile
      1665      1670      1675
agc cat tca gtg tcc tca gtc aac tta cgg ttt gga gga agg aca acc 5150
ser his ser val ser ser val asn leu arg phe gly gly arg thr thr
      1680      1685      1690      1695
atg aaa tct gtc gtg tgc aaa atg aac ccc atg act gac gcg gct tcc 5198
met lys ser val val cys lys met asn pro met thr asp ala ala ser
      1700      1705      1710
tgc ggt tct gaa gtt aag aag tgg tgg acc cgg cag ctg act gtg gag 5246
cys gly ser glu val lys lys trp trp thr arg gln leu thr val glu
      1715      1720      1725
agc gac gaa agt ggg gat gac ctt ctg gat att tag gtggatgtca 5292
ser asp glu ser gly asp asp leu leu asp ile *
      1730      1735
atgtagatga atttctagtgt gtggaaaccg ttttctaata atgtccttga ttgtccagtgt 5352
agcaatctgt aattgatcta taactgaatt ccagcttctc acaagatggt tataaattga 5412
ttttcatcct gccacagaaa ggcataagct gcattgtatga tgggttacta tcaatcattg 5472
ctcaaaaaaa tttttgtata atgacagtac tgataatatt agaaatgata ccgcaagcaa 5532
atgtatatca cttaaaaaatg tcatatatctc tgtctgcgta aactaaggta tatattcata 5592
tgtgtctctaa tgcagtatta tcaccgcccc gcaaaagagt gctaagccca aagtggctga 5652
tatttagggt acaggggtta tagcttttagt tcacatcttt cccatttcca ctgaaatat 5712
ttctcttgag agaatttatt atttatgatt gatctgaaaa ggtcagcact gaacttatgc 5772
taaaatgata gtagttttac aaactacaga ttctgaattt taaaaagtat cttctttttc 5832
tcgtgtttata tttttaaata tacacaagac atttggtgac cagaacaagt tgatttctgt 5892
cctcagttat gttaatgaaa ctggtgcctc cttctaagaa aattgtgtgt gcaagcacca 5952
ggcaaagaaa tggactcagg atgcttagcg gtttaaaaca aacctgtaga taaatcactt 6012
gagtgacata gttgcgcaaa gatgttaagt ttcttaagaa accttttaat aactgagttt 6072
agcaaaaaga ataaaactat atagctcaat ttatttataa aaatctttgc atgtgtgatg 6132
ttatcattgg cttcatttct taccgaagg atgtctgttt tgccataaat cagcagagtc 6192
atttcattct ggggtatcct aacacacat tgctatgtta gatttgaaat gacatctctg 6252
ttaaaagaat cttctatgga aataatggtg ccttgcaaaa tcttctctg aactcacagg 6312
ttagggatca cacaacttac ttaatcgttt ttgtttttt ttttttttcc ttatatgtca 6372
atggcccatg tcctccggga aaattagaaa agcaaaatga ttacaaagtg ctgttagatt 6432
tcttggtgctg ggccagccaa gtagaagtgg acttgacttg gacctttaac tattttatta 6492
cagattggac atttgctgtt cagatgtttt ttaacagagg gattatctca gaatcctgtg 6552
acctccagggt tgttttataa tctatttttc tctatttaac attcctcaga tagataggca 6612
aataggacat tccttctgtg tcacagaagt atcgtggtag tggcagtcct cagtttatat 6672
gattcattgt aactatgaga taaagaacaa ccagtcattg ggccaaaagg atttagatttg 6732
atttgatgtt cacttggagt ttactttttg tacatacaag ataaaataaa tattggattt 6792
gtaaaat 6799

```

<210> 5
 <211> 1738
 <212> PRT
 <213> *Homo sapien*
 <400> 5

```

Met Leu Lys Arg Lys Gln Ser Ser Arg Val Glu Ala Gln Pro Val Thr
1      5      10      15
Asp Phe Gly Pro Asp Glu Ser Leu Ser Asp Asn Ala Asp Ile Leu Trp
      20      25      30
Ile Asn Lys Pro Trp Val His Ser Leu Leu Arg Ile Cys Ala Ile Ile
      35      40      45
Ser Val Ile Ser Val Cys Met Asn Thr Pro Met Thr Phe Glu His Tyr
      50      55      60
Pro Pro Leu Gln Tyr Val Thr Phe Thr Leu Asp Thr Leu Leu Met Phe
      65      70      75      80
Leu Tyr Thr Ala Glu Met Ile Ala Lys Met His Ile Arg Gly Ile Val
      85      90      95

```

ES 2 271 092 T3

5 Lys Gly Asp Ser Ser Tyr Val Lys Asp Arg Trp Cys Val Phe Asp Gly
 100 105 110
 Phe Met Val Phe Cys Leu Trp Val Ser Leu Val Leu Gln Val Phe Glu
 115 120 125
 Ile Ala Asp Ile Val Asp Gln Met Ser Pro Trp Gly Met Leu Arg Ile
 130 135 140
 Pro Arg Pro Leu Ile Met Ile Arg Ala Phe Arg Ile Tyr Phe Arg Phe
 145 150 155
 10 Glu Leu Pro Arg Thr Arg Ile Thr Asn Ile Leu Lys Arg Ser Gly Glu
 165 170 175
 Gln Ile Trp Ser Val Ser Ile Phe Leu Leu Phe Phe Leu Leu Leu Tyr
 180 185 190
 15 Gly Ile Leu Gly Val Gln Met Phe Gly Thr Phe Thr Tyr His Cys Val
 195 200 205
 Val Asn Asp Thr Lys Pro Gly Asn Val Thr Trp Asn Ser Leu Ala Ile
 210 215 220
 Pro Asp Thr His Cys Ser Pro Glu Leu Glu Glu Gly Tyr Gln Cys Pro
 225 230 235 240
 20 Pro Gly Phe Lys Cys Met Asp Leu Glu Asp Leu Gly Leu Ser Arg Gln
 245 250 255
 Glu Leu Gly Tyr Ser Gly Phe Asn Glu Ile Gly Thr Ser Ile Phe Thr
 260 265 270
 Val Tyr Glu Ala Ala Ser Gln Glu Gly Trp Val Phe Leu Met Tyr Arg
 275 280 285
 25 Ala Ile Asp Ser Phe Pro Arg Trp Arg Ser Tyr Phe Tyr Phe Ile Thr
 290 295 300
 Leu Ile Phe Phe Leu Ala Trp Leu Val Lys Asn Val Phe Ile Ala Val
 305 310 315 320
 Ile Ile Glu Thr Phe Ala Glu Ile Arg Val Gln Phe Gln Gln Met Trp
 325 330 335
 30 Gly Ser Arg Ser Ser Thr Thr Ser Thr Ala Thr Thr Gln Met Phe His
 340 345 350
 Glu Asp Ala Ala Gly Gly Trp Gln Leu Val Ala Val Asp Val Asn Lys
 355 360 365
 35 Pro Gln Gly Arg Ala Pro Ala Cys Leu Gln Lys Met Met Arg Ser Ser
 370 375 380
 Val Phe His Met Phe Ile Leu Ser Met Val Thr Val Asp Val Ile Val
 385 390 395 400
 Ala Ala Ser Asn Tyr Tyr Lys Gly Glu Asn Phe Arg Arg Gln Tyr Asp
 405 410 415
 Glu Phe Tyr Leu Ala Glu Val Ala Phe Thr Val Leu Phe Asp Leu Glu
 420 425 430
 40 Ala Leu Leu Lys Ile Trp Cys Leu Gly Phe Thr Gly Tyr Ile Ser Ser
 435 440 445
 Ser Leu His Lys Phe Glu Leu Leu Val Ile Gly Thr Thr Leu His
 450 455 460
 45 Val Tyr Pro Asp Leu Tyr His Ser Gln Phe Thr Tyr Phe Gln Val Leu
 465 470 475 480
 Arg Val Val Arg Leu Ile Lys Ile Ser Pro Ala Leu Glu Asp Phe Val
 485 490 495
 Tyr Lys Ile Phe Gly Pro Gly Lys Lys Leu Gly Ser Leu Val Val Phe
 500 505 510
 50 Thr Ala Ser Leu Leu Ile Val Met Ser Ala Ile Ser Leu Gln Met Phe
 515 520 525
 Cys Phe Val Glu Glu Leu Asp Arg Phe Thr Thr Phe Pro Arg Ala Phe
 530 535 540
 Met Ser Met Phe Gln Ile Leu Thr Gln Glu Gly Trp Val Asp Val Met
 545 550 555 560
 55 Asp Gln Thr Leu Asn Ala Val Gly His Met Trp Ala Pro Val Val Ala
 565 570 575
 Ile Tyr Phe Ile Leu Tyr His Leu Phe Ala Thr Leu Ile Leu Leu Ser
 580 585 590
 Leu Phe Val Ala Val Ile Leu Asp Asn Leu Glu Leu Asp Glu Asp Leu

ES 2 271 092 T3

		595				600				605				
		Lys Lys Leu Lys Gln Leu Lys Gln Ser Glu Ala Asn Ala Asp Thr Lys												
5		610				615				620				
		Glu Lys Leu Pro Leu Arg Leu Arg Ile Phe Glu Lys Phe Pro Asn Arg												
		625				630				635				640
		Pro Gln Met Val Lys Ile Ser Lys Leu Pro Ser Asp Phe Thr Val Pro												
						645				650				655
10		Lys Ile Arg Glu Ser Phe Met Lys Gln Phe Ile Asp Arg Gln Gln Gln												
						660				665				670
		Asp Thr Cys Cys Leu Leu Arg Ser Leu Pro Thr Thr Ser Ser Ser Ser												
						675				680				685
		Cys Asp His Ser Lys Arg Ser Ala Ile Glu Asp Asn Lys Tyr Ile Asp												
						690				695				700
15		Gln Lys Leu Arg Lys Ser Val Phe Ser Ile Arg Ala Arg Asn Leu Leu												
		705				710				715				720
		Glu Lys Glu Thr Ala Val Thr Lys Ile Leu Arg Ala Cys Thr Arg Gln												
						725				730				735
		Arg Met Leu Ser Gly Ser Phe Glu Gly Gln Pro Ala Lys Glu Arg Ser												
						740				745				750
20		Ile Leu Ser Val Gln His His Ile Arg Gln Glu Arg Arg Ser Leu Arg												
						755				760				765
		His Gly Ser Asn Ser Gln Arg Ile Ser Arg Gly Lys Ser Leu Glu Thr												
						770				775				780
		Leu Thr Gln Asp His Ser Asn Thr Val Arg Tyr Arg Asn Ala Gln Arg												
		785				790				795				800
25		Glu Asp Ser Glu Ile Lys Met Ile Gln Glu Lys Lys Glu Gln Ala Glu												
						805				810				815
		Met Lys Arg Lys Val Gln Glu Glu Glu Leu Arg Glu Asn His Pro Tyr												
						820				825				830
		Phe Asp Lys Pro Leu Phe Ile Val Gly Arg Glu His Arg Phe Arg Asn												
						835				840				845
30		Phe Cys Arg Val Val Val Arg Ala Arg Phe Asn Ala Ser Lys Thr Asp												
						850				855				860
		Pro Val Thr Gly Ala Val Lys Asn Thr Lys Tyr His Gln Leu Tyr Asp												
		865				870				875				880
		Leu Leu Gly Leu Val Thr Tyr Leu Asp Trp Val Met Ile Ile Val Thr												
						885				890				895
35		Ile Cys Ser Cys Ile Ser Met Met Phe Glu Ser Pro Phe Arg Arg Val												
						900				905				910
		Met His Ala Pro Thr Leu Gln Ile Ala Glu Tyr Val Phe Val Ile Phe												
						915				920				925
40		Met Ser Ile Glu Leu Asn Leu Lys Ile Met Ala Asp Gly Leu Phe Phe												
						930				935				940
		Thr Pro Thr Ala Val Ile Arg Asp Phe Gly Gly Val Met Asp Ile Phe												
						945				950				955
		Ile Tyr Leu Val Ser Leu Ile Phe Leu Cys Trp Met Pro Gln Asn Val												
						965				970				975
45		Pro Ala Glu Ser Gly Ala Gln Leu Leu Met Val Leu Arg Cys Leu Arg												
						980				985				990
		Pro Leu Arg Ile Phe Lys Leu Val Pro Gln Met Arg Lys Val Val Arg												
						995				1000				1005
		Glu Leu Phe Ser Gly Phe Lys Glu Ile Phe Leu Val Ser Ile Leu Leu												
						1010				1015				1020
50		Leu Thr Leu Met Leu Val Phe Ala Ser Phe Gly Val Gln Leu Phe Ala												
						1025				1030				1035
		Gly Lys Leu Ala Lys Cys Asn Asp Pro Asn Ile Ile Arg Arg Glu Asp												
						1045				1050				1055
		Cys Asn Gly Ile Phe Arg Ile Asn Val Ser Val Ser Lys Asn Leu Asn												
						1060				1065				1070
55		Leu Lys Leu Arg Pro Gly Glu Lys Lys Pro Gly Phe Trp Val Pro Arg												
						1075				1080				1085
		Val Trp Ala Asn Pro Arg Asn Phe Asn Phe Asp Asn Val Gly Asn Ala												
						1090				1095				1100

ES 2 271 092 T3

Met Leu Ala Leu Phe Glu Val Leu Ser Leu Lys Gly Trp Val Glu Val
 1105 1110 1115 1120
 Arg Asp Val Ile Ile His Arg Val Gly Pro Ile His Gly Ile Tyr Ile
 1125 1130 1135
 His Val Phe Val Phe Leu Gly Cys Met Ile Gly Leu Thr Leu Phe Val
 1140 1145 1150
 Gly Val Val Ile Ala Asn Phe Asn Glu Asn Lys Gly Thr Ala Leu Leu
 1155 1160 1165
 Thr Val Asp Gln Arg Arg Trp Glu Asp Leu Lys Ser Arg Leu Lys Ile
 1170 1175 1180
 Ala Gln Pro Leu His Leu Pro Pro Arg Pro Asp Asn Asp Gly Phe Arg
 1185 1190 1195 1200
 Ala Lys Met Tyr Asp Ile Thr Gln His Pro Phe Phe Lys Arg Thr Ile
 1205 1210 1215
 Ala Leu Leu Val Leu Ala Gln Ser Val Leu Leu Ser Val Lys Trp Asp
 1220 1225 1230
 Val Glu Asp Pro Val Thr Val Pro Leu Ala Thr Met Ser Val Val Phe
 1235 1240 1245
 Thr Phe Ile Phe Val Leu Glu Val Thr Met Lys Ile Ile Ala Met Ser
 1250 1255 1260
 Pro Ala Gly Phe Trp Gln Ser Arg Arg Asn Arg Tyr Asp Leu Leu Val
 1265 1270 1275 1280
 Thr Ser Leu Gly Val Val Trp Val Val Leu His Phe Ala Leu Leu Asn
 1285 1290 1295
 Ala Tyr Thr Tyr Met Met Gly Ala Cys Val Ile Val Phe Arg Phe Phe
 1300 1305 1310
 Ser Ile Cys Gly Lys His Val Thr Leu Lys Met Leu Leu Leu Thr Val
 1315 1320 1325
 Val Val Ser Met Tyr Lys Ser Phe Phe Ile Ile Val Gly Met Phe Leu
 1330 1335 1340
 Leu Leu Leu Cys Tyr Ala Phe Ala Gly Val Val Leu Phe Gly Thr Val
 1345 1350 1355 1360
 Lys Tyr Gly Glu Asn Ile Asn Arg His Ala Asn Phe Ser Ser Ala Gly
 1365 1370 1375
 Lys Ala Ile Thr Val Leu Phe Arg Ile Val Thr Gly Glu Asp Trp Asn
 1380 1385 1390
 Lys Ile Met His Asp Cys Met Val Gln Pro Pro Phe Cys Thr Pro Asp
 1395 1400 1405
 Glu Phe Thr Tyr Trp Ala Thr Asp Cys Gly Asn Tyr Ala Gly Ala Leu
 1410 1415 1420
 Met Tyr Phe Cys Ser Phe Tyr Val Ile Ile Ala Tyr Ile Met Leu Asn
 1425 1430 1435 1440
 Leu Leu Val Ala Ile Ile Val Glu Asn Phe Ser Leu Phe Tyr Ser Thr
 1445 1450 1455
 Glu Glu Asp Gln Leu Leu Ser Tyr Asn Asp Leu Arg His Phe Gln Ile
 1460 1465 1470
 Ile Trp Asn Met Val Asp Asp Lys Arg Glu Gly Val Ile Pro Thr Phe
 1475 1480 1485
 Arg Val Lys Phe Leu Leu Arg Leu Leu Arg Gly Arg Leu Glu Val Asp
 1490 1495 1500
 Leu Asp Lys Asp Lys Leu Phe Lys His Met Cys Tyr Glu Met Glu
 1505 1510 1515 1520
 Arg Leu His Asn Gly Gly Asp Val Thr Phe His Asp Val Leu Ser Met
 1525 1530 1535
 Leu Ser Tyr Arg Ser Val Asp Ile Arg Lys Ser Leu Gln Leu Glu Glu
 1540 1545 1550
 Leu Leu Ala Arg Glu Gln Leu Glu Tyr Thr Ile Glu Glu Glu Val Ala
 1555 1560 1565
 Lys Gln Thr Ile Arg Met Trp Leu Lys Lys Cys Leu Lys Arg Ile Arg
 1570 1575 1580
 Ala Lys Gln Gln Gln Ser Cys Ser Ile Ile His Ser Leu Arg Glu Ser
 1585 1590 1595 1600
 Gln Gln Gln Glu Leu Ser Arg Phe Leu Asn Pro Pro Ser Ile Glu Thr

ES 2 271 092 T3

5 1605 1610 1615
 Thr Gln Pro Ser Glu Asp Thr Asn Ala Asn Ser Gln Asp Asn Ser Met
 1620 1625 1630
 10 Gln Pro Glu Thr Ser Ser Gln Gln Gln Leu Leu Ser Pro Thr Leu Ser
 1635 1640 1645
 Asp Arg Gly Gly Ser Arg Gln Asp Ala Ala Asp Ala Gly Lys Pro Gln
 1650 1655 1660
 Arg Lys Phe Gly Gln Trp Arg Leu Pro Ser Ala Pro Lys Pro Ile Ser
 1665 1670 1675 1680
 15 His Ser Val Ser Ser Val Asn Leu Arg Phe Gly Gly Arg Thr Thr Met
 1685 1690 1695
 Lys Ser Val Val Cys Lys Met Asn Pro Met Thr Asp Ala Ala Ser Cys
 1700 1705 1710
 20 Gly Ser Glu Val Lys Lys Trp Trp Thr Arg Gln Leu Thr Val Glu Ser
 1715 1720 1725
 Asp Glu Ser Gly Asp Asp Leu Leu Asp Ile
 1730 1735

20 <210> 6
 <211> 453
 <212> DNA
 <213> *Homo sapiens*
 25 <220>
 <221> alelo
 <222> 105
 30 <223> 99-62617-105: base polimórfica G o C
 <220>
 <221> unión_misc
 <222> 93..117
 35 <223> 99-62617-105.sonda
 <220>
 <221> unión_cebador
 <222> 86..104
 40 <223> 99-62617-105.mis
 <220>
 <221> unión_cebador
 <222> 106..124
 45 <223> 99-62617-105.complementario de mis
 <220>
 <221> unión_cebador
 50 <222> 1..20
 <223> 99-62617.pu
 <220>
 55 <221> unión_cebador
 <222> 435..453
 <223> 99-62617.complementario de rp

60

65

ES 2 271 092 T3

<400> 6

	tgaggatgag	gggcaaacac	agaggaagaa	tctgggcccc	atgagggtcaa	cagtgaagctg	60
	ctaaaattaa	cctgaaattt	ccctgctggg	agacattgtg	ttgtsaaata	gttttataacc	120
5	atcttttact	aggttttcaa	ttaccagcag	ttggatgcac	cctgtgatcc	aatggataca	180
	aatgagattt	agaagtgcac	tttaacttaa	ataaaataaa	tagccttgtc	taatgtatta	240
	acgagaaaga	catttttgtc	ttatttatat	gtcttatgtt	ctttgaaatg	aaataaatga	300
	ccatatatgc	ttgtaaagag	agggagtcta	cagatatattg	gagaaaggac	attctgggtg	360
	gagagaacac	agagtgcaca	ggacttgaag	ttaaagtgca	tccagcagtc	tcaaggaaga	420
10	gtaaaggggt	ccatgtgagt	ggaataaggt	gag			453

<210> 7

<211> 18

15 <212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Cebador oligonucleotídico PU para la secuenciación

<400> 7

tgtaaacga cggccagt

18

25 <210> 8

<211> 18

<212> DNA

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador oligonucleotídico RP para la secuenciación

<400> 8

35 caggaaacag ctatgacc

18

40

45

50

55

60

65