

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 371 870**

51 Int. Cl.:
A61K 39/00 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
C12N 1/21 (2006.01)
C12N 15/12 (2006.01)
C12N 15/70 (2006.01)
C12N 15/74 (2006.01)
C12N 15/85 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03726007 .2**
96 Fecha de presentación: **28.02.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1487482**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **22.12.2004**

54 Título: **VACUNA DE ADN CONTRA LAS CÉLULAS ENDOTELIALES PROLIFERATIVAS Y MÉTODOS DE UTILIZACIÓN DE LA MISMA.**

30 Prioridad:
02.03.2002 US 90183

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
10.01.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
10.01.2012

73 Titular/es:
**THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE
10550 NORTH TORREY PINES ROAD
LA JOLLA, CA 92037, US**

72 Inventor/es:
**REISFELD, Ralph, A.;
NIETHAMMER, Andreas, G. y
XIANG, Rong**

74 Agente: **Curell Aguilá, Mireya**

ES 2 371 870 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

Vacuna de ADN contra las células endoteliales proliferativas y métodos de utilización de la misma.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a vacunas de ácido desoxirribonucleico (ADN) que codifican moléculas adecuadas eficaces para provocar una respuesta inmunitaria contra las células endoteliales proliferativas. Más particularmente, la presente invención se refiere a vacunas de ADN que codifican el receptor del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF). La vacuna de ADN se puede utilizar para inhibir la proliferación de las células endoteliales vasculares, el crecimiento tumoral y la angiogénesis.

Antecedentes de la invención

15 Las vacunas se han utilizado para proporcionar una protección de larga duración contra una serie de enfermedades mediante la administración muy limitada de un agente profiláctico que estimula la destrucción de los patógenos de dicha enfermedad por parte del sistema inmunitario del organismo antes de que los mismos puedan proliferar y provocar un efecto patológico. En Bernard R. Glick y Jack J. Pasternak, *Molecular Biotechnology, Principles and Applications of Recombinant DNA*, 2ª edición, ASM Press, pág. 253-276 (1998), se describen diversos aspectos sobre las vacunas y la vacunación.

La vacunación es un medio para inducir al sistema inmunitario del propio cuerpo a buscar y destruir un agente infeccioso antes de que el mismo provoque una respuesta patológica. Por lo general, las vacunas consisten en agentes infecciosos (virus o bacterias) vivos, aunque atenuados, o en una forma muerta de los mismos. Una vacuna compuesta por una bacteria o un virus vivos debe ser necesariamente apatógena. Por lo general, un cultivo bacteriano o vírico se atenúa (debilita) mediante un tratamiento físico o químico. Aunque el agente ya no es virulento, todavía puede provocar una respuesta inmunitaria en el individuo tratado con la vacuna.

La respuesta inmunitaria es provocada por antígenos, ya sean macromoléculas específicas o un agente infeccioso. Normalmente, dichos antígenos son proteínas, polisacáridos, lípidos o glucolípidos que son reconocidos como "extraños" por los linfocitos conocidos como linfocitos B y linfocitos T. La exposición de estos dos tipos de linfocitos a un antígeno provoca una rápida respuesta de división y diferenciación celular, lo que da lugar a la formación de clones de los linfocitos sometidos a dicha exposición. Los linfocitos B producen células plasmáticas que, a su vez, producen proteínas llamadas anticuerpos (Ac) que se unen selectivamente a los antígenos presentes en el agente infeccioso, neutralizando o desactivando de este modo el patógeno (inmunidad humoral). En algunos casos, la respuesta de los linfocitos B requiere la ayuda de linfocitos T CD4 cooperadores.

El clon de linfocitos T especializados que se forma como respuesta a la exposición al antígeno es un linfocito T citotóxico (CTL) que puede unirse a los agentes patógenos y tejidos que presentan el antígeno y eliminarlos (inmunidad celular o mediada por células). En algunos casos, una célula presentadora de antígeno (APC), tal como una célula dendrítica, envuelve el patógeno u otra célula extraña por endocitosis. A continuación, dicha APC procesa los antígenos de las células y los presenta en forma de complejo molécula de histocompatibilidad-péptido al receptor de linfocitos T (TCR) de los CTL, lo que estimula una respuesta inmunitaria.

45 En general, la inmunidad humoral caracterizada por la formación de anticuerpos específicos es la más eficaz contra las infecciones bacterianas agudas y las infecciones víricas recurrentes, mientras que la inmunidad celular es la más efectiva contra las infecciones víricas, las infecciones crónicas por bacterias intracelulares y las infecciones por hongos. Es conocido asimismo que la inmunidad celular protege frente a algunos cánceres y es responsable del rechazo en trasplantes de órganos.

Los anticuerpos de los antígenos de infecciones previas se siguen detectando en la sangre durante períodos muy prolongados, proporcionando unos medios para determinar la exposición anterior a un patógeno. Tras la exposición repetida al mismo patógeno, el sistema inmunitario previene eficazmente la reinfección mediante la eliminación del agente patógeno antes de que pueda proliferar y producir una respuesta patógena.

A veces, la misma respuesta inmunitaria provocada por un agente patógeno se puede producir mediante un agente apatógeno que presenta el mismo antígeno que el patógeno. De este modo, el sujeto puede resultar protegido frente a la posterior exposición a dicho patógeno sin haber tenido que combatir previamente su infección.

60 Sin embargo, no todos los agentes infecciosos son fáciles de cultivar e inactivar, lo que resulta necesario para la formación de una vacuna. Las técnicas modernas de ADN recombinante han permitido la obtención de nuevas vacunas por manipulación genética con el objetivo de tratar de superar esta limitación. Se pueden crear agentes infecciosos que carecen de los genes patógenos, lo que permite disponer de una forma viva no virulenta del organismo para utilizarla como vacuna. También es posible manipular un organismo relativamente apatógeno, tal como *E. coli*, para que presente los antígenos de superficie celular de un portador patógeno. El sistema inmunitario del individuo tratado con un portador transformado de este tipo es "engañado" para que genere anticuerpos contra el

patógeno. Las proteínas antigénicas de un agente patógeno se pueden manipular y expresar en una especie apatógena y también se pueden aislar y purificar para producir una "vacuna de subunidades". Las vacunas de subunidades presentan la ventaja de ser estables, seguras y químicamente bien definidas; sin embargo, su producción puede tener un coste prohibitivo.

5 En los últimos años ha surgido un nuevo enfoque en el ámbito de las vacunas que se ha bautizado de forma genérica como "inmunización genética". En dicho enfoque, se inserta de manera operativa un gen que codifica un antígeno de un agente patógeno en las células del individuo que se quiere inmunizar. Las células tratadas se transforman y producen las proteínas antigénicas del patógeno. A continuación, dichos antígenos producidos *in vivo* provocan la respuesta inmunitaria deseada en el huésped. El material genético utilizado en estas vacunas genéticas puede ser un constructo de ADN o de ARN. A menudo, el polinucleótido que codifica el antígeno se introduce junto con otras secuencias polinucleótidas promotoras a fin de favorecer la inserción, replicación o expresión del gen.

15 Las vacunas de ADN que codifican genes de antígenos se pueden introducir en las células huésped del individuo mediante diversos sistemas de expresión. Los mismos comprenden sistemas de expresión procarióticos, de mamíferos y de levaduras. Por ejemplo, un enfoque consiste en utilizar un vector vírico, tal como un virus vaccinia que incorpora el nuevo material genético, para inocular dicho material en las células huésped. Alternativamente, el material genético se puede incorporar en un vector o se puede administrar directamente a las células huésped como un polinucleótido "desnudo", es decir, simplemente como ADN purificado. Además, el ADN se puede transfectar de manera estable en bacterias atenuadas, tales como la *Salmonella typhimurium*. Cuando un paciente se vacuna por vía oral con la *Salmonella* transformada, las bacterias son transportadas a las placas de Peyer del intestino (es decir, a tejidos linfoides secundarios), que estimulan a continuación una respuesta inmunitaria.

25 Las vacunas de ADN ofrecen una oportunidad de inmunización frente a estados patológicos no causados por patógenos tradicionales, tales como las enfermedades genéticas y el cáncer. Por lo general, en una vacuna genética contra el cáncer se deben aislar antígenos de un tipo específico de células tumorales y a continuación introducirlos en la vacuna. Así, una vacuna general eficaz contra una serie de cánceres puede implicar el desarrollo de numerosas vacunas individuales para cada tipo de célula cancerosa frente al cual se pretende inmunizar al individuo.

30 Un enfoque general en el tratamiento de tumores consiste en la administración de compuestos inhibidores de la angiogénesis en pacientes que presentan tumores en crecimiento. La angiogénesis es el proceso por el cual se forman nuevos capilares y vasos sanguíneos. Se trata de un proceso importante en el desarrollo embrionario y en el crecimiento, reparación y regeneración de tejidos. Además de en estos procesos normales y esenciales, la angiogénesis también participa en muchos procesos patológicos anormales, tales como crecimiento tumoral, metástasis tumorales y enfermedades oculares vasculares como la retinopatía diabética.

35 La angiogénesis implica una serie de procesos interdependientes, entre los cuales se incluyen (a) la activación de células endoteliales vasculares, (b) la descomposición de proteínas de la matriz celular por parte de las células endoteliales que expresan actividad de proteasa, (c) la migración de las células endoteliales a los sitios de crecimiento potencial, (d) la proliferación de las células endoteliales y (e) la formación de tubos por diferenciación de las células endoteliales. Cada uno de estos procesos se ve afectado por una serie de sustancias promotoras, tales como el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y los factores de crecimiento del endotelio vascular (VEGF). Los factores de crecimiento del endotelio vascular (denominados conjuntamente VEGF) tienen un papel esencial en el crecimiento y la diferenciación de las células endoteliales. El VEGF actúa enlazándose a tirosina-cinasas receptoras presentes en las membranas de las células endoteliales, que a su vez inician una cascada de reacciones de transducción de señales que estimulan el crecimiento celular.

40 Se ha propuesto la inhibición de la angiogénesis patológica como tratamiento de los tumores. Véase, por ejemplo, Folkman *et al*, *Science*, 221, 719, (1983). El concepto básico de este tratamiento es que, dado que los tumores necesitan cierta vascularización para crecer, la inhibición de la formación de vasos sanguíneos mediante la administración de compuestos inhibidores de la angiogénesis impedirá el crecimiento del tumor interrumpiendo el suministro de sangre. Una desventaja de este enfoque es que los inhibidores de la angiogénesis se deben administrar de forma relativamente continua para impedir el crecimiento tumoral. La interrupción de la administración del inhibidor puede provocar la reanudación del crecimiento del tumor. Una vacuna eficaz en la inhibición de la angiogénesis constituiría un interesante agente preventivo contra la formación de tumores.

50 En Crystal R.G., *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 43 (supl.), S90, (1999), se describen estrategias de terapia génica *in vivo* y *ex vivo* para el tratamiento de tumores utilizando vectores de transferencia génica de adenovirus.

60 El documento WO 99/45018 describe la inmunización activa frente a antígenos asociados a angiogénesis.

Persiste la necesidad de descubrir una vacuna generalmente eficaz para la inmunización contra la angiogénesis que también pueda inhibir el crecimiento de una serie de tumores sin la necesidad de dirigirse a antígenos tumorales específicos. La presente invención satisface esta necesidad.

Sumario de la invención

5 La presente invención da a conocer una vacuna de ADN eficaz para provocar una respuesta inmunitaria contra las células endoteliales proliferativas, que comprende un constructo de ADN que codifica de manera operativa una proteína receptora de VEGF en un vehículo farmacéuticamente aceptable, en la que dicha proteína receptora de VEGF se selecciona entre el grupo comprendido por VEGFR-2, que presenta la secuencia SEC ID nº: 2, Flk-1, que presenta la secuencia SEC ID nº: 6, y un receptor que se une al VEGF o fragmentos del mismo y que tiene una secuencia que presenta por lo menos un 80% de homología con respecto a la secuencia SEC ID nº: 2 ó 6 y en la que el constructo de ADN se incorpora de manera operativa en un vector de *Salmonella typhimurium* o *Salmonella typhi* atenuadas. En una forma de realización, el constructo de ADN es un ADN sustancialmente purificado que tiene una secuencia polinucleótida seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID nº: 1, SEC ID nº: 5, y una secuencia polinucleótida que presenta por lo menos un 80% de homología con respecto a las mismas y codifica un receptor que se une al VEGF o fragmentos del mismo.

15 La presente invención también da a conocer la utilización de un constructo de ADN que codifica de manera operativa una proteína receptora de VEGF y un vehículo farmacéuticamente aceptable para la misma para la preparación de una vacuna de ADN para inhibir el crecimiento tumoral en un mamífero, en la que se administra por vía oral una cantidad inmunológicamente eficaz de dicha vacuna de ADN a dicho mamífero, con lo que dicho mamífero muestra una respuesta inmunitaria inducida por la vacuna y específica para las células endoteliales proliferativas, lo que da lugar a la detención del crecimiento tumoral, la reducción del tamaño del tumor o la inhibición de la diseminación del mismo, seleccionándose la proteína receptora de VEGF entre el grupo comprendido por VEGFR-2, que presenta la secuencia SEC ID nº: 2, Flk-1, que presenta la secuencia SEC ID nº: 6, y un receptor que se une al VEGF o fragmentos del mismo y que tiene una secuencia que presenta por lo menos un 80% de homología con respecto a la secuencia SEC ID nº: 2 o 6 y en la que el constructo de ADN se incorpora de manera operativa en un vector de *Salmonella typhimurium* o *Salmonella typhi* atenuadas. En una forma de realización, el mamífero es un ser humano.

25 La presente invención también da a conocer un artículo manufacturado que comprende una vacuna de la invención 1 envasada en un recipiente estéril sellado herméticamente, presentando dicho recipiente una etiqueta que comprende un material impreso que identifica la vacuna y proporciona información útil para la persona que administra dicha vacuna al paciente.

30 La vacuna puede comprender un ácido nucleico lineal, tal como un constructo de ADN purificado o un constructo de ADN incorporado en un vector plasmídico. Las vacunas de ADN según la presente invención estimulan la formación de CTL activos contra las células endoteliales proliferativas, que sobreexpresan VEGFR-2.

35 Las células endoteliales forman el revestimiento del tejido vascular de los mamíferos. La proliferación de las células endoteliales es un proceso clave en la angiogénesis. Las vacunas según la presente invención proporcionan un método para producir una inhibición de larga duración de la angiogénesis en un organismo tratado con la vacuna en cuestión mediante el provocamiento de una respuesta inmunitaria contra las células endoteliales proliferativas. Las células endoteliales no proliferativas, tales como las que constituyen los revestimientos de los vasos sanguíneos consolidados, no presentan cantidades significativas de antígenos del receptor de VEGF y, por lo tanto, permanecen sustancialmente inalteradas por los CTL que se producen como respuesta a la vacuna.

40 La vacuna de ADN se puede utilizar para proporcionar una inhibición de larga duración de la proliferación de células endoteliales en un paciente vacunado. En una forma de realización, la vacuna de ADN que comprende un constructo polinucleótido que codifica de manera operativa una proteína receptora de VEGF se administra por vía oral a un paciente que necesita inhibir la proliferación de células endoteliales en una cantidad suficiente para provocar una respuesta inmunitaria contra las células endoteliales proliferativas.

45 Para inhibir la angiogénesis en un paciente vacunado con una vacuna de ADN, se puede administrar una cantidad que puede provocar una respuesta inmunitaria de la vacuna que incluye un constructo de ADN que codifica de manera operativa una proteína receptora de VEGF a un paciente que padece una enfermedad relacionada con la angiogénesis.

50 El crecimiento tumoral se inhibe mediante la vacunación de un paciente con una vacuna de ADN. En una forma de realización de este tipo, se administra una cantidad que puede provocar una respuesta inmunitaria de una vacuna que comprende un constructo de ADN que codifica de manera operativa una proteína receptora de VEGF a un paciente que presenta un tumor en crecimiento. Dicha vacunación provoca la detención del crecimiento tumoral. La destrucción de las células endoteliales proliferativas por parte del sistema inmunitario del paciente impide la vascularización del tumor, en esencia matándolo por inanición.

55 Las vacunas de ADN se pueden administrar por vía enteral, por ejemplo por administración oral, o parenteral, por ejemplo por inyección o infusión intravenosa.

60 Las vacunas según la presente invención son útiles para el tratamiento y la prevención de una serie de estados

patológicos. Por ejemplo, un paciente que padece cáncer, retinopatía diabética y similares se puede beneficiar de la inmunización con las vacunas según la presente invención.

Breve descripción de los dibujos

- 5 En los dibujos, la figura 1 representa la secuencia de ADN que codifica el KDR humano, SEC ID nº: 1;
- la figura 2 representa la secuencia proteínica del KDR humano, SEC ID nº: 2;
- 10 la figura 3 representa la secuencia de ADN que codifica el Flt-1 humano, SEC ID nº: 3;
- la figura 4 representa la secuencia proteínica del Flt-1 humano, SEC ID nº: 4;
- 15 la figura 5 representa la secuencia de ADN que codifica el Flk-1 de ratón, SEC ID nº: 5;
- la figura 6 representa la secuencia proteínica del Flk-1 humano, SEC ID nº: 6;
- la figura 7 es una representación gráfica de unos pulmones de ratón con diversos niveles de cobertura tumoral comprendidos entre > 50% de cobertura (etiquetado con el número 3) y < 10% de cobertura (etiquetado con el número 1);
- 20 la figura 8 es una representación gráfica de los datos que ponen de manifiesto que los ratones vacunados con una vacuna de ADN según la presente invención (línea continua gruesa) y provocados mediante la inyección intravenosa de células de carcinoma de colon CT-26 muestran una mortalidad significativamente reducida en relación con dos grupos de control de ratones (ratones no tratados previamente: línea continua delgada; vacuna de control: línea discontinua);
- 25 la figura 9 es una representación gráfica de los datos que ponen de manifiesto la supresión del crecimiento de un tumor de tipo D121 de carcinoma pulmonar de Lewis en ratones vacunados con una vacuna de ADN según la invención (pcDNA3.1-FLK-1) en relación con dos grupos de control de ratones;
- 30 la figura 10 es una representación gráfica de los datos que ponen de manifiesto la supresión del crecimiento de un tumor de tipo B16 de melanoma en ratones vacunados con una vacuna de ADN según la invención (●) en relación con un grupo de control (○); y
- 35 la figura 11 es una representación gráfica de los datos que ponen de manifiesto el aumento de linfocitos T CD8+ positivos a CD25, CD69 y CD2 en los ratones vacunados con una vacuna de ADN según la invención en relación con un grupo de ratones de control.

40 Descripción detallada de las formas de realización preferidas

Tal como se utiliza en la presente descripción y en las reivindicaciones adjuntas, el término “constructo de ADN” se refiere a una estructura de ADN sintética que puede ser transcrita en las células diana. Dicho constructo puede comprender un ácido nucleico lineal, tal como un ADN purificado, o preferentemente un ADN incorporado en un vector plasmídico. El ADN también se puede incorporar en un vector vírico o bacteriano, preferentemente un vector vírico o bacteriano atenuado que sea apatógeno. Entre los ADN que codifican una proteína receptora de VEGF se incluyen VEGFR-2 (KDR; SEC ID nº: 2), VEGFR-1 (Flt-1; SEC ID nº: 4), y Flk-1 (SEC ID nº: 6), por ejemplo, las secuencias de ADN SEC ID nº: 1, SEC ID nº: 3 y SEC ID nº: 5, respectivamente.

50 Se han identificado cinco subtipos de VEGF, incluidos el VEGF-1 (también designado VEGF-A), el VEGF-2 (también designado VEGF-C), el VEGF-B, el VEGF-D y el VEGF-E. Véase, por ejemplo, la patente US nº 6.235.713, de Achen *et al*, así como las referencias citadas en la misma. Los receptores de VEGF son tirosina-cinasas específicas para las células endoteliales. Se han identificado diversas tirosina-cinasas receptoras específicas para células endoteliales, entre las cuales se incluyen Flt-1 (receptor 1 de VEGF; VEGFR-1), KDR (VEGFR-2), Flk-1 (homólogo murino del KDR), Flt-4 (VEGFR-3), Tie, Tie-2 y Tek, diversas de las cuales son receptores de VEGF.

Las vacunas de ADN según la presente invención estimulan la formación de CTL activos contra las células endoteliales proliferativas, que sobreexpresan VEGFR-2. Dado que los receptores de VEGF sólo se expresan significativamente en las células endoteliales proliferativas, un CTL generado como respuesta a la vacuna se dirigirá esencialmente sólo a los tejidos en los que tenga lugar una angiogénesis activa (por ejemplo, vascularización). Las células endoteliales no proliferativas, tales como las de los recubrimientos de los vasos sanguíneos consolidados, carecen esencialmente de antígenos de receptores de VEGF y, por lo tanto, no resultan afectadas por el CTL generado por la vacuna.

65 La vacuna puede promover la activación de linfocitos T indiferenciados ya sea directa o indirectamente, a través de la intervención de células dendríticas.

5 Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "inmunidad" se refiere a una protección inmunitaria de larga duración frente a la forma virulenta del agente infeccioso o antígeno tumoral. El término "inmunización" se refiere a la exposición profiláctica a un antígeno de un agente patógeno derivado de una fuente no virulenta, proporcionando inmunidad frente al patógeno en el individuo tratado.

10 Un constructo de ADN utilizado en la presente invención comprende preferentemente una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína receptora de VEGF unida de manera operativa a elementos reguladores necesarios para la expresión génica.

15 Los constructos de ADN útiles incluyen preferentemente elementos reguladores necesarios para la expresión de nucleótidos. Dichos elementos incluyen, por ejemplo, un promotor, un codón de iniciación, un codón de parada y una señal de poliadenilación. Además, a menudo se requieren potenciadores para la expresión de una secuencia que codifica una proteína inmunógena diana. Tal como es conocido en la técnica, estos elementos están preferentemente unidos de manera operativa a la secuencia que codifica la proteína deseada. Preferentemente, se seleccionan elementos reguladores que sean operativos en la especie a la que se pretenden administrar.

20 Preferentemente, los codones de iniciación y los codones de parada se incluyen como parte de una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína receptora de VEGF en una vacuna genética según la presente invención. Los codones de iniciación y de parada deben estar en el mismo marco de lectura que la secuencia de codificación.

Los promotores y señales de poliadenilación incluidos en una vacuna según la presente invención se seleccionan preferentemente para que sean funcionales dentro de las células del individuo que se pretende inmunizar.

25 Los ejemplos de promotores útiles en las vacunas según la presente invención, particularmente en la preparación de una vacuna genética para los seres humanos, comprenden de manera no limitativa, promotores del virus del simio 40 (SV40), promotor del virus del tumor mamario de ratón (MMTV), promotor del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), tal como repetición terminal larga (LTR) del VIH, virus de Moloney, citomegalovirus (CMV), tal como promotor inmediato temprano de CMV, virus de Epstein-Barr (VEB), virus del sarcoma de Rous (VSR), así como
30 promotores de genes humanos, tales como actina humana, miosina humana, hemoglobina humana, creatina muscular humana y metalotioneína humana.

35 Los ejemplos de señales de poliadenilación útiles en las vacunas según la presente invención, particularmente en la producción de una vacuna genética para los seres humanos, comprenden de manera no limitativa, señales de poliadenilación de SV40 y señales de poliadenilación de LTR.

40 Además de los elementos reguladores necesarios para la expresión del ADN, se pueden incluir otros elementos en la molécula de ADN. Entre dichos elementos adicionales se incluyen los potenciadores. El potenciador puede ser, por ejemplo, actina humana, miosina humana, hemoglobina humana, creatina muscular humana y potenciadores víricos tales como los de CMV, VEB y VSR.

45 Generalmente, las secuencias reguladoras y los codones son especies dependientes, por lo que, a fin de maximizar la producción de proteínas, las secuencias reguladoras y los codones se seleccionan preferentemente de modo que sean eficaces en la especie que se pretende inmunizar. El experto en la materia será que puede preparar constructos de ADN funcionales en una determinada especie.

50 En la técnica se han descrito bien métodos de transformación de vectores bacterianos vivos con un constructo de ADN exógeno. Véase, por ejemplo, Joseph Sambrook y David W. Russell, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 3ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York (2001).

Según la presente invención, se pueden administrar polinucleótidos de ADN a tejidos de un mamífero, por ejemplo, un ser humano. En algunas formas de realización preferentes, los polinucleótidos de ADN se administran por vía oral, intramuscular, intranasal, intraperitoneal, subcutánea, intradérmica o tópica.

55 Según la presente invención, una vacuna de ADN se puede utilizar para proporcionar una inhibición de larga duración de la proliferación de células endoteliales en un paciente tratado con la vacuna. En una forma de realización preferida, se administra una vacuna de ADN que comprende un constructo polinucleótido que codifica de manera operativa una proteína receptora de VEGF a un mamífero que necesita inhibir la proliferación de células endoteliales en una cantidad suficiente para provocar una respuesta inmunitaria contra las células endoteliales
60 proliferativas.

65 Una vacuna de ADN según la presente invención se puede utilizar para inhibir la angiogénesis en un mamífero tratado con la vacuna de ADN. En una forma de realización de este tipo, una vacuna que comprende un constructo de ADN que codifica de manera operativa una proteína receptora de VEGF se administra a un mamífero que padece una enfermedad relacionada con la angiogénesis en una cantidad suficiente para provocar una respuesta inmunitaria contra las células endoteliales proliferativas.

- 5 En una forma de realización, el crecimiento tumoral se inhibe mediante el tratamiento de un mamífero con una vacuna de ADN. En una forma de realización de este tipo, se administra una cantidad que puede provocar una respuesta inmunitaria de una vacuna que comprende un constructo de ADN que codifica de manera operativa una proteína receptora de VEGF a un paciente que presenta un tumor en crecimiento. El tratamiento con la vacuna provoca la detención del crecimiento tumoral mediante la inmunización del mamífero frente a las células endoteliales proliferativas. La destrucción de las células endoteliales proliferativas por parte del sistema inmunitario del mamífero impide, o como mínimo minimiza, la vascularización del tumor.
- 10 Según la presente invención, las vacunas se pueden administrar por vía enteral, por ejemplo por administración oral, o por inyección intramuscular. Preferentemente, el mamífero tratado con la vacuna de la invención es un humano. Un paciente que padece cáncer, por ejemplo carcinoma de pulmón o de colon, o tumores de próstata, retinopatía diabética y similares, se puede beneficiar de la inmunización con las vacunas según la presente invención.
- 15 Preferentemente, las vacunas según la presente invención se formulan con vehículos farmacéuticamente aceptables o excipientes como agua, solución salina, dextrosa, glicerol y similares, y combinaciones de los mismos. Las vacunas también pueden contener sustancias auxiliares, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes, tampones y similares.
- 20 Las vacunas según la presente invención se administran preferentemente por vía oral a un mamífero, por ejemplo un ser humano, en forma de solución o suspensión en un vehículo farmacéuticamente aceptable, a una concentración de ADN comprendida entre aproximadamente 1 y aproximadamente 10 microgramos por mililitro. La dosis adecuada depende del individuo que se pretende vacunar y, en parte, del criterio del médico que lleve a cabo o prescriba la administración de la vacuna.
- 25 Las vacunas según la presente invención se pueden envasar en recipientes debidamente esterilizados, tales como ampollas, frascos o viales, en una formulación multidosis o monodosis. Preferentemente, los recipientes se cierran herméticamente después de llenarse con una preparación de vacuna. Preferentemente, las vacunas se envasan en un recipiente que presenta una etiqueta que identifica la vacuna y va acompañado de un texto en la forma prescrita por una agencia gubernamental como la United States Food and Drug Administration en el que se refleja la aprobación de la vacuna según la legislación correspondiente, información sobre la dosificación e indicaciones similares. Preferentemente, dicha etiqueta contiene información sobre la vacuna que resulta útil para el profesional sanitario encargado de administrar la vacuna a un paciente. El envase también contiene preferentemente materiales informativos impresos que se refieren a la administración de la vacuna, instrucciones, indicaciones y cualquier advertencia necesaria.
- 30 Las proteínas receptoras de VEGF, como las tirosina-cinasas específicas de las células endoteliales comprenden por ejemplo, Flt-1, KDR, Flk-1 y homólogos funcionales de las mismas. Preferentemente, los homólogos funcionales presentan por lo menos un 80% de homología con respecto a las proteínas receptoras de VEGF mencionadas anteriormente.
- 35 Las secuencias de aminoácidos de las proteínas receptoras de VEGF se han dado a conocer en la técnica, al igual que las secuencias de ácidos nucleicos que las codifican. La secuencia de ácidos nucleicos que codifica el KDR (figura 1, SEC ID nº: 1) y su secuencia proteínica correspondiente (figura 2, SEC ID nº: 2) han sido publicadas por Yu *et al* en la base de datos EMBL del European Bioinformatics Institute, en el Wellcome Trust Genoma Campus, Hinxton, Cambridge CB10 1SD, Reino Unido (el número de entrada EMBL es EMBL:AF063658). La secuencia de ácidos nucleicos que codifica el Flt-1 (figura 3, SEC ID nº: 3) y su secuencia proteínica correspondiente (figura 4, SEC ID nº: 4) han sido publicadas por Yu *et al* en la base de datos EMBL del Instituto Europeo de Bioinformática, en Wellcome Trust Genoma Campus, Hinxton, Cambridge CB10 1SD, Reino Unido (el número de entrada EMBL es EMBL:AF063657). La secuencia de ácidos nucleicos que codifica el Flk-1 y su correspondiente secuencia proteínica han sido publicadas por Mathews *et al*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1991, 88:9026-9030, y las estructuras han sido corregidas por Quinn *et al*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1991, 90:7533-7537. La secuencia corregida de ADN del Flk-1 se indica en la figura 5 como SEC ID nº: 5, y la secuencia proteínica corregida de Flk-1 se indica en la figura 6 como SEC ID nº: 6.
- 40
- 45
- 50
- 55 Debido a la degeneración inherente del código genético, en la aplicación de la presente invención se pueden utilizar otras secuencias de ADN que codifican sustancialmente la misma secuencia de aminoácidos, o un equivalente funcional de la misma, de las proteínas receptoras de VEGF KDR y Flk-1. Dichas secuencias de ADN incluyen las que son que pueden hibridarse también con las secuencias de los receptores VEGF. Los homólogos funcionalmente equivalentes del ADN de las proteínas receptoras de VEGF presentan como mínimo un 80% de homología con respecto al ADN que codifica las proteínas receptoras de VEGF mencionadas anteriormente.
- 60
- 65 Las secuencias de ADN modificadas que se pueden utilizar según la presente invención comprenden las resultantes de eliminaciones, adiciones o sustituciones de diferentes residuos nucleótidos que dan lugar a una secuencia que codifica el mismo producto génico o un equivalente funcional del mismo. El propio producto génico puede contener eliminaciones, adiciones o sustituciones de residuos aminoácidos en las secuencias de los receptores VEGF que

dan lugar a un cambio silencioso, obteniéndose de este modo una proteína receptora de VEGF funcionalmente equivalente. Dichas sustituciones de aminoácidos se pueden llevar a cabo sobre la base de la similitud en la polaridad, la carga, la solubilidad, la hidrofobia, la hidrofilia y/o la naturaleza anfipática de los residuos en cuestión. Por ejemplo, entre los aminoácidos con carga negativa se incluyen el ácido aspártico y el ácido glutámico; entre los aminoácidos con carga positiva se incluyen la lisina y la arginina; entre los aminoácidos con grupos polares no cargados con valores de hidrofilia parecidos se incluyen los siguientes: leucina, isoleucina, valina; glicina, alanina; asparagina, glutamina; serina, treonina; fenilalanina, tirosina. Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "receptor de VEGF funcionalmente equivalente" se refiere a un receptor que se une al VEGF o fragmentos del mismo, aunque no necesariamente con la misma afinidad de unión que su homólogo nativo KDR, Flk-1 o Flt-1.

Las secuencias de ADN se pueden modificar a fin de alterar la secuencia de codificación del receptor de VEGF con una variedad de fines, que comprenden de manera no limitativa las mismas, las modificaciones que alteran el procesamiento y la expresión del producto génico. Por ejemplo, se pueden introducir mutaciones mediante técnicas bien conocidas en el sector de la invención, por ejemplo mutagénesis dirigida a sitio específico, para insertar nuevos sitios de restricción, modificar los patrones de glucosilación, fosforilación, etc.

El Flk-1 de ratón (SEC ID nº: 6) presenta aproximadamente un 85% de homología con el KDR humano (SEC ID nº: 2) y ejercer una función en la fisiología del ratón análogo a la función del KDR en los seres humanos. De hecho, el VEGFR-2 se designa a menudo KDR/Flk-1, lo que refleja la estrecha analogía existente entre estos dos homólogos del receptor de VEGF. Por este motivo se escogió el tratamiento de ratones con una vacuna de ADN según la invención, que codifica el Flk-1 (por ejemplo, la secuencia de ADN SEC ID nº: 5) como modelo adecuado para las vacunas de ADN para humanos que codifican el KDR.

Los ejemplos siguientes se proporcionan a título ilustrativo y no limitativo de las características y formas de realización de la presente invención.

Materiales, métodos y ejemplos.

Materiales. se obtuvieron ratones C57/BL/6J y Balb/C a través del centro de cría del Scripps Research Institute. Las líneas celulares tumorales murinas utilizadas para la evaluación incluían la línea celular B16 de melanoma y la línea celular CT26 de carcinoma de colon, obtenidas a través del Dr. I. J. Fidler del MD Anderson Cancer Center, Houston, TX. La línea celular D121 de cáncer de pulmón murino de Lewis se obtuvo a través de la Dra. Lea Eisenbach del Instituto Weizmann, Rehovot (Israel). El ADN que codifica el Flk-1 fue proporcionado amablemente por el Dr. Lemischka (Princeton University, Princeton, NJ), y se clonó en el vector de expresión eucariótico pcDNA3.1 suministrado por Invitrogen, Huntsville (Alabama) utilizando los sitios de restricción KpnI y XbaI. Se obtuvo una cepa atenuada de *Salmonella typhimurium* a través de B. A. D. Stocker (Stanford University, Stanford, CA). Los anticuerpos se obtuvieron a través de BD Biosciences, Bedford, MA. El suplemento de cultivo T-STIM se obtuvo a través de BD Biosciences, Bedford, MA. El isotiocianato de fluoresceína (FITC) y la R-ficoeritrina (PE) se obtuvieron a través de Molecular Probes, Eugene, OR. Los anticuerpos marcados con FITC y con PE se prepararon según los protocolos recomendados por el fabricante.

Ejemplo 1. Preparación de una vacuna de ADN que codifica Flk-1.

El vector pcDNA3.1 que contiene el ADN de Flk-1 (SEC ID nº: 5, entre aproximadamente 10 pg y aproximadamente 0,1 µg de pDNA) se sometió a electroporación en *Salmonella typhimurium* atenuada recién preparada utilizando un generador de impulsos Bio-Rad a 2,5 kV, 25 µF y 200 Ohm, según los procedimientos recomendados por el fabricante. Las *Salmonella* que contenían el vector se seleccionaron en placas que contenían ampicilina. Las colonias se recogieron al día siguiente y se cultivaron durante una noche en caldo LB (EM Science, Gibbstown, NJ) con adición de ampicilina. Las bacterias se aislaron y lavaron en solución salina tamponada con fosfato (PBS). A continuación, las bacterias lavadas se suspendieron en medio PBS a una concentración de aproximadamente 1×10^9 *Salmonella* recombinante por mililitro de PBS para formar una solución de vacuna para su uso posterior. La vacuna se almacenó en ampollas cerradas herméticamente hasta su utilización. También se preparó una "vacuna de control" de *Salmonella* transformada con el vector pcDNA3.1 solo (sin ADN de Flk-1) siguiendo el mismo procedimiento. El ADN plasmídico se almacenó aproximadamente a -80°C antes de la transformación de la *Salmonella*.

Ejemplo 2. Vacunación de ratones con una vacuna de ADN que codifica el Flk-1.

Se vacunaron ratones Balb/C (aproximadamente 6 ratones por grupo de tratamiento) con la vacuna de ADN del ejemplo 1 (aproximadamente 1×10^8 *Salmonella* recombinante en aproximadamente 100 µl de PBS) mediante sonda oral, tres veces a intervalos de dos semanas. Otro grupo de ratones se vacunaron con la vacuna de control (compuesta por *Salmonella* atenuada que contenía el vector vacío) según la misma pauta que los ratones vacunados con la vacuna según la invención.

Ejemplo 3. Evaluación de la resistencia al tumor de los ratones vacunados.

Aproximadamente dos semanas después de la tercera vacunación, los ratones Balb/C del ejemplo 2 (aproximadamente 6 ratones por grupo de tratamiento) fueron provocados con aproximadamente 1×10^5 células B16 de melanoma (vía subcutánea), aproximadamente 1×10^5 células D121 de carcinoma pulmonar de Lewis (vía subcutánea) o aproximadamente $7,5 \times 10^4$ células CT26 de carcinoma de colon (vía intravenosa). Se extrajeron mediante cirugía los tumores pulmonares de Lewis subcutáneos tras aproximadamente dos semanas de crecimiento para permitir la difusión espontánea al pulmón. El crecimiento tumoral subcutáneo se midió en dos dimensiones cada dos días y el volumen tumoral se calculó según la fórmula:

$$\text{volumen} = (\text{anchura}^2)(\text{longitud}/2)$$

para cada tumor. La cantidad de metástasis espontánea de las células D121 a los pulmones se evaluó aproximadamente 30 días después de la extirpación del tumor primario subcutáneo. Los ratones se sacrificaron y se les practicó una autopsia, y las masas tumorales de los pulmones se evaluaron según el porcentaje de superficie pulmonar cubierta por tumor, puntuándose con un "0" para ausencia de tumor, un "1" para una cobertura tumoral menor de aproximadamente el 20%, un "2" para una cobertura tumoral comprendida entre aproximadamente el 20% y aproximadamente el 30% y un "3" para una cobertura tumoral mayor de aproximadamente el 50%. La figura 7 muestra imágenes de los pulmones de tres ratones provocados con células D121 de carcinoma pulmonar de Lewis. El pulmón inferior tuvo una puntuación de 1, mientras que los dos pulmones superiores obtuvieron una puntuación de 3, puesto que presentaban una gran proporción de la superficie pulmonar cubierta por tumores. A los animales que murieron antes de la evaluación realizada a los 30 días se les dio una puntuación de "+".

Los resultados de las evaluaciones se indican en las tablas 1-4 y en las figuras 8-10, consideradas con detalle a continuación.

Tabla 1. Metástasis tumoral en ratones Balb/C provocados con células D121 de carcinoma pulmonar de Lewis.

Grupo de vacunación de ratones	Puntuaciones metastásicas
Control: vacunación con <i>Salmonella</i> sin transformar	3,3,3,3,+,+
Control: vacunación con la vacuna de control (que contiene el vector vacío)	3,3,3,3, +, +
Vacunación con la vacuna de ADN del ejemplo 1 (que contiene Flk-1)	0,0,1,1,1,2,2

Se evaluó la mortalidad de los ratones Balb/C provocados mediante inyección intravenosa de células CT-26 de carcinoma de colon a lo largo de un periodo de aproximadamente 63 días (7 semanas). La información sobre la mortalidad se proporciona en la tabla 2 siguiente y se ilustra gráficamente en la figura 8.

En la figura 8, el % de supervivencia de los ratones tratados con la vacuna según la presente invención del ejemplo 1 está indicado por la línea continua gruesa con una supervivencia del 100%. El % de supervivencia de los ratones no tratados previamente (sin vacunación) provocados con las células C26 está indicado por la línea continua fina, mientras que el % de supervivencia de los ratones tratados con la vacuna de control (sin ADN de Flk-1) está indicado por la línea discontinua.

Tabla 2. Supresión de la mortalidad en ratones Balb/C inmunizados con la vacuna del ejemplo 1 y provocados con células CT26 de carcinoma.

Tratamiento	% de supervivencia a los 30 días	% de supervivencia a los 36 días	% de supervivencia a los 63 días
Control (sin vacuna)	50	0	0
Vacuna de control	33	0	0
Vacuna del ejemplo 1	100	100	100

La supresión del crecimiento del tumor primario (subcutáneo) en los ratones Balb/C provocados con D121 se evaluó mediante la determinación del volumen del tumor primario a los 14 días de la provocación. Los resultados se proporcionan en la tabla 3 siguiente y se ilustran gráficamente en la figura 9.

En la figura 9, la primera barra, etiquetada "PBS", indica los ratones que no fueron vacunados (ratones no tratados previamente), la barra central, etiquetada "vector vacío", indica los ratones tratados con la vacuna de control y la tercera barra, etiquetada "pcDNA3.1 FLK1", indica los ratones inmunizados con la vacuna según la invención del ejemplo 1.

Tabla 3. Supresión del tumor subcutáneo D121 de carcinoma en ratones Balb/C inmunizados con la vacuna del ejemplo 1.

Tratamiento	Volumen tumoral mm ³	Desviación estándar
Control (sin vacuna)	665	227
Vacuna de control	641	157
Vacuna del ejemplo 1	183	35

5 La supresión del crecimiento del tumor B16 subcutáneo de melanoma se evaluó mediante el control del volumen del tumor subcutáneo a lo largo de un periodo de aproximadamente 17 días tras la provocación del tumor. Los resultados se proporcionan en la tabla 4 siguiente y se ilustran gráficamente en la figura 10. En la figura 10, los datos de volumen tumoral promedio indicados con (●) representan los ratones inmunizados con la vacuna según la presente invención del ejemplo 1, mientras que los datos indicados con (○) representan los ratones tratados con la
10 vacuna de control.

Tabla 4. Supresión del tumor subcutáneo B16 de melanoma en ratones Balb/C inmunizados con la vacuna del ejemplo 1.

Tratamiento	Volumen tumoral (mm ³) en el día			
	0	9	14	17
Vacuna de control	0	907	1.273	4.213
Vacuna del ejemplo 1	0	447	462	1.063
% de supresión tumoral	---	51%	64%	75%

15 **Ejemplo 4. Aumento de los marcadores de activación CD25, CD69 y CD2 en esplenocitos (linfocitos T CD8+) en los ratones vacunados.**

20 Se vacunaron ratones C5/7BL/6J (aproximadamente 4 ratones por grupo de tratamiento) con la vacuna de ADN del ejemplo 1 y la vacuna de control (sin Flk-1), tal como se ha descrito en el ejemplo 2. Se aislaron esplenocitos de los ratones inmunizados y del grupo de ratones de control aproximadamente seis semanas después de la tercera vacunación. Los esplenocitos se cultivaron durante 24 horas junto con células de una línea celular B16 de melanoma transducidas para que expresaran Flk-1 y con células B16 sin transformar en medio de linfocitos T (aproximadamente 5 ml por cultivo) que contenía aproximadamente 4% en volumen de suplemento de cultivo T-STIM (Cat. # 354115, BD Biosciences, Bedford, MA). A continuación, las células se marcaron con anticuerpo CD8+ conjugado con FITC y anticuerpos conjugados con PE de CD25, CD69 y CD2. Las suspensiones celulares se evaluaron utilizando un citómetro Becton Dickenson FACScan para determinar el porcentaje de linfocitos T CD8+ positivos a CD25 y CD69 para cada combinación esplenocito/células B16 de melanoma. Los resultados se proporcionan en la tabla 5 siguiente y se ilustran gráficamente en la figura 11.

30 **Tabla 5. Aumento de los marcadores de activación CD25, CD69 y CD2 en esplenocitos de ratones vacunados.**

Tratamiento	% positivos a CD25	% positivos a CD69	positivos a CD2 fluorescencia media
Vacuna de control + células B16-Flk-1	9	18	570 mfu
Vacuna de ADN + células B16	12	29	550 mfu
Vacuna de ADN + células B16-Flk-1	21	35	700 mfu

mfu = unidades de fluorescencia media.

35 Los resultados representados en las tablas 1-5 y las figuras 8-11 ponen de manifiesto que la vacuna de ADN del ejemplo 1, que comprende un ADN que codifica Flk-1, el análogo murino del KDR, puede inmunizar eficazmente a los ratones frente a una variedad de células cancerosas formadoras de tumor. Sin pretender limitarse a ningún planteamiento teórico, se cree que la vacuna actúa inhibiendo la angiogénesis en el tumor, es decir, impidiendo la formación de nuevos vasos sanguíneos en el mismo y matándolo eficazmente por inanición.

40 Los datos proporcionados en la tabla 1 ponen de manifiesto que la vacuna según la invención del ejemplo 1 provoca la supresión de la metástasis tumoral en los pulmones de los ratones provocados con células D121 de carcinoma pulmonar de Lewis. Ninguno de los ratones inmunizados con la vacuna del ejemplo 1 murió, y todos presentaban menos de aproximadamente el 50% de cobertura tumoral de los pulmones (2 presentaban < 20%). En cambio, murieron dos ratones de cada grupo de control y todos los ratones restantes presentaban una cobertura tumoral de los pulmones superior al 50%.

45 La vacuna según la presente invención del ejemplo 1 también disminuyó significativamente la mortalidad de los

ratones Balb/C provocados por vía intravenosa con células CT-26 de carcinoma de colon, tal como demuestran los datos de la tabla 2 y la figura 8. Todos los ratones inmunizados con la vacuna del ejemplo 1 sobrevivieron durante todo el período de observación de 63 días posteriores a la provocación. Sin embargo, en los grupos de control, todos los ratones murieron antes del día 36 tras la provocación.

5 Tal como ponen de manifiesto los datos de la tabla 3 y la figura 9, el crecimiento del tumor subcutáneo de tipo D121 de carcinoma pulmonar de Lewis se suprimió mediante la inmunización con la vacuna según la invención del ejemplo 1 en un factor comprendido entre aproximadamente 4,3 y aproximadamente 4,5 en relación con los grupos de ratones de control no tratados con ninguna vacuna o tratados con la vacuna de control.

10 De modo parecido, tal como se pone de manifiesto en la tabla 4 y la figura 10, el crecimiento del tumor subcutáneo de tipo B16 de melanoma se suprimió en un factor de aproximadamente 4 en los ratones inmunizados con la vacuna según la invención del ejemplo 1 en relación con el crecimiento tumoral observado en el grupo de control.

15 Los datos de la tabla 5 y la figura 11 muestran que los esplenocitos aislados de ratones C57/BL/6J vacunados con la vacuna de ADN del ejemplo 1 mostraron un aumento de los marcadores de activación CD2, CD25 y CD69 en relación con el grupo de ratones de control cuando se cultivaron con células B16 de melanoma transformadas para que presentaran el antígeno de Flk-1.

20 **Listado de secuencias**

<110> The Scripps Research Institute
 Ralph A. Reisfeld
 Andrew G. Niethammer
 25 Rong Xiang

<120> VACUNA DE ADN CONTRA LAS CÉLULAS ENDOTELIALES PROLIFERATIVAS Y MÉTODOS DE UTILIZACIÓN DE LA MISMA

30 <130> TSRI-829.0 PCT

<150> 10/090.183
 <151> 2002-03-02

35 <160> 6

<170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

40 <210> 1
 <211> 4071
 <212> ADN
 <213> humano

45 <400> 1

```

atggagagca aggtgctgct ggccgctgcc ctgtggctct gcgtggagac cggggccgcc 60
tctgtgggtt tgcctagtggt ttctcttgat ctgccaggc tcagcataca aaaagacata 120
cttacaatta aggctaatac aactcttcaa attacttgca ggggacagag ggacttggac 180
tggctttggc ccaataatca gagtggcagt gagcaaaggg tggagggtgac tgagtgcagc 240
gatggcctct tctgtaagac actcacaatt ccaaaagtga tcggaaatga cactggagcc 300
tacaagtgct tctaccggga aactgacttg gctcggctca tttatgtcta tgttcaagat 360
tacagatctc catttattgc ttctgttagt gaccaacatg gagtctgtga cattaactgag 420
aacaaaaaca aaactgtggt gattccatgt ctcggtcca ttccaatct caactgttca 480
ctttgtgcaa gatacccaga aaagagattt gttcctgatg gtaacagaat ttcctgggac 540
agcaagaagg gctttactat tcccagctac atgatcagct atgctggcat ggtcttctgt 600
gaagcaaaaa ttaatgatga aagttaccag tctattatgt acatagttgt cgttgtaggg 660
tataggattt atgatgtggt tctgagtcgg tctcatggaa ttgaactatc tgttgagaaa 720
aagcttgctt taaattgtac agcaagaact gaactaaatg tggggattga cttcaactgg 780
gaataccctt cttcgaagca tcagcataag aaacttgtaa accgagacct aaaaacccag 840
tctgggagtg agatgaagaa atttttgagc accttaacta tagatgggtg aaccggaggt 900
gaccaaggat tgtacacctg tgcagcatcc agtgggctga tgaccaagaa gaacagcaca 960
    
```

ES 2 371 870 T3

```

tttgtcaggg tccatgaaaa accttttgtt gcttttggaa gtggcatgga atctctggtg 1020
gaagccacgg tgggggagcg tgtcagaatc cctgcgaagt accttgggta cccaccccca 1080
gaaataaaa ggtataaaaa tggaatacc cttgagcca atcacacaat taaagcgggg 1140
catgtactga cgattatgga agtgagtga agagacacag gaaattacac tgtcatcctt 1200
accaatccca tttcaaagga gaagcagagc catgtggtct ctctgggtgt gatgtgcca 1260
ccccagattg gtgagaaatc tctaattctt cctgtggatt cctaccagta cggcaccact 1320
caaacgctga catgtacggt ctatgccatt cctcccccg atcacatcca ctggatttgg 1380
cagtttgagg aagagtgcgc caacgagccc agccaagctg tctcagtgac aaacccatac 1440
ccttgtgaag aatggagaag tgtggaggac ttccagggag gaaataaaa tgaagttaat 1500
aaaaatcaat ttgctcta atgaggaaaa aacaaaactg taagtaccct tgttatccaa 1560
gcgcaaatg tgtcagcttt gtacaaatgt gaagcggcca acaaagtcgg gagaggagag 1620
aggggtgatc ccttccacgt gaccaggggt cctgaaatta ctttgaacc tgacatgcag 1680
cccactgagc aggagagcgt gtctttgtgg tgcactgcag acagatctac gtttgagaac 1740
ctcacatggt acaagcttgg ccacagcct ctgccaatcc atgtgggaga gttgccca 1800
cctgtttgca agaacttgg tactctttgg aaattgaatg ccacatggt ctctaatagc 1860
acaaatgaca ttttgatcat ggagcttaag aatgcatcct tgcaggacca aggagactat 1920
gtctgccttg ctcaagacag gaagaccaag aaaagacatt gcgtggtcag gcagctcaca 1980
gtcctagagc gtgtggcacc cacgatcaca ggaacctgg agaatcagac gacaagtatt 2040
ggggaaagca tcgaagtctc atgacggca tctgggaatc cccctccaca gatcatgtg 2100
tttaaagata atgagaccct ttagaagac tcaggcattg tattgaagga tgggaaccgg 2160
aaacctcacta tccgagagat gaggaaggag gacgaagccc tctacacctg ccaggcatgc 2220
agtgttcttg gctgtgcaaa agtgaggcca tttttcataa tagaagggtc ccaggaaaa 2280
acgaacttgg aatcattat tctagttagc acggcgggtg ttgccatggt cttctggcta 2340
cttcttgcct tcatcctacg gaccgttaag cgggccaatg gaggggaact gaagacaggc 2400
tacttgcaca tcgtcatgga tccagatgaa ctcccatggt atgaacattg tgaacgactg 2460
ccttatgatg ccagcaaatg ggaattcccc agagaccggc tgaagctagg taagcctctt 2520
ggccgtgggt ccttgggcca agtgattgaa gcagatgcct ttggaattga caagacagca 2580
acttgcagga cagttagcct aaaaatggtg aaagaaggag caacacacag tgagcatcga 2640
gctctcatgt ctgaactcaa gatcctcatt catattggtc accatctcaa tgtggtcaac 2700
cttctaggtg cctgtaccaa gccaggaggg cactcatggt tgattgtgga attctgcaa 2760
tttggaaacc tgtccactta cctgaggagc aagagaaatg aatttgtccc ctacaagacc 2820
aaaggggac gattccgtca agggaaagac tacgttggag caatccctgt ggatctgaaa 2880
cggcgcttgg acagcatcac cagttagccag agctcagcca gctctggatt tgtggaggag 2940
aagtccctca gtgatgtaga agaagaggaa gctcctgaag atctgtataa ggacttctg 3000
accttggagc atctcatctg ttacagcttc caagtggcta agggcatgga gttcttggca 3060
tcgcaaaagt gtatccacag ggacctggcg gcacgaaata tcctcttatc ggagaagaac 3120
gtgggttaaaa tctgtgactt tggcctggcc cgggatattt ataaagatcc agattatgct 3180
agaaaaggag atgctgcctt cccttggaaa tggatggccc cagaaacaat ttttgacaga 3240
gtgtacacaa tccagagtga cgtctggtct tttgggtgtt tgctgtggga aatattttcc 3300
ttaaggctctt ctccatctc tggggtaaaag attgatgaag aattttagtag gcgattgaaa 3360
gaaggaacta gaatgagggc ccctgattat actacaccag aaatgtacca gaccatgctg 3420
gactgctggc acggggagcc cagtcagaga cccacgtttt cagagtgtgt ggaacatttg 3480
gaaaatctct tcgaagctaa tgcacagcag gatggcaaa agactcattgt tcttccgata 3540
tcagagactt tgagcatgga agaggattct ggactctctc tgcctacctc acctgtttcc 3600
tgtatggagg agggagaaat atgtgacccc aaattccatt atgacaacac agcaggaaac 3660
agtcatatc tcagaaacag taagcgaaaag agccggcctg tgagtgtaaa aacatttgaa 3720
gatatcccgt tagaagaacc agaagtaaaa gtaatcccag atgacaacca gacggacagt 3780
ggtatggttc ttgctcaga agagctgaaa actttggaag acagaaccaa attatctcca 3840
tcttttgggt gaatgggtgc cagcaaaagc agggagtctg tggcatctga aggtcacaac 3900
cagacaagcg gctaccagtc cggatatcac tccgatgaca cagacaccac cgtgtactcc 3960
agtggaggag cagaactttt aaagctgata gagattggag tgcaaacggg tagcacagcc 4020
cagattctcc agcctgactc ggggaccaca ctgagctctc ctccgtttta a 4071

```

<210> 2
5 <211> 1356
<212> PRT
<213> humano

<400> 2
10

```

Met Gln Ser Lys Val Leu Leu Ala Val Ala Leu Trp Leu Cys Val Glu
1 5 10 15
Thr Arg Ala Ala Ser Val Gly Leu Pro Ser Val Ser Leu Asp Leu Pro
20 25 30
Arg Leu Ser Ile Gln Lys Asp Ile Leu Thr Ile Lys Ala Asn Thr Thr
35 40 45
Leu Gln Ile Thr Cys Arg Gly Gln Arg Asp Leu Asp Trp Leu Trp Pro
50 55 60
Asn Asn Gln Ser Gly Ser Glu Gln Arg Val Glu Thr Glu Cys Ser
65 70 75 80
Asp Gly Leu Phe Cys Lys Thr Leu Thr Ile Pro Lys Val Ile Gly Asn
85 90 95

```

ES 2 371 870 T3

Asp Thr Gly Ala Tyr Lys Cys Phe Tyr Arg Glu Thr Asp Leu Ala Ser
 100 105 110
 Val Ile Tyr Val Tyr Val Gln Asp Tyr Arg Ser Pro Phe Ile Ala Ser
 115 120 125
 Val Ser Asp Gln His Gly Val Val Tyr Ile Thr Glu Asn Lys Asn Lys
 130 135 140
 Thr Val Val Ile Pro Cys Leu Gly Ser Ile Ser Asn Leu Asn Val Ser
 145 150 155 160
 Leu Cys Ala Arg Tyr Pro Glu Lys Arg Phe Val Pro Asp Gly Asn Arg
 165 170 175
 Ile Ser Trp Asp Ser Lys Lys Gly Phe Thr Ile Pro Ser Tyr Met Ile
 180 185 190
 Ser Tyr Ala Gly Met Val Phe Cys Glu Ala Lys Ile Asn Asp Glu Ser
 195 200 205
 Tyr Gln Ser Ile Met Tyr Ile Val Val Val Val Gly Tyr Arg Ile Tyr
 210 215 220
 Asp Val Val Leu Ser Pro Ser His Gly Ile Glu Leu Ser Val Gly Glu
 225 230 235 240
 Lys Leu Val Leu Asn Cys Thr Ala Arg Thr Glu Leu Asn Val Gly Ile
 245 250 255
 Asp Phe Asn Trp Glu Tyr Pro Ser Ser Lys His Gln His Lys Lys Leu
 260 265 270
 Val Asn Arg Asp Leu Lys Thr Gln Ser Gly Ser Glu Met Lys Lys Phe
 275 280 285
 Leu Ser Thr Leu Thr Ile Asp Gly Val Thr Arg Ser Asp Gln Gly Leu
 290 295 300
 Tyr Thr Cys Ala Ala Ser Ser Gly Leu Met Thr Lys Lys Asn Ser Thr
 305 310 315 320
 Phe Val Arg Val His Glu Lys Pro Phe Val Ala Phe Gly Ser Gly Met
 325 330 335
 Glu Ser Leu Val Glu Ala Thr Val Gly Glu Arg Val Arg Ile Pro Ala
 340 345 350
 Lys Tyr Leu Gly Tyr Pro Pro Pro Glu Ile Lys Trp Tyr Lys Asn Gly
 355 360 365
 Ile Pro Leu Glu Ser Asn His Thr Ile Lys Ala Gly His Val Leu Thr
 370 375 380
 Ile Met Glu Val Ser Glu Arg Asp Thr Gly Asn Tyr Thr Val Ile Leu
 385 390 395 400
 Thr Asn Pro Ile Ser Lys Glu Lys Gln Ser His Val Val Ser Leu Val
 405 410 415
 Val Tyr Val Pro Pro Gln Ile Gly Glu Lys Ser Leu Ile Ser Pro Val
 420 425 430
 Asp Ser Tyr Gln Tyr Gly Thr Thr Gln Thr Leu Thr Cys Thr Val Tyr
 435 440 445
 Ala Ile Pro Pro Pro His His Ile His Trp Tyr Trp Gln Leu Glu Glu
 450 455 460
 Glu Cys Ala Asn Glu Pro Ser Gln Ala Val Ser Val Thr Asn Pro Tyr
 465 470 475 480
 Pro Cys Glu Glu Trp Arg Ser Val Glu Asp Phe Gln Gly Gly Asn Lys
 485 490 495
 Ile Glu Val Asn Lys Asn Gln Phe Ala Leu Ile Glu Gly Lys Asn Lys
 500 505 510
 Thr Val Ser Thr Leu Val Ile Gln Ala Ala Asn Val Ser Ala Leu Tyr
 515 520 525
 Lys Cys Glu Ala Val Asn Lys Val Gly Arg Gly Glu Arg Val Ile Ser
 530 535 540
 Phe His Val Thr Arg Gly Pro Glu Ile Thr Leu Gln Pro Asp Met Gln

ES 2 371 870 T3

Ser Phe Gln Val Ala Lys Gly Met Glu Phe Leu Ala Ser Arg Lys Cys
 1010 1015 1020
 Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Ile Leu Leu Ser Glu Lys Asn
 1025 1030 1035 1040
 Val Val Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile Tyr Lys Asp
 1045 1050 1055
 Pro Asp Tyr Val Arg Lys Gly Asp Ala Arg Leu Pro Leu Lys Trp Met
 1060 1065 1070
 Ala Pro Glu Thr Ile Phe Asp Arg Val Tyr Thr Ile Gln Ser Asp Val
 1075 1080 1085
 Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe Ser Leu Gly Ala Ser
 1090 1095 1100
 Pro Tyr Pro Gly Val Lys Ile Asp Glu Glu Phe Cys Arg Arg Leu Lys
 1105 1110 1115 1120
 Glu Gly Thr Arg Met Arg Ala Pro Asp Tyr Thr Thr Pro Glu Met Tyr
 1125 1130 1135
 Gln Thr Met Leu Asp Cys Trp His Gly Glu Pro Ser Gln Arg Pro Thr
 1140 1145 1150
 Phe Ser Glu Leu Val Glu His Leu Gly Asn Leu Leu Gln Ala Asn Ala
 1155 1160 1165
 Gln Gln Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Val Leu Pro Ile Ser Glu Thr Leu
 1170 1175 1180
 Ser Met Glu Glu Asp Ser Gly Leu Ser Leu Pro Thr Ser Pro Val Ser
 1185 1190 1195 1200
 Cys Met Glu Glu Glu Val Cys Asp Pro Lys Phe His Tyr Asp Asn
 1205 1210 1215
 Thr Ala Gly Ile Ser Gln Tyr Leu Gln Asn Ser Lys Arg Lys Ser Arg
 1220 1225 1230
 Pro Val Ser Val Lys Thr Phe Glu Asp Ile Pro Leu Glu Glu Pro Glu
 1235 1240 1245
 Val Lys Val Ile Pro Asp Asp Asn Gln Thr Asp Ser Gly Met Val Leu
 1250 1255 1260
 Ala Ser Glu Glu Leu Lys Thr Leu Glu Asp Arg Thr Lys Leu Ser Pro
 1265 1270 1275 1280
 Ser Phe Gly Gly Met Val Pro Ser Lys Ser Arg Glu Ser Val Ala Ser
 1285 1290 1295
 Glu Gly Ser Asn Gln Thr Ser Gly Tyr Gln Ser Gly Tyr His Ser Asp
 1300 1305 1310
 Asp Thr Asp Thr Thr Val Tyr Ser Ser Glu Glu Ala Glu Leu Leu Lys
 1315 1320 1325
 Leu Ile Glu Ile Gly Val Gln Thr Gly Ser Thr Ala Gln Ile Leu Gln
 1330 1335 1340
 Pro Asp Ser Gly Thr Thr Leu Ser Ser Pro Pro Val
 1345 1350 1355

<210> 3
 <211> 4017
 5 <212> ADN
 <213> humano

<400> 3

10 atggtcagct actgggacac cggggctcctg ctgtgcgcgc tgctcagctg tctgcttctc 60
 acaggatccta gttcagggttc aaaattaaaa gatcctgaac tgagttaaagg aggcacccag 120
 cacatcatgc aagcaggcca gacactgcat ctccaatgca ggggggaagc agcccataaa 180
 tggctcttgc ctgaaatggt gagtaaggaa agcgaaaaggc tgagcataac taaatctgcc 240
 tqtggaagaa atggcaaaaca attctgcagt actttaacct tgaacacagc tcaagcaaac 300
 cacactggct tctacagctg caaatatcta gctgtacctta cttcaagaa gaaggaaaca 360
 gaatctgcaa tctatatatt tattagtgat acaggtagac ctttcgtaga gatgtacagt 420
 gaaatccccg aaattataca catgactgaa ggaagggagc tcgtcattcc ctgccgggtt 480
 acgtcaccta acatcactgt tactttaaaa aagtttccac ttgacacttt gatccctgat 540
 ggaaaacgca taatctggga cagtagaaaag ggcttcatca tatcaaatgc aacgtacaaa 600
 gaaatagggc ttctgacctg tgaagcaaca gtcaatgggc atttgtataa gacaaactat 660
 ctcacacatc gacaaaacaa tacaatcata gatgtccaaa taagcacacc acgcccagtc 720
 aaattactta gaggccatac tctgtcctc aattgtactg ctaccactcc cttgaacacg 780
 agagttcaaa tgacctggag ttaccctgat gaaaaaata agagagcttc cgtaaggcga 840
 cgaattgacc aaagcaattc ccatgccaac atattctaca gtgttcttac tattgacaaa 900

ES 2 371 870 T3

```

atgcagaaca aagacaaaag actttatact tgtcgtgtaa ggagtggacc atcattcaaa 960
tctgttaaca cctcagtgca tatatatgat aaagcattca tcactgtgaa acatcgaaaa 1020
cagcaggtgc ttgaaacgct agctggcaag cggctctacc ggctctctat gaaagtgaag 1080
gcatttccct cgccggaagt tgotatggta aaagatgggt tacctgcgac tgagaaatct 1140
gctcgtctatt tgactcgtgg ctactcgtta attatcaagg acgtaactga agaggatgca 1200
gggaattata caatcttgct gagcataaaa cagtcaaatg tgtttaaaaa cctcactgcc 1260
actctaattg tcaatgtgaa accccagatt tacgaaaagg ccgtgtcatc gtttccagac 1320
ccggctctct acccactggg cagcagacaa atcctgactt gtaccgcata tgggatccct 1380
caacctacaa tcaagtgtgt ctggcacccc tgtaaccata atcattccga agcaaggtgt 1440
gacttttgtt ccaataatga agagtccctt atcctggatg ctgacagcaa catgggaaac 1500
agaattgaga gcatcactca gcgcatggca ataatagaag gaaagaataa gatggctagc 1560
acettggttg tggctgactc tagaatttct ggaatctaca tttgcatagc ttccaataaa 1620
gttgggactg tgggaagaaa cataagcttt tatatcacag atgtgccaaa tgggtttcat 1680
gttaacttgg aaaaaatgcc gacggaagga gaggacctga aactgtcttg cacagttaac 1740
aagtctctat acagagtggt tacttggatt ttactgcgga cagttaataa cagaacaatg 1800
cactacagta ttagcaagca aaaaaatggcc atcactaagg agcactccat cactcttaac 1860
cttaccatca tgaatgtttc cctgcaagat tcaggcacct atgctgtagc agccaggaat 1920
gtatacacag gggagaagaa cctccaagaa aaagaaatta caatcagaga tcaggaagca 1980
ccatacctcc tgcgaaacct cagtgatcac acagtggcca tcagcagttc caccacttta 2040
gactgtcatg ctaatggtgt ccccagcctc cagatcactt ggtttaaaaa caaccacaaa 2100
atacaacaag agcctggaat tattttagga ccaggaagca gcacgctgtt tattgaaaga 2160
gtcacagaag aggatgaagg tgtctatcac tgcaaagcca ccaaccagaa gggctctgtg 2220
gaaagtccag catacctcac tgttcaagga acctcggaca agtctaactt ggagctgtagc 2280
actctaacat gcaactgtgt taaactgggc ctcttctggc tcctattaac cctctttatc 2340
cgaaaaatga aaaggtcttc ttctgaaata aagactgact acctatcaat tataatggac 2400
ccagatgaag ttccttttga tgagcagtggt gagcggctcc cttatgatgc cagcaagtgg 2460
gagtttgccc gggagagact taaactgggc aaatcacttg gaagaggggc ttttgaaaaa 2520
gtggttcaag catcagcatt tggcattaag aaatcaccta cgtgccggac tgtggctgtg 2580
aaaatgctga aagagggggc cacggccagc gagtacaaag ctctgatgac tgagctaaaa 2640
atcttgacc acatgggcca ccatctgaac gtggttaacc tgcctgggagc ctgcaccaag 2700
caaggagggc ctctgatggt gattgttgaa tactgcaaat atggaaatct ctccaactac 2760
ctcaagagca aacgtgactt attttttctc aacaaggatg cagcactaca catggagcct 2820
aagaaagaaa aaatggagcc aggcctggaa caaggcaaga aaccaagact agatagcgtc 2880
accagcagcg aaagctttgc gagctccggc tttcaggaag ataaaagtct gagtgatggt 2940
gaggaagagg aggatcttga cggtttctac aaggagccca tcactatgga agatctgatt 3000
tcttacagtt tcaagtggc cagaggcatg gagtctctgt tctccagaaa gtgcattcat 3060
cgggacctgg cagcgagaaa cattctttta tctgagaaca acgtggtgaa gatttgtgat 3120
tttggccttg cccgggatat ttataagaac cccgattatg tgagaaaaag agatactcga 3180
cttctctgga aatggatggc tgaaatctat atctttgaca aaatctacag caccaagagc 3240
gacgtgtggt cttacggagt attgctgtgg gaaatcttct ccttaggtgg gtctccatac 3300
ccagaggtac aaatggatga ggacttttgc agtcgcctga gggaaaggcat gaggatgaga 3360
gctcctgagt actctactcc tgaaatctat cagatcatgc tggactgctg gcacagagac 3420
ccaaaagaaa ggccaagatt tgcagaactt gtggaaaaac taggtgattt gcttcaagca 3480
aatgtacaac aggatggtaa agactacatc ccaatcaatg ccatactgac aggaaatagt 3540
gggtttacat actcaactcc tgcactctat gaggacttct tcaaggaaaag tatttcagct 3600
ccgaagtta attcaggaag ctctgatgat gtcagatag taaatgcttt caagttcatg 3660
agcctggaaa gaatcaaaac ctttgaagaa cttttaccca atgccacctc catgttttag 3720
gactaccagg gcgacagcgc cactctgttg gcctctccca tgcgtgaagcg cttcactctg 3780
actgacagca accccaagcg ctgcgtcaag attgacttga gagtaaccag taaaagtaag 3840
gagtcggggc tgtctgatgt cagcaggccc agtttctgcc attccagctg tgggcacgtc 3900
agcgaaggca acccgaggtt cacctacgac cacgctgagc tggaaaggaa aatcgctgtc 3960
tgcctcccgc ccccagacta caactcgggt gtctctgact ccacccccac catctag 4017

```

<210> 4
 5 <211> 1338
 <212> PRT
 <213> humano

<400> 4

10

```

Met Val Ser Tyr Trp Asp Thr Gly Val Leu Leu Cys Ala Leu Leu Ser
 1          5          10          15
Cys Leu Leu Leu Thr Gly Ser Ser Ser Gly Ser Lys Leu Lys Asp Pro
 20          25          30
Glu Leu Ser Leu Lys Gly Thr Gln His Ile Met Gln Ala Gly Gln Thr
 35          40          45
Leu His Leu Gln Cys Arg Gly Glu Ala Ala His Lys Trp Ser Leu Pro
 50          55          60
Glu Met Val Ser Lys Glu Ser Glu Arg Leu Ser Ile Thr Lys Ser Ala
 65          70          75          80
Cys Gly Arg Asn Gly Lys Gln Phe Cys Ser Thr Leu Thr Leu Asn Thr
 85          90          95
Ala Gln Ala Asn His Thr Gly Phe Tyr Ser Cys Lys Tyr Leu Ala Val
 100         105         110
Pro Thr Ser Lys Lys Lys Glu Thr Glu Ser Ala Ile Tyr Ile Phe Ile
 115         120         125
Ser Asp Thr Gly Arg Pro Phe Val Glu Met Tyr Ser Glu Ile Pro Glu
 130         135         140
Ile Ile His Met Thr Glu Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro Cys Arg Val
 145         150         155         160

```


ES 2 371 870 T3

Thr Ser Pro Asn Ile Thr Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr
 165 170 175
 Leu Ile Pro Asp Gly Lys Arg Ile Ile Trp Asp Ser Arg Lys Gly Phe
 180 185 190
 Ile Ile Ser Asn Ala Thr Tyr Lys Glu Ile Gly Leu Leu Thr Cys Glu
 195 200 205
 Ala Thr Val Asn Gly His Leu Tyr Lys Thr Asn Tyr Leu Thr His Arg
 210 215 220
 Gln Thr Asn Thr Ile Ile Asp Val Gln Ile Ser Thr Pro Arg Pro Val
 225 230 235
 Lys Leu Leu Arg Gly His Thr Leu Val Leu Asn Cys Thr Ala Thr Thr
 245 250 255
 Pro Leu Asn Thr Arg Val Gln Met Thr Trp Ser Tyr Pro Asp Glu Lys
 260 265 270
 Asn Lys Arg Ala Ser Val Arg Arg Ile Asp Gln Ser Asn Ser His
 275 280 285
 Ala Asn Ile Phe Tyr Ser Val Leu Thr Ile Asp Lys Met Gln Asn Lys
 290 295 300
 Asp Lys Gly Leu Tyr Thr Cys Arg Val Arg Ser Gly Pro Ser Phe Lys
 305 310 315 320
 Ser Val Asn Thr Ser Val His Ile Tyr Asp Lys Ala Phe Ile Thr Val
 325 330 335
 Lys His Arg Lys Gln Gln Val Leu Glu Thr Val Ala Gly Lys Arg Ser
 340 345 350
 Tyr Arg Leu Ser Met Lys Val Lys Ala Phe Pro Ser Pro Glu Val Val
 355 360 365
 Trp Leu Lys Asp Gly Leu Pro Ala Thr Glu Lys Ser Ala Arg Tyr Leu
 370 375 380
 Thr Arg Gly Tyr Ser Leu Ile Ile Lys Asp Val Thr Glu Glu Asp Ala
 385 390 395 400
 Gly Asn Tyr Thr Ile Leu Leu Ser Ile Lys Gln Ser Asn Val Phe Lys
 405 410 415
 Asn Leu Thr Ala Thr Leu Ile Val Asn Val Lys Pro Gln Ile Tyr Glu
 420 425 430
 Lys Ala Val Ser Ser Phe Pro Asp Pro Ala Leu Tyr Pro Leu Gly Ser
 435 440 445
 Arg Gln Ile Leu Thr Cys Thr Ala Tyr Gly Ile Pro Gln Pro Thr Ile
 450 455 460
 Lys Trp Phe Trp His Pro Cys Asn His Asn His Ser Glu Ala Arg Cys
 465 470 475 480
 Asp Phe Cys Ser Asn Asn Glu Glu Ser Phe Ile Leu Asp Ala Asp Ser
 485 490 495
 Asn Met Gly Asn Arg Ile Glu Ser Ile Thr Gln Arg Met Ala Ile Ile
 500 505 510
 Glu Gly Lys Asn Lys Met Ala Ser Thr Leu Val Val Ala Asp Ser Arg
 515 520 525
 Ile Ser Gly Ile Tyr Ile Cys Ile Ala Ser Asn Lys Val Gly Thr Val
 530 535 540
 Gly Arg Asn Ile Ser Phe Tyr Ile Thr Asp Val Pro Asn Gly Phe His
 545 550 555 560
 Val Asn Leu Glu Lys Met Pro Thr Glu Gly Glu Asp Leu Lys Leu Ser
 565 570 575
 Cys Thr Val Asn Lys Phe Leu Tyr Arg Asp Val Thr Trp Ile Leu Leu
 580 585 590
 Arg Thr Val Asn Asn Arg Thr Met His Tyr Ser Ile Ser Lys Gln Lys
 595 600 605
 Met Ala Ile Thr Lys Glu His Ser Ile Thr Leu Asn Leu Thr Ile Met
 610 615 620
 Asn Val Ser Leu Gln Asp Ser Gly Thr Tyr Ala Cys Arg Ala Arg Asn
 625 630 635 640
 Val Tyr Thr Gly Glu Glu Ile Leu Gln Lys Lys Glu Ile Thr Ile Arg
 645 650 655
 Asp Gln Glu Ala Pro Tyr Leu Leu Arg Asn Leu Ser Asp His Thr Val
 660 665 670
 Ala Ile Ser Ser Ser Thr Thr Leu Asp Cys His Ala Asn Gly Val Pro
 675 680 685
 Glu Pro Gln Ile Thr Trp Phe Lys Asn Asn His Lys Ile Gln Gln Glu
 690 695 700
 Pro Gly Ile Ile Leu Gly Pro Gly Ser Ser Thr Leu Phe Ile Glu Arg
 705 710 715 720
 Val Thr Glu Glu Asp Glu Gly Val Tyr His Cys Lys Ala Thr Asn Gln
 725 730 735
 Lys Gly Ser Val Glu Ser Ser Ala Tyr Leu Thr Val Gln Gly Thr Ser
 740 745 750
 Asp Lys Ser Asn Leu Glu Leu Ile Thr Leu Thr Cys Thr Cys Val Ala
 755 760 765
 Ala Thr Leu Phe Trp Leu Leu Leu Thr Leu Phe Ile Arg Lys Met Lys
 770 775 780
 Arg Ser Ser Ser Glu Ile Lys Thr Asp Tyr Leu Ser Ile Ile Met Asp
 785 790 795 800
 Pro Asp Glu Val Pro Leu Asp Glu Gln Cys Glu Arg Leu Pro Tyr Asp
 805 810 815

ES 2 371 870 T3

Ala Ser Lys Trp Glu Phe Ala Arg Glu Arg Leu Lys Leu Gly Lys Ser
 820 825 830
 Leu Gly Arg Gly Ala Phe Gly Lys Val Val Gln Ala Ser Ala Phe Gly
 835 840 845
 Ile Lys Lys Ser Pro Thr Cys Arg Thr Val Ala Val Lys Met Leu Lys
 850 855 860
 Glu Gly Ala Thr Ala Ser Glu Tyr Lys Ala Leu Met Thr Glu Leu Lys
 865 870 875
 Ile Leu Thr His Ile Gly His His Leu Asn Val Val Asn Leu Leu Gly
 885 890 895
 Ala Cys Thr Lys Gln Gly Gly Pro Leu Met Val Ile Val Glu Tyr Cys
 900 905
 Lys Tyr Gly Asn Leu Ser Asn Tyr Leu Lys Ser Lys Arg Asp Leu Phe
 915 920 925
 Phe Leu Asn Lys Asp Ala Ala Leu His Met Glu Pro Lys Lys Glu Lys
 930 935 940
 Met Glu Pro Gly Leu Glu Gln Gly Lys Lys Pro Arg Leu Asp Ser Val
 945 950 955
 Thr Ser Ser Glu Ser Phe Ala Ser Ser Gly Phe Gln Glu Asp Lys Ser
 965 970 975
 Leu Ser Asp Val Glu Glu Glu Asp Ser Asp Gly Phe Tyr Lys Glu
 980 985 990
 Pro Ile Thr Met Glu Asp Leu Ile Ser Tyr Ser Phe Gln Val Ala Arg
 995 1000 1005
 Gly Met Glu Phe Leu Ser Ser Arg Lys Cys Ile His Arg Asp Leu Ala
 1010 1015 1020
 Ala Arg Asn Ile Leu Leu Ser Glu Asn Asn Val Val Lys Ile Cys Asp
 1025 1030 1035
 Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile Tyr Lys Asn Pro Asp Tyr Val Arg Lys
 1045 1050 1055
 Gly Asp Thr Arg Leu Pro Leu Lys Trp Met Ala Pro Glu Ser Ile Phe
 1060 1065 1070
 Asp Lys Ile Tyr Ser Thr Lys Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Leu
 1075 1080 1085
 Leu Trp Glu Ile Phe Ser Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Val Gln
 1090 1095 1100
 Met Asp Glu Asp Phe Cys Ser Arg Leu Arg Glu Gly Met Arg Met Arg
 1105 1110 1115
 Ala Pro Glu Tyr Ser Thr Pro Glu Ile Tyr Gln Ile Met Leu Asp Cys
 1125 1130 1135
 Trp His Arg Asp Pro Lys Glu Arg Pro Arg Phe Ala Glu Leu Val Glu
 1140 1145 1150
 Lys Leu Gly Asp Leu Leu Gln Ala Asn Val Gln Gln Asp Gly Lys Asp
 1155 1160 1165
 Tyr Ile Pro Ile Asn Ala Ile Leu Thr Gly Asn Ser Gly Phe Thr Tyr
 1170 1175 1180
 Ser Thr Pro Ala Phe Ser Glu Asp Phe Phe Lys Glu Ser Ile Ser Ala
 1185 1190 1195
 Pro Lys Phe Asn Ser Gly Ser Ser Asp Asp Val Arg Tyr Val Asn Ala
 1205 1210 1215
 Phe Lys Phe Met Ser Leu Glu Arg Ile Lys Thr Phe Glu Glu Leu Leu
 1220 1225 1230
 Pro Asn Ala Thr Ser Met Phe Asp Asp Tyr Gln Gly Asp Ser Ser Thr
 1235 1240 1245
 Leu Leu Ala Ser Pro Met Leu Lys Arg Phe Thr Trp Thr Asp Ser Lys
 1250 1255 1260
 Pro Lys Ala Ser Leu Lys Ile Asp Leu Arg Val Thr Ser Lys Ser Lys
 1265 1270 1275 1280
 Glu Ser Gly Leu Ser Asp Val Ser Arg Pro Ser Phe Cys His Ser Ser
 1285 1290 1295
 Cys Gly His Val Ser Glu Gly Lys Arg Arg Phe Thr Tyr Asp His Ala
 1300 1305 1310
 Glu Leu Glu Arg Lys Ile Ala Cys Cys Ser Pro Pro Pro Asp Tyr Asn
 1315 1320 1325
 Ser Val Val Leu Tyr Ser Thr Pro Pro Ile
 1330 1335

<210> 5
 5 <211> 5390
 <212> ADN
 <213> ratón

<400> 5

10

ctgtgtcccg cagccggata acctggctga cccgattccg cggacaccgc tgcagccgcg 60
 gctggagcca gggcgccggt gccccgcgct ctccccggtc ttgcgctgcy ggggccatac 120
 cgctctgtg actctttgc gggccaggga cggagaagga gtctgtgctt gagaaactgg 180
 gctctgtgcc cagccgcgag gtgcaggatg gagagcaagg cgctgctagc tgtcgtctg 240
 tggttctgcy tggagaccgc agccgcctct gtgggtttga ctggcgattt tctccatccc 300
 cccaagctca gcaacagaa agacatactg acaattttgg caatacaac ccttcagatt 360
 acttgcaggg qacaqcqgga ccttqactqg ctttqccca atqctcaqcq tqattctgaa 420

ES 2 371 870 T3

gaaaggggat tgggtactga atgcccgggt ggtgacagta tcttctgcaa aacactcacc 480
 attcccagggt tgggtggaaa tgatactgga gcctacaagt gctcgtaccg ggacgtcgac 540
 atagcctcca ctgtttatgt ctatgttcga gattacagat caccattcat cgctctgtc 600
 agtgaccagc atggcatcgt gtacatcacc gagaacaaga acaaaactgt ggtgatcccc 660
 tgccgaggggt cgatttcaaa cctcaatgtg tctctttgcg ctaggatcc agaaaaagaga 720
 tttgttccgg atggaacacg aatttctctg gacagcgaga taggctttac tctcccaggt 780
 tacatgatca gctatgccgg catggtcttc tgtgaggcaa agatcaatga tgaaacctat 840
 cagtctatca tgtacatagt tgtggttgta ggatatagga tttatgatgt gattctgagc 900
 cccccgatg aaattgagct atctgccgga gaaaaacttg tcttaaattg tacagcgaga 960
 acagagctca atgtggggct tgatttcacc tggcactctc caccttcaaa gtctcatcat 1020
 aagaagattg taaaccggga tgtgaaaccc tttcctggga ctgtggcgaa gatgtttttg 1080
 agcaccttga caatagaaag tgtgaccaag agtgaccaag gggaatacac ctgtgtagcg 1140
 tccagtggac ggatgatcaa gagaaataga acatttgtcc gaggttcacac aaagcctttt 1200
 attgctttcg gtagtgggat gaaatctttg gtggaagcca cagtgggcag tcaagtccga 1260
 atccctgtga atgtatcag ttaccagct cctgatatca aatggtagag aaatggaagg 1320
 cccattgagt ccaactacac aatgattggt ggcgatgaac tcacatcat ggaagtgact 1380
 gaaagagatg caggaacta cacggtcatc ctaccaacc ccatttcaat ggagaaacag 1440
 agccacatgg tctctctggt tgtgaaatgt ccaaccacaga cctgtgagaa agccttgatc 1500
 tcgctatagg attctacca gtatgggacc atgcagacat tgacatgcac agtctacgcc 1560
 aacctcccc tgcaccacat ccagtggtac tggcagctag aagaagcctg ctccctacaga 1620
 cccggccaaa caagccgta tgcctgtaaa gaatggagac acgtggagga tttccagggg 1680
 ggaacaaga tcgaagtac caaaaaacca tatgccctga ttgaaggaaa aaacaaaact 1740
 gtaagtacgc tggctatcca agctgccaac gtgtcagcgt tgtacaaaat tgaagccatc 1800
 aacaaaagcg gacgagga gagggtcatc tccttccatg tgaatcagggg tctgaaatt 1860
 actgtgcaac ctgctgcccc gccaaactgag caggagagtg tgtccctgtt gtgactgca 1920
 gacagaaata cgttttgaaa cctcacgtgg tacaagcttg gctcacaggg aacatcggtc 1980
 cacatggggc caatcactac accagtttgc aagaacttgg atgtctttg gaaactgaa 2040
 ggcacatgt tttctaacag cacaaatgac atcttgattg tggcatttca gaatgcctct 2100
 ctgcaggacc aaggcgacta tgtttgctct gctcaagata agaagaccaa gaaaagacat 2160
 tgcctggatc aacagctcat catcctagag ccatgatcac cggaaatctg 2220
 gagaatcaga caacaacat tggcagacc attgaaatga cttgccagc atctggaaat 2280
 cctacccccc acattacatg gttcaagac aacgagacc tggtagaaga ttcaggcatt 2340
 gtaactgagag atgggaaccg gaacctgact atccgaggg tgaggaagga ggatggaggc 2400
 ctctacacct gccagccctg caatgtcctt ggctgtgcaa gagcgagac gctctcata 2460
 atagaagggt cccaggaaaa gaccaacttg gaagtcatta tcctcgtcgg cactgcagtg 2520
 attgccatgt tcttctggct ccttctgttc attgtctac ggaccgttaa gcgggccaat 2580
 gaaggggaac tgaagcaggt ctactgtct attgtcatgg atccagatga attgcccttg 2640
 gatgagcgct gtgaaacgct gcctatgat gccagcaagt gggaaatccc cagggaccgg 2700
 ctgaaactag gaaaacctct tggcccggggt gccttcggcc aagtgatga ggcagacgt 2760
 tttgaaattg acaagacaaa acagttagcc acagttagcc tcaagatgtt gaaagaagga 2820
 gcaacaacac gcgagcatcg agccctcatg tctgaaactca agatcctcat ccacattggt 2880
 caccatctca atgtggtgaa cctcctaggg gcctgcacca agccgggagg gcctctcatg 2940
 gtgattgtgg aattctgcaa gtttggaaac ctatcaactt acttacgggg caagagaaat 3000
 gaatttgttc cctataagag caaaggggca cgcttccgcc agggcaagga ctacgttggg 3060
 gagctctccg tggatctgaa aagacgcttg gacagcatca ccagcagcca gagctctgcc 3120
 agctcaggtc tgtttgagga gaaatcgctc agtgatgtag aggaagaaga agcttctgaa 3180
 gaactgtaca aggacttctt gaccttggag catctcatct gttacagctt ccaagtggct 3240
 aagggcatgg agttcttggc atcaaggaag tgtatccaca gggacctggc agcacgaaac 3300
 attctcctat cggagaagaa tgtggttaag atctgtgact ctggttggc ccgggacatt 3360
 tataaagacc cggattatgt cagaaaagga gatgcccgac tccctttgaa gtggatggcc 3420
 ccggaaccca tttttgacag agtatacaca attcagagcg atgtgtggtc tttcgggtgtg 3480
 ttgctctggg aatcttggca cttagggtcc tccccatacc ctggggctcaa gattgatgaa 3540
 gaattttgta ggagattgaa agaaggaact agaatgctgg ctctgacta cactaccca 3600
 gaaatgtacc agaccatgtg ggactgtctg catgaggacc ccaaccagag accctcgttt 3660
 tcagagtggg tggagcattt ggggaaaccc ctgcaagcaa atgctgagca ggatggcaaa 3720
 gactatattg ttcttccaat gtcagagaca ctgagcatgg aagaggattc tggactctcc 3780
 ctgctacctc cactgttttc ctgtatggag gaagggagag tgtgagacc caaatccat 3840
 tatgacaaca cagcaggaat cagtcaattat ctccagaaca gtaagcgaaa gagecggcca 3900
 gtgagtgtaa aaacatttga agatcccaca ttggaggaac cagaagtaaa agtgatccca 3960
 gatgacagcc agacagacag tgggatggtc cttgcatcag aagagctgaa aactctgaa 4020
 gacaggaaca aattatctcc ggaatgatgc ggaatgatgc ccagtaaaa cagggagctc 4080
 gtggcctcgg aaggctccaa ccagaccagt ggctaccagt ctgggtatca ctcagatgac 4140
 acagacacca cctgtactc cagcgacgag gcaggacttt taaagatggt ggatgctgca 4200
 gttcacgctg accctgggac cacactgcgc tcacctctg ttaaaatgga agtggctctg 4260
 tcccggctcc gcccccactc cctggaaatc acgagagagg tgctgcttag attttcaagt 4320
 tttgttcttt ccaccaccg gaattgattt ctatttttgg aggagggacc 4380
 tcagactgca aggagcttgt cctcagggca ttccagaga agatgccat gacccaagaa 4440
 tgtgttgact ctactctctt ttccattcat ttaaaagtcc tatataatgt gccctgctgt 4500
 ggtctcacta ccagttaaag caaaaagact tcaaacacgt ggaactctgtc ctccaagaag 4560
 tggcaacggc acctctgtga aactggatcg aatgggcaat gctttgtgtg ttgaggatgg 4620
 gtgagatgtc ccagggccga gtctgtctac cttggaggct ttgtggagga tgcggctatg 4680
 agccaagtgt taagtgtggg atgtggactg ggaggaagga aggcgcaagt cgctcggaga 4740
 gcggttggag cctgcagatg cattgtgctg gctctgtgg aggtggcctt gtgcccgtc 4800
 aggaaacgca aaggcggccc gcagggtttg gttttggaag gtttgctgc tcttcacagt 4860
 cgggttacag cggagtccc tgtggcgttt cctactccta atgagagttc ctccggact 4920
 ctacgtgtc tctctggcctg gcccagggaa ggaaatgat cagcttctc ctctctcatc 4980
 tctcaggtg tgccttaatt cagaacacca aaagagagga acgtcggcag aggtcctctg 5040
 cggggccgaa gaattgtgag aacagaaacg aaactcaggg tttctgctgg gtggagacc 5100
 acgtggcgcc ctgtgtgag gtctgaggtt tctctgtcaa gtggcggtaa aggtcagggc 5160
 tgggttctct cctctatctc caactcctgtc aggtcctcagta ttttagcttt 5220
 gtggcttctc gatggcagaa aactcttaat tgggtgtgtt gctctccaga taactactag 5280
 ccagatttctg aaattacttt tttagccgag ttatgataac atctactgta tctttagaa 5340
 ttttaaccta taaaactatg tctactggtt tctgcctgtg tgcttatggt 5390

ES 2 371 870 T3

<210> 6
 <211> 1345
 <212> PRT
 <213> ratón

5

<400> 6

Met Glu Ser Lys Ala Leu Leu Ala Val Ala Leu Trp Phe Cys Val Glu
 1 5 10 15
 Thr Arg Ala Ala Ser Val Gly Leu Thr Gly Asp Phe Leu His Pro Pro
 20 25 30
 Lys Leu Ser Thr Gln Lys Asp Ile Leu Thr Ile Leu Ala Asn Thr Thr
 35 40 45
 Leu Gln Ile Thr Cys Arg Gly Gln Arg Asp Leu Asp Trp Leu Trp Pro
 50 55 60
 Asn Ala Gln Arg Asp Ser Glu Glu Arg Val Leu Val Thr Glu Cys Gly
 65 70 75 80
 Gly Gly Asp Ser Ile Phe Cys Lys Thr Leu Thr Ile Pro Arg Val Val
 85 90 95
 Gly Asn Asp Thr Gly Ala Tyr Lys Cys Ser Tyr Arg Asp Val Asp Ile
 100 105 110
 Ala Ser Thr Val Tyr Val Tyr Val Arg Asp Tyr Arg Ser Pro Phe Ile
 115 120 125
 Ala Ser Val Ser Asp Gln His Gly Ile Val Tyr Ile Thr Glu Asn Lys
 130 135 140
 Asn Lys Thr Val Val Ile Pro Cys Arg Gly Ser Ile Ser Asn Leu Asn
 145 150 155 160
 Val Ser Leu Cys Ala Arg Tyr Pro Glu Lys Arg Phe Val Pro Asp Gly
 165 170 175
 Asn Arg Ile Ser Trp Asp Ser Glu Ile Gly Phe Thr Leu Pro Ser Tyr
 180 185 190
 Met Ile Ser Tyr Ala Gly Met Val Phe Cys Glu Ala Lys Ile Asn Asp
 195 200 205
 Glu Thr Tyr Gln Ser Ile Met Tyr Ile Val Val Val Val Gly Tyr Arg
 210 215 220
 Ile Tyr Asp Val Ile Leu Ser Pro Pro His Glu Ile Glu Leu Ser Ala
 225 230 235 240
 Gly Glu Lys Leu Val Leu Asn Cys Thr Ala Arg Thr Glu Leu Asn Val
 245 250 255
 Gly Leu Asp Phe Thr Trp His Ser Pro Pro Ser Lys Ser His His Lys
 260 265 270
 Lys Ile Val Asn Arg Asp Val Lys Pro Phe Pro Gly Thr Val Ala Lys
 275 280 285
 Met Phe Leu Ser Thr Leu Thr Ile Glu Ser Val Thr Lys Ser Asp Gln
 290 295 300
 Gly Glu Tyr Thr Cys Val Ala Ser Ser Gly Arg Met Ile Lys Arg Asn
 305 310 315 320
 Arg Thr Phe Val Arg Val His Thr Lys Pro Phe Ile Ala Phe Gly Ser
 325 330 335
 Gly Met Lys Ser Leu Val Glu Ala Thr Val Gly Ser Gln Val Arg Ile
 340 345 350
 Pro Val Lys Tyr Leu Ser Tyr Pro Ala Pro Asp Ile Lys Trp Tyr Arg
 355 360 365
 Asn Gly Arg Pro Ile Glu Ser Asn Tyr Thr Met Ile Val Gly Asp Glu
 370 375 380
 Leu Thr Ile Met Glu Val Thr Glu Arg Asp Ala Gly Asn Tyr Thr Val
 385 390 395 400
 Ile Leu Thr Asn Pro Ile Ser Met Glu Lys Gln Ser His Met Val Ser
 405 410 415
 Leu Val Val Asn Val Pro Pro Gln Ile Gly Glu Lys Ala Leu Ile Ser
 420 425 430
 Pro Met Asp Ser Tyr Gln Tyr Gly Thr Met Gln Thr Leu Thr Cys Thr
 435 440 445
 Val Tyr Ala Asn Pro Pro Leu His His Ile Gln Trp Tyr Trp Gln Leu
 450 455 460
 Glu Glu Ala Cys Ser Tyr Arg Pro Gly Gln Thr Ser Pro Tyr Ala Cys
 465 470 475 480
 Lys Glu Trp Arg His Val Glu Asp Phe Gln Gly Gly Asn Lys Ile Glu
 485 490 495
 Val Thr Lys Asn Gln Tyr Ala Leu Ile Glu Gly Lys Asn Lys Thr Val
 500 505 510
 Ser Thr Leu Val Ile Gln Ala Ala Asn Val Ser Ala Leu Tyr Lys Cys
 515 520 525
 Glu Ala Ile Asn Lys Ala Gly Arg Gly Glu Arg Val Ile Ser Phe His
 530 535 540
 Val Ile Arg Gly Pro Glu Ile Thr Val Gln Pro Ala Ala Gln Pro Thr
 545 550 555 560

ES 2 371 870 T3

Glu Gln Glu Ser Val Ser Leu Leu Cys Thr Ala Asp Arg Asn Thr Phe
 565 570 575
 Glu Asn Leu Thr Trp Tyr Lys Leu Gly Ser Gln Ala Thr Ser Val His
 580 585 590
 Met Gly Glu Ser Leu Thr Pro Val Cys Lys Asn Leu Asp Ala Leu Trp
 595 600 605
 Lys Leu Asn Gly Thr Met Phe Ser Asn Ser Thr Asn Asp Ile Leu Ile
 610 615 620
 Val Ala Phe Gln Asn Ala Ser Leu Gln Asp Gln Gly Asp Tyr Val Cys
 625 630 635 640
 Ser Ala Gln Asp Lys Lys Thr Lys Lys Arg His Cys Leu Val Lys Gln
 645 650 655
 Leu Ile Ile Leu Glu Arg Met Ala Pro Met Ile Thr Gly Asn Leu Glu
 660 665 670
 Asn Gln Thr Thr Thr Ile Gly Glu Thr Ile Glu Val Thr Cys Pro Ala
 675 680 685
 Ser Gly Asn Pro Thr Pro His Ile Thr Trp Phe Lys Asp Asn Glu Thr
 690 695 700
 Leu Val Glu Asp Ser Gly Ile Val Leu Arg Asp Gly Asn Arg Asn Leu
 705 710 715 720
 Thr Ile Arg Arg Val Arg Lys Glu Asp Gly Gly Leu Tyr Thr Cys Gln
 725 730 735
 Ala Cys Asn Val Leu Gly Cys Ala Arg Ala Glu Thr Leu Phe Ile Ile
 740 745 750
 Glu Gly Ala Gln Glu Lys Thr Asn Leu Glu Val Ile Ile Leu Val Gly
 755 760 765
 Thr Ala Val Ile Ala Met Phe Phe Trp Leu Leu Leu Val Ile Val Leu
 770 775 780
 Arg Thr Val Lys Arg Ala Asn Glu Gly Glu Leu Lys Thr Gly Tyr Leu
 785 790 795 800
 Ser Ile Val Met Asp Pro Asp Glu Leu Pro Leu Asp Glu Arg Cys Glu
 805 810 815
 Arg Leu Pro Tyr Asp Ala Ser Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asp Arg Leu
 820 825 830
 Lys Leu Gly Lys Pro Leu Gly Arg Gly Ala Phe Gly Gln Val Ile Glu
 835 840 845
 Ala Asp Ala Phe Gly Ile Asp Lys Thr Ala Thr Cys Lys Thr Val Ala
 850 855 860
 Val Lys Met Leu Lys Glu Gly Ala Thr His Ser Glu His Arg Ala Leu
 865 870 875 880
 Met Ser Glu Leu Lys Ile Leu Ile His Ile Gly His His Leu Asn Val
 885 890 895
 Val Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Lys Pro Gly Gly Pro Leu Met Val
 900 905 910
 Ile Val Glu Phe Cys Lys Phe Gly Asn Leu Ser Thr Tyr Leu Arg Gly
 915 920 925
 Lys Arg Asn Glu Phe Val Pro Tyr Lys Ser Lys Gly Ala Arg Phe Arg
 930 935 940
 Gln Gly Lys Asp Tyr Val Gly Glu Leu Ser Val Asp Leu Lys Arg Arg
 945 950 955 960
 Leu Asp Ser Ile Thr Ser Ser Gln Ser Ser Ala Ser Ser Gly Phe Val
 965 970 975
 Glu Glu Lys Ser Leu Ser Asp Val Glu Glu Glu Glu Ala Ser Glu Glu
 980 985 990
 Leu Tyr Lys Asp Phe Leu Thr Leu Glu His Leu Ile Cys Tyr Ser Phe
 995 1000 1005
 Gln Val Ala Lys Gly Met Glu Phe Leu Ala Ser Arg Lys Cys Ile His
 1010 1015 1020
 Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Ile Leu Leu Ser Glu Lys Asn Val Val
 1025 1030 1035 1040
 Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile Tyr Lys Asp Pro Asp
 1045 1050 1055
 Tyr Val Arg Lys Gly Asp Ala Arg Leu Pro Leu Lys Trp Met Ala Pro
 1060 1065 1070
 Glu Thr Ile Phe Asp Arg Val Tyr Thr Ile Gln Ser Asp Val Trp Ser
 1075 1080 1085
 Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe Ser Leu Gly Ala Ser Pro Tyr
 1090 1095 1100
 Pro Gly Val Lys Ile Asp Glu Glu Phe Cys Arg Arg Leu Lys Glu Gly
 1105 1110 1115 1120
 Thr Arg Met Arg Ala Pro Asp Tyr Thr Thr Pro Glu Met Tyr Gln Thr
 1125 1130 1135
 Met Leu Asp Cys Trp His Glu Asp Pro Asn Gln Arg Pro Ser Phe Ser
 1140 1145 1150
 Glu Leu Val Glu His Leu Gly Asn Leu Leu Gln Ala Asn Ala Gln Gln
 1155 1160 1165
 Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Val Leu Pro Met Ser Glu Thr Leu Ser Met
 1170 1175 1180
 Glu Glu Asp Ser Gly Leu Ser Leu Pro Thr Ser Pro Val Ser Cys Met
 1185 1190 1195 1200
 Glu Glu Glu Glu Val Cys Asp Pro Lys Phe His Tyr Asp Asn Thr Ala

ES 2 371 870 T3

```

                1205                1210                1215
Gly Ile Ser His Tyr Leu Gln Asn Ser Lys Arg Lys Ser Arg Pro Val
                1220                1225                1230
Ser Val Lys Thr Phe Glu Asp Ile Pro Leu Glu Glu Pro Glu Val Lys
                1235                1240                1245
Val Ile Pro Asp Asp Ser Gln Thr Asp Ser Gly Met Val Leu Ala Ser
                1250                1255                1260
Glu Glu Leu Lys Thr Leu Glu Asp Arg Asn Lys Leu Ser Pro Ser Phe
1265                1270                1275                1280
Gly Gly Met Met Pro Ser Lys Ser Arg Glu Ser Val Ala Ser Glu Gly
                1285                1290                1295
Ser Asn Gln Thr Ser Gly Tyr Gln Ser Gly Tyr His Ser Asp Asp Thr
                1300                1305                1310
Asp Thr Thr Val Tyr Ser Ser Asp Glu Ala Gly Leu Leu Lys Met Val
                1315                1320                1325
Asp Ala Ala Val His Ala Asp Ser Gly Thr Thr Leu Arg Ser Pro Pro
                1330                1335                1340
Val
1345

```

REIVINDICACIONES

- 5 1. Vacuna de ADN eficaz para provocar una respuesta inmunitaria contra las células endoteliales proliferativas, que comprende un constructo de ADN que codifica de manera operativa una proteína receptora de VEGF en un vehículo farmacéuticamente aceptable, en la que la proteína receptora de VEGF se selecciona de entre el grupo constituido por VEGFR-2 que presenta la secuencia de SEC ID nº: 2, Flk-1 que presenta la secuencia de SEC ID nº: 6, y un receptor que se une al VEGF o a los fragmentos del mismo y que tiene una secuencia que comparte por lo menos 80% de homología con la secuencia de SEC ID nº: 2 ó 6 y el constructo de ADN se incorpora de manera operativa en un vector de *Salmonella typhimurium* o *Salmonella typhi* atenuadas.
- 10 2. Vacuna de ADN según la reivindicación 1, en la que el constructo de ADN es un ADN sustancialmente purificado que presenta una secuencia polinucleótida seleccionada de entre el grupo constituido por SEC ID nº: 1, SEC ID nº: 5, y una secuencia polinucleótida que comparte por lo menos 80% de homología con respecto a las mismas y codifica un receptor que se une al VEGF o fragmentos del mismo.
- 15 3. Utilización de un constructo de ADN que codifica de manera operativa una proteína receptora de VEGF y un vehículo farmacéuticamente aceptable para la misma para la preparación de una vacuna de ADN para inhibir el crecimiento tumoral en un mamífero, en la que se administra por vía oral una cantidad inmunológicamente eficaz de dicha vacuna de ADN a dicho mamífero, mostrando dicho mamífero una respuesta inmunitaria provocada por la vacuna y específica para las células endoteliales proliferativas, lo que da lugar a la detención del crecimiento tumoral, la reducción del tamaño del tumor o la inhibición de la diseminación del tumor, en la que la proteína receptora de VEGF es seleccionada de entre el grupo constituido por VEGFR-2, que presenta la secuencia de SEC ID nº: 2, Flk-1, que presenta la secuencia SEC ID nº: 6, y un receptor que se une al VEGF o a los fragmentos del mismo y que presenta una secuencia que comparte por lo menos 80% de homología con la secuencia de SEC ID nº: 2 ó 6 y el constructo de ADN se incorpora de manera operativa en un vector de *Salmonella typhimurium* o *Salmonella typhi* atenuadas.
- 20 4. Utilización según la reivindicación 3, en la que el mamífero es un ser humano.
- 25 5. Artículo manufacturado que comprende una vacuna según la reivindicación 1 envasada en un recipiente estéril sellado herméticamente, presentando el recipiente una etiqueta fijada al mismo, presentando la etiqueta un material impreso que identifica la vacuna y proporciona información útil para la persona que administra dicha vacuna al paciente.
- 30

FIGURA 1

KDR Humano, ADN, codones 1 - 4071

SEC ID n°: 1.

atggagagca	aggtgctgct	ggccgtcgcc	ctgtggctct	gcgtggagac	ccgggcccgc	60
tctgtgggtt	tgccatgtgt	ttctcttgat	ctgcccaggc	tcagcataca	aaaagacata	120
cttacaatta	aggctaatac	aactcttcaa	attacttgca	ggggacagag	ggacttggac	180
tggtcttggc	ccaataatca	gagtggcagt	gagcaaagg	tggaggtgac	tgagtgcagc	240
gatggcctct	tctgtaagac	actcacaatt	ccaaaagtga	tcggaaatga	cactggagcc	300
tacaagtgtc	tctaccgga	aactgacttg	gcctcggcca	tttatgtcta	tgttcaagat	360
tacagatctc	catttattgc	ttctgttagt	gaccaacatg	gagtcgtgta	cattactgag	420
aacaaaaaca	aaactgtggt	gattccatgt	ctcgggtcca	tttcaaatct	caacgtgtca	480
ctttgtgcaa	gataaccaga	aaagagattt	gttcctgatg	gtaacagaat	ttcctgggac	540
agcaagaagg	gctttactat	tcccagctac	atgatcagct	atgctggcat	ggctctctgt	600
gaagcaaaaa	ttaatgatga	aagttaccag	tctattatgt	acatagttgt	cgttgtaggg	660
tatagatttt	atgatgtggt	tctgagtcog	tctcatggaa	ttgaactatc	tgttggagaa	720
aagcttgtct	taaattgtac	agcaagaact	gaactaaatg	tggggattga	cttcaactgg	780
gaataccctt	cttcgaagca	tcagcataag	aaacttgtaa	accgagacct	aaaaaccag	840
tctgggagtg	agatgaagaa	atthttgagc	accttaacta	tagatgggtg	aaccggagt	900
gaccaaggat	tgtacacctg	tgacagcatc	agtgggctga	tgaccaagaa	gaacagcaca	960
tttgtcaggg	tccatgaaaa	accttttggt	gcttttgtaa	gtggcatgga	atctctgggtg	1020
gaagccacgg	tgggggagcg	tgacagaatc	cctgcgaagt	accttggtta	cccacccccca	1080
gaaataaaat	ggtataaaaa	tggaataccc	cttgagtcca	atcacacaat	taaagcgggg	1140
catgtactga	cgattatgga	agtgagtgaa	agagacacag	gaaattacac	tgatcatcctt	1200
accaatccca	tttcaaagga	gaagcagagc	catgtgggtc	ctctggttgt	gtatgtccca	1260
ccccagattg	gtgagaaaatc	tctaactctc	cctgtggatt	cctaccagta	cggcaccact	1320
caaacgctga	catgtacggt	ctatgccatt	cctccccgc	atcacatcca	ctggtattgg	1380
cagttggagg	aagagtgcgc	caacgagccc	agccaagctg	tctcagtgac	aaaccatac	1440
ccttgtgaag	aatggagaag	tgtggaggac	ttccaggagg	gaaataaaat	tgaagttaat	1500
aaaaatcaat	ttgctctaata	tgaaggaaaa	aacaaaactg	taagtaccct	tgttatccaa	1560
gcggaataatg	tgacagcttt	gtacaaatgt	gaagcggcca	acaaagtcgg	gagaggagag	1620
agggtgatct	ccttccacgt	gaccaggggt	cctgaaatta	ctttgcaacc	tgacatgcag	1680
cccactgagc	aggagagcgt	gtctttgtgg	tgactgcag	acagatctac	gtttgagaac	1740
ctcacatggt	acaagcttgg	cccacagcct	ctgccaatcc	atgtgggaga	gttgcccaca	1800
cctgtttgca	agaacttgga	tactctttgg	aaattgaatg	ccaccatggt	ctctaatagc	1860
acaaatgaca	ttttgatcat	ggagcttaag	aatgcatcct	tgaggacca	aggagactat	1920
gtctgccttg	ctcaagacag	gaagaccaag	aaaagacatt	gcgtggtcag	gcagctcaca	1980
gtcctagagc	gtgtggcacc	cacgatcaca	ggaacctgg	agaatcagac	gacaagtatt	2040
gggaaagca	tcgaagtctc	atgcacggca	tctgggaatc	cccctccaca	gatcatgtgg	2100
tttaaagata	atgagaccct	tgtagaagac	tcaggcattg	tattgaagga	tgggaaccgg	2160

FIGURA 1 - continuación

aacctcacta	tccgcagagt	gaggaaggag	gacgaaggcc	tctacacctg	ccaggcatgc	2220
agtgttcttg	gctgtgcaaa	agtggaggca	tttttcataa	tagaagggtgc	ccaggaaaag	2280
acgaacttgg	aaatcattat	tctagtaggc	acggcgggtga	ttgccatggt	cttctggcta	2340
cttcttgctca	tcatcctacg	gaccgttaag	cgggccaatg	gaggggaact	gaagacaggc	2400
tacttgcca	tcgtcatgga	tccagatgaa	ctccattgg	atgaacattg	tgaacgactg	2460
ccttatgatg	ccagcaaatg	ggaattcccc	agagaccggc	tgaagctagg	taagcctctt	2520
ggcctgggtg	cctttggcca	agtgattgaa	gcagatgcct	ttggaattga	caagacagca	2580
acttgcagga	cagtagcagt	caaaatggtg	aaagaaggag	caacacacag	tgagcatcga	2640
gctctcatgt	ctgaactcaa	gatcctcatt	catattgggtc	accatctcaa	tgtgggtaac	2700
cttctagggtg	cctgtaccaa	gccaggaggg	ccactcatgg	tgattgtgga	attctgcaaa	2760
tttgaaacc	tgtccactta	cctgaggagc	aagagaaatg	aatttgctcc	ctacaagacc	2820
aaagggcac	gattccgtca	agggaaagac	tacgttgag	caatccctgt	ggatctgaaa	2880
cggcgcttgg	acagcatcac	cagtagccag	agctcagcca	gctctggatt	tgtggaggag	2940
aagtcctca	gtgatgtaga	agaagaggaa	gctcctgaag	atctgtataa	ggacttctctg	3000
accttgagc	atctcatctg	ttacagcttc	caagtggcta	agggcatgga	gttcttgcca	3060
tcgcgaaagt	gtatccacag	ggacctggcg	gcacgaaata	tcctcttatac	ggagaagaac	3120
gtggttaaaa	tctgtgactt	tggcttggcc	cgggatattt	ataaagatcc	agattatgtc	3180
agaaaaggag	atgctcgcct	ccctttgaaa	tggatggccc	cagaaacaat	ttttgacaga	3240
gtgtacacaa	tccagagtga	cgtctggtct	tttgggtgtt	tgctgtggga	aatattttcc	3300
ttagggtgctt	ctccatatac	tggggtaaag	attgatgaag	aattttgtag	gcgattgaaa	3360
gaaggaacta	gaatgagggc	ccctgattat	actacaccag	aaatgtacca	gaccatgctg	3420
gactgctggc	acggggagcc	cagtcagaga	cccacgtttt	cagagttggt	ggaacatttg	3480
ggaaatctct	tgcaagctaa	tgctcagcag	gatggcaaag	actacattgt	tcttccgata	3540
tcagagactt	tgagcatgga	agaggattct	ggactctctc	tgccctacctc	acctgtttcc	3600
tgtatggagg	aggaggaagt	atgtgacccc	aaattccatt	atgacaacac	agcaggaatc	3660
agtcagtatc	tgcagaacag	taagcgaaaag	agccggcctg	tgagtgtaaa	aacatttgaa	3720
gatatcccgt	tagaagaacc	agaagtataa	gtaatcccag	atgacaacca	gacggacagt	3780
ggtatggttc	ttgcctcaga	agagctgaaa	actttggaag	acagaaccaa	attatctcca	3840
tcttttggtg	gaatggtgcc	cagcaaaagc	agggagtctg	tggcatctga	aggetcaaac	3900
cagacaagcg	gctaccagtc	cggatatcac	tccgatgaca	cagacaccac	cgtgtactcc	3960
agtgaggaag	cagaactttt	aaagctgata	gagattggag	tgcaaaccgg	tagcacagcc	4020
cagattctcc	agcctgactc	ggggaccaca	ctgagctctc	ctcctgttta	a	4071

FIGURA 2

KDR Humano, proteína

SEC ID n°: 2

MQSKVLLAVALWLCVETRAASVGLPSVSLDLPRLSIQKDILTIKA
NTTLQITCRGQRDLDLWPNNQSGSEQRVEVTECS DGLFCKTLTI PKVIGNDTGAYKCF
YRETDLASVIYVYVQDYRSPFIASVSDQHGVVYITENKNKT VVI PCLGSI SNLNVSLCA
RYPEKRFVPDGNRISWDSKKGFTI PSYMISYAGMV FCEAKINDESYQSIMYIVVVVGYR
IYDVVLSPSHGIELSVGEKLVNCTARTELVGIDFNWEY PSSKHQHKKLVNRDLKTQS
GSEMKKFLSTLTIDGVTRSDQGLYTCAASSGLMTKKNSTFVRVHEKPFVAFGSGMESLV
EATVGERVRIPAKYLGYPPEIKWYKNGI PLESNHTIKAGHVLTIMEV SERDTGNYTVI
LTNPISKEKQSHVSVLVVYVPPQIGEKSLISPVDSYQYGT TQTLTCTVYAI PPPHHIHW
YWQLEEECANEPSQAVSVTNPY PCEEWRSVEDFQGGNKIEVNKNQFALIEGKNKT VSTL
VIQAANVSALYKCEAVNKVGRGERVISFHVTRGPEITLQPDMQPTEQESVSLWCTADRS
TFENLTWYKLG PQPLPIHV GELPTPVCKNLDLWKL NATMFSNSTNDILIMELKNASLQ
DQGDYVCLAQDRKTKKRHC VVRQLTVLERVAPTITGNLENQTTSIGESIEV SCTASGNP
PPQIMWFKDNETLVEDSGIVLKDGNRNLTIRRV RKEDEGLYTCQACSVLGC AKVEAFFI
IEGAQEKTNLEI IILVGTAVIAMFFWLLLVI ILR TVKRANGGELKTGYLSIVMDPEL P
LDEHCERLPYDASKWEFPRDRLKLGKPLGRGAFGQV IEADAFGIDKTATCRTVAVKMLK
EGATHSEHRALMSELKILIHIGHHLNVVNLLGACTKPGG PLMVIVEFCKFGNLSTYLRS
KRNEFVPHYKTKGARFRQ GKDYVGAI PVDLKRRLDSITSSQSSASSGFVEEKSLSDVEEE
EAPEDLYKDFLTLEHLICYSFQVAKGMEFLASRKCIHRDLAARNILLSEKNVVKICDFG
LARDIYKDPDYVRKGDARLPLKWMAPETIFDRVYTIQSDVWSFGVLLWEI FSLGASPY P
GVKIDEEFCRRLKEGTRMRAPDYTTPEMYQ TMLDCWHGEP SQRPTFSELVEHLGNLLQA
NAQQDGKDYIVLP ISETLSMEEDSGLSLPTSPVSCMEE EVCDPKFHYDNTAGISQYLQ
NSKRKSRPVSVKTFEDI PLEPEVKVIPDDNQTDSGMVLASEELKTLEDRTKLSPSFGG
MVPSKSRESVASEGSNQTSGYQSGYHSDDTDTTVYSSEEAE LKLEIGVQTGSTAQIL
QPDSGTTLSSPPV

FIGURA 3

Flt-1 Humano, ADN, codones 1 - 4017

SEC ID n°: 3

atggtcagct	actgggacac	cggggctcctg	ctgtgcgcg	tgctcagctg	tctgcttctc	60
acaggatcta	gttcaggttc	aaaattaaaa	gatcctgaac	tgagtttaaa	aggcaccag	120
cacatcatgc	aagcaggcca	gacactgcat	ctccaatgca	ggggggaagc	agccataaa	180
tggtctttgc	ctgaaatggt	gagtaaggaa	agcgaaagc	tgagcataac	taaactctgcc	240
tgtggaagaa	atggcaaaca	attctgcagt	actttaacct	tgaacacagc	tcaagcaaac	300
cacactggct	tctacagctg	caaatatcta	gctgtacct	cttcaaagaa	gaaggaaaca	360
gaatctgcaa	tctatatatt	tattagtgat	acaggtagac	ctttcgtaga	gatgtacagt	420
gaaatccccg	aaattataca	catgactgaa	ggaagggagc	tcgtcattcc	ctgccgggtt	480
acgtcaccta	acatcactgt	tactttaaaa	aagtttcac	ttgacacttt	gatccctgat	540
ggaaaacgca	taatctggga	cagtagaaag	ggcttcatca	tatcaaatgc	aacgtacaaa	600
gaaatagggc	ttctgacctg	tgaagcaaca	gtcaatgggc	atgtgtataa	gacaaactat	660
ctcacacatc	gacaaaccaa	tacaatcata	gatgtccaaa	taagcacacc	acgccagtc	720
aaattactta	gaggccatac	tcttgcctc	aattgtactg	ctaccactcc	cttgaacacg	780
agagttcaaa	tgacctggag	ttacctgat	gaaaaaata	agagagcttc	cgtaaggcga	840
cgaattgacc	aaagcaattc	ccatgccaac	atattctaca	gtgttcttac	tattgacaaa	900
atgcagaaca	aagacaaagg	actttatact	tgctcgttaa	ggagtggacc	atcattcaaa	960
tctgttaaca	cctcagtgca	tatatatgat	aaagcattca	tcactgtgaa	acatcgaaaa	1020
cagcaggtgc	ttgaaaccgt	agctggcaag	cggctctacc	ggctctctat	gaaagtgaag	1080
gcatttcctc	cgccggaagt	tgtatggtta	aaagatgggt	tacctgcgac	tgagaaatct	1140
gctcgttatt	tgactcgtgg	ctactcgtta	attatcaagg	acgtaactga	agaggatgca	1200
gggaattata	caatcttgct	gagcataaaa	cagtcaaatg	tgtttaaaaa	cctcactgcc	1260
actctaattg	tcaatgtgaa	acccagatt	tacgaaaagg	ccgtgtcctc	gtttccagac	1320
ccggtctctc	accactggg	cagcagacaa	atcctgactt	gtaccgcata	tggtatccct	1380
caacctacaa	tcaagtgggt	ctggcacc	tgtaaccata	atcattccga	agcaaggtgt	1440
gacttttggt	ccaataatga	agagtccttt	atcctggatg	ctgacagcaa	catgggaaac	1500
agaattgaga	gcatcactca	gcgcatggca	ataatagaag	gaaagaataa	gatggctagc	1560
accttgggtg	tggtgactc	tagaatttct	ggaatctaca	tttgcatagc	ttccaataaa	1620
gttgggactg	tgggaagaaa	cataagcttt	tatatcacag	atgtgccaaa	tgggtttcat	1680
gttaacttgg	aaaaaatgcc	gacggaagga	gaggacctga	aactgtcttg	cacagttaac	1740
aagttcttat	acagagacgt	tacttggatt	ttactgcgga	cagttaataa	cagaacaatg	1800
cactacagta	ttagcaagca	aaaaatggcc	atcactaagg	agcactccat	cactcttaat	1860
cttaccatca	tgaatgtttc	cctgcaagat	tcaggcacct	atgcctgcag	agccaggaat	1920
gtatacacag	gggaagaaat	cctccagaag	aaagaaatta	caatcagaga	tcaggaagca	1980
ccatacctcc	tgcgaaacct	cagtgatcac	acagtggcca	tcagcagttc	caccacttta	2040
gactgtcatg	ctaattggtg	ccccgagcct	cagatcactt	ggtttaaaaa	caaccacaaa	2100
atacaacaag	agcctggaat	tatttttagga	ccaggaagca	gcacgctggt	tattgaaaga	2160

FIGURA 3 - continuación

gtcacagaag	aggatgaagg	tgtctatcac	tgcaaagcca	ccaaccagaa	gggctctgtg	2220
gaaagtccag	catacctcac	tgttcaagga	acctcggaca	agtctaactct	ggagctgatc	2280
actctaacat	gcacctgtgt	ggctgcgact	ctcttctggc	tcctattaac	cctctttatc	2340
cgaaaaatga	aaaggtcttc	ttctgaaata	aagactgact	acctatcaat	tataatggac	2400
ccagatgaag	ttcctttgga	tgagcagtgt	gagcggctcc	cttatgatgc	cagcaagtgg	2460
gagtttgccc	gggagagact	taaactgggc	aaatcacttg	gaagaggggc	ttttgaaaa	2520
gtggttcaag	catcagcatt	tggcattaag	aaatcaccta	cgtgccggac	tgtggctgtg	2580
aaaatgctga	aagagggggc	cacggccagc	gagtacaaag	ctctgatgac	tgagctaaaa	2640
atcttgaccc	acattggcca	ccatctgaac	gtggttaacc	tgctgggagc	ctgcaccaag	2700
caaggagggc	ctctgatggt	gattgttgaa	tactgcaaat	atggaaatct	ctccaactac	2760
ctcaagagca	aacgtgactt	atTTTTTctc	aacaaggatg	cagcactaca	catggagcct	2820
aagaaagaaa	aatggagcc	aggcctggaa	caaggcaaga	aaccaagact	agatagcgtc	2880
accagcagcg	aaagctttgc	gagctccggc	tttcaggaag	ataaaagtct	gagtgatggt	2940
gaggaagagg	aggattctga	cggtttctac	aaggagccca	tcactatgga	agatctgatt	3000
tcttacagtt	ttcaagtggc	cagaggcatg	gagttcctgt	cttccagaaa	gtgcattcat	3060
cgggacctgg	cagcgagaaa	cattctttta	tctgagaaca	acgtggtgaa	gatttgtgat	3120
tttggccttg	cccgggatat	ttataagaac	cccgattatg	tgagaaaagg	agatactcga	3180
cttctctga	aatggatggc	tcctgaatct	atctttgaca	aaatctacag	caccaagagc	3240
gacgtgtggt	cttacggagt	attgctgtgg	gaaatcttct	ccttaggtgg	gtctccatac	3300
ccaggagtac	aatggatga	ggacttttgc	agtcgcctga	gggaaggcat	gaggatgaga	3360
gctcctgagt	actctactcc	tgaaatctat	cagatcatgc	tggactgctg	gcacagagac	3420
ccaaaagaaa	ggccaagatt	tgcagaactt	gtggaaaaac	taggtgattt	gcttcaagca	3480
aatgtacaac	aggatggtaa	agactacatc	ccaatcaatg	ccatactgac	aggaaaatagt	3540
gggtttacat	actcaactcc	tgcttctct	gaggacttct	tcaaggaaaag	tatttcagct	3600
ccgaagtta	attcaggaag	ctctgatgat	gtcagatatg	taaagtcttt	caagttcatg	3660
agcctgaaa	gaatcaaaac	ctttgaagaa	cttttaccga	atgccacctc	catgtttgat	3720
gactaccagg	gcgacagcag	cactctgttg	gcctctccca	tgctgaagcg	cttcacctgg	3780
actgacagca	aacccaaggc	ctcgtcaag	attgacttga	gagtaaccag	taaaagtaag	3840
gagtcggggc	tgtctgatgt	cagcaggccc	agtttctgcc	attccagctg	tgggcacgtc	3900
agcgaaggca	agcgcagggt	cacctacgac	cacgctgagc	tggaaaggaa	aatcgcgtgc	3960
tgctccccgc	ccccagacta	caactcggtg	gtcctgtact	ccaccccacc	catctag	4017

FIGURA 4

Flt-1 Humano, proteína

SEC ID n°: 4

MVSYWDTGVLLCALLSCLLLTGSSSGSKLKDPELSLKGTOHIMQA
GOTLHLQCRGEAAHKWSLPEMVSKESESLITKSACGRNGKQFCSTLTLNNTAQANHTGF
YSCKYLAVPTSKKKETESAIYIFISDTGRPFVEMYSEIPEIIHMTEGRELVI PCRVTSP
NITVTLKKFPLDTLIPDGKRIIWDNRKGFII SNATYKEIGLLTCEATVNGHLYKTNLYT
HRQTNTIIDVQISTPRPVKLLRGHTLVLNCTATTPLNTRVQMTWSYPDEKNKRASVRRR
IDQNSHANIFYSVLTIDKMQNKDKGLYTCRVRSGPSFKSVNTSVHIYDKAFITVKHRK
QQVLETVAGKRSYRLSMKVKAFPSPEVVWLKDGLPATEKSARYLTRGYSLIIKDVTEED
AGNYTILLSIKQSNVFNLTATLIVNVKPKIYKAVSSFPDPALYPLGSRQILTCTAYG
IPQPTIKWFHWPCNHNHSEARCDFCSNNEESFILDADSNMGNRIESITQRMALIEGKNK
MASTLVVADSRI SGIYICIASNKVGTVGRNISFYITDVPNGFHVNLEKMPTEGEDLKLS
CTVNKFLYRDVTWILLRTVNNRMTMHSISKQKMAITKEHSITLNLTIMNVSLQDSGTYA
CRARNVYTGEEILQKKEITIRDQEAPELLRNLSDHTVAISSSTLDCHANGVPEPQITW
FKNNHKIQQEPGII LGPGSSTLFIERVTEEDEGVYHCKATNQKGSVESSAYLTVQGTSD
KSNLELITLTCTCVAATLFWLLTLFIRKMKRSSSEIKTDYLSIIMDPDEVPLDEQCER
LPYDASKWEFARERLKLKSLGRGAFGKVVQASAFGIKKSPTCRTVAVKMLKEGATASE
YKALMTELKILTHIGHHLNVNLLGACTKQGGPLMVI VEYCKYGNLSNYLKSQRDLFFL
NKDAALHMEPKKEKMEPGLEQGGKPRLDVTSSESFASSGFQEDKSLSDVEEEDSDGF
YKEPITMEDLISYSFQVARGMEFLSSRKCIHRDLAARNILLSENNVVKICDFGLARDIY
KNPDYVRKGDTRLPLKWMAPESIFDKIYSTKSDVWSYGVLLWEIFSLGGSPY PGVQMD
DFCSRLREGMRMRAPEYSTPEIYQIMLDCWHRDPKERPRFAELVEKLGDLLQANVQDQ
KDYIPINAILTGNSTYSTPAFSEDFKESISAPKFNSGSSDDVRYVNAFKFMSLERI
KTFEELLPNATSMFDDYQGDSSLLASPLKRFWTDSKPKASLKIDLRVTSKSKESGL
SDVSRPSFCHSSCGHVSEGKRRFTYDHAELERKIACCSPPPDPYNSVVLVSTPPI

FIGURA 5

Flk-1 de ratón, ADN, codones 208 - 4344

SEC ID nº: 5

```

ctgtgtcccc cagccggata acctggctga cccgattccg cggacaccgc tgcagccgcg 60
gctggagcca gggcgccggt gccccgcgct ctccccggtc ttgcgctgcg ggggccatac 120
cgctctgtg acttctttgc gggccaggga cggagaagga gtctgtgcct gagaaaactgg 180
gctctgtgcc caggcgcgag gtgcaggatg gagagcaagg cgctgctagc tgtcgctctg 240
tggttctgcg tggagaccgc agccgcctct gtgggtttga ctggcgattt tctccatccc 300
cccaagctca gcacacagaa agacatactg acaattttgg caaatacaac ccttcagatt 360
acttgcaggg gacagcggga cctggactgg ctttggccca atgctcagcg tgattctgag 420
gaaagggat tggtgactga atgcggcggt ggtgacagta tcttctgcaa aacactcacc 480
attcccaggg tggttggaaa tgatactgga gcctacaagt gctcgtaccg ggacgtcgac 540
atagcctcca ctgtttatgt ctatgttcga gattacagat caccattcat cgctctgtc 600
agtgaccagc atggcatcgt gtacatcacc gagaacaaga acaaaactgt ggtgatcccc 660
tgccgagggg cgatttcaaa cctcaatgtg tctctttgcg ctaggatatcc agaaaagaga 720
tttgttccgg atggaaacag aatttcctgg gacagcgaga taggccttac tctccccagt 780
tacaatgatc gctatgccgg catggtcttc tgtgaggcaa agatcaatga tgaaacctat 840
cagtctatca tgtacatagt tgtggttgta ggatatagga tttatgatgt gattctgagc 900
ccccgcgatg aaattgagct atctgccgga gaaaaacttg tcttaaattg tacagcgaga 960
acagagctca atgtggggct tgatttcacc tggcactctc caccttcaaa gtctcatcat 1020
aagaagattg taaaccggga tgtgaaacce tttcctggga ctgtggcgaa gatgtttttg 1080
agcaccttga caatagaaag tgtgaccaag agtgaccaag ggaatacac ctgtgtagcg 1140
tccagtggac ggatgatcaa gagaaataga acatgtgtcc gagttcacac aaagcctttt 1200
attgctttcg gtagtgggat gaaatctttg gtggaagcca cagtgggcag tcaagtccga 1260
atccctgtga agtatctcag ttaccagct cctgatatca aatggtacag aaatggaagg 1320
cccattgagt ccaactacac aatgattgtt ggcgatgaac tcaccatcat ggaagtgact 1380
gaaagagatg caggaaacta cacggctatc ctcaccaacc ccatttcaat ggagaaacag 1440
agccacatgg tctctctggt tgtgaatgtc ccaccccaga tcggtgagaa agccttgatc 1500
tcgcctatgg attcctacca gtatgggacc atgcagacat tgacatgcac agtctacgcc 1560
aacctcccc tgcaccacat ccagtggtag tggcagctag aagaagcctg ctctacaga 1620
cccgccaaa caagcccgtg tgcttgtaa gaatggagac acgtggagga tttccagggg 1680
ggaaacaaga tcgaagtcac caaaaaccaa tatgcctga ttgaaggaaa aaacaaaact 1740
gtaagtacgc tggatcatca agctgccaac gtgtcagcgt tgtacaaatg tgaagccatc 1800
aacaagcgg gacgaggaga gagggtcatc tccttccatg tgatcagggg tcttgaat 1860
actgtgcaac ctgctgcccc gccaaactgag caggagagtg tgtccctggt gtgactgca 1920
gacagaaata cgtttgagaa cctcacgtgg tacaagcttg gctcacaggc aacatcggtc 1980
cacatgggcg aatcactcac accagtttgc aagaacttgg atgctctttg gaaactgaat 2040
ggcaccatgt tttctaacag cacaaatgac atcttgattg tggcatttca gaatgcctct 2100
ctgcaggacc aaggcgacta tgtttgctct gctcaagata agaagaccaa gaaaagacat 2160

```

FIGURA 5 - continuación

tgccctgggtca aacagctcat catcctagag cgcattggcac ccatgatcac cggaaatctg 2220
 gagaatcaga caacaacccat tggcgagacc attgaagtga cttgcccagc atctggaat 2280
 cctacccac acattacatg gttcaaagac aacgagacc tggtagaaga ttcaggcatt 2340
 gtactgagag atgggaaccg gaacctgact atccgcaggg tgaggaagga ggatggaggc 2400
 ctctacacct gccaggcctg caatgtcctt ggctgtgcaa gagcggagac gctctcata 2460
 atagaaggtg cccaggaaa gaccaacttg gaagtcatta tccctgctcg cactgcagtg 2520
 attgccatgt tcttctggct ccttctgtc attgtcctac ggaccgttaa gcggccaat 2580
 gaaggggaac tgaagacagc ctacttgtct attgtcatgg atccagatga attgcccttg 2640
 gatgagcgtc gtgaacgctt gccttatgat gccagcaagt gggattccc caggaccgg 2700
 ctgaaactag gaaaacctct tggccgcggt gccttcggcc aagtgattga ggcagacgct 2760
 tttggaattg acaagacagc gacttgcaaa acagtagccg tcaagatgtt gaaagaagga 2820
 gcaacacaca gcgagcatcg agccctcatg tctgaactca agatcctcat ccacattggt 2880
 caccatctca atgtggtgaa cctcctaggc gcctgcacca agccgggagg gcctctcatg 2940
 gtgattgtgg aattctgcaa gtttgaaac ctatcaactt acttacgggg caagagaaat 3000
 gaatttgctt cctataagag caaaggggca cgttcgcc agggcaagga ctacgttggg 3060
 gagctctccg tggatctgaa aagacgctt gacagcatca ccagcagcca gagctctgcc 3120
 agctcaggct ttgttgagga gaaatcgctc agtgatgtag aggaagaaga agcttctgaa 3180
 gaactgtaca aggacttctt gaccttggag catctcatct gttacagctt ccaagtggct 3240
 aagggcatgg agttcttggc atcaaggaag tgtatccaca gggacctggc agcacgaaac 3300
 attctcctat cggagaagaa tgtggtaag atctgtgact tgggcttggc ccgggacatt 3360
 tataaagacc cggattatgt cagaaaagga gatgcccgac tcccttgaa gtggatggcc 3420
 ccgaaacca tttttgacag agtatacaca attcagagcg atgtgtggtc tttcgggtgtg 3480
 ttgctctggg aatatatttc cttaggtgcc tccccatacc ctggggtcaa gattgatgaa 3540
 gaattttgta ggagattgaa agaaggaact agaatgcggg ctctgacta cactaccca 3600
 gaaatgtacc agaccatgct ggactgctgg catgaggacc ccaaccagag accctcgttt 3660
 tcagagttgg tggagcattt gggaaacctc ctgcaagcaa atgcgcagca ggatggcaaa 3720
 gactatattg ttcttccaat gtcagagaca ctgagcatgg aagaggattc tggactctcc 3780
 ctgcctacct cacctgtttc ctgtatggag gaagaggaag tgtgcgacce caaattccat 3840
 tatgacaaca cagcaggaat cagtcattat ctccagaaca gtaagcgaag gagccggcca 3900
 gtgagtgtaa aacatttga agatatccca ttggaggaac cagaagtaaa agtgatccca 3960
 gatgacagcc agacagacag tgggatggtc cttgcatcag aagagctgaa aactctggaa 4020
 gacaggaaca aattatctcc atcttttggg ggaatgatgc ccagtaaaag caggagctct 4080
 gtggcctcgg aaggctcaa ccagaccagt ggctaccagt ctgggtatca ctcagatgac 4140
 acagacacca ccgtgtactc cagcgacgag gcaggacttt taaagatggg ggatgctgca 4200
 gttcacgctg actcaggac cacactgccc tcacctctg tttaaatgga agtggctctg 4260
 tcccggctcc gcccact cctggaaatc acgagagagg tgctgcttag attttcaagt 4320
 gttgttttt ccaccaccg gaagtagcca ctttgattt tcatttttg aggagggacc 4380
 tcagactgca aggagcttgt cctcagggca tttccagaga agatgccat gaccacaaga 4440
 tgtgttgact ctactctctt ttccattcat ttaaagtcc tatataatgt gccctgctgt 4500

FIGURA 5 - continuación

ggtctcacta ccagttaaag caaaagactt tcaaacacgt ggactctgtc ctccaagaag 4560
 tggcaacggc acctctgtga aactggatcg aatgggcaat gctttgtgtg ttgaggatgg 4620
 gtgagatgtc ccagggccga gtctgtctac cttggaggct ttgtggagga tgcggctatg 4680
 agccaagtgt taagtgtggg atgtggactg ggaggaagga aggcgcaagt cgctcggaga 4740
 gcggttggag cctgcagatg cattgtgctg gctctggtgg aggtgggctt gtggcctgtc 4800
 aggaaacgca aaggcggccg gcagggtttg gttttggaag gtttgctgtc tcttcacagt 4860
 cgggttacag gcgagttccc tgtggcgttt cctactccta atgagagttc cttccggact 4920
 cttacgtgtc tcttggcctg gccccaggaa ggaaatgatg cagcttgctc cttcctcctc 4980
 tctcaggctg tgccttaatt cagaacacca aaagagagga acgtcggcag aggctcctga 5040
 cggggccgaa gaattgtgag aacagaacag aaactcaggg tttctgctgg gtggagacct 5100
 acgtggcgcc ctggtggcag gtctgagggg tctctgtcaa gtggcggtaa aggctcaggc 5160
 tgggtttctt cctctatctc cactcctgtc aggcccccaa gtcctcagta ttttagcttt 5220
 gtggcttct gatggcagaa aaatcttaat tggttggttt gctctccaga taatcactag 5280
 ccagatttcg aaattacttt ttagccgagg ttatgataac atctactgta tcctttagaa 5340
 ttttaaccta taaaactatg tctactggtt tctgcctgtg tgcttatggt 5390

FIGURA 6

Flk-1 de ratón, proteína

SEC ID n°: 6

MESKALLAVALWFCVETRAASVGLTGDFLHPPKLSTQKDILTILA
NTTLQITCRGQRDLWLWPNAQRDSEERVLVTECGGGDSIFCKTLTI PRVVGNDTGAYK
CSYRDVDIASTVYVYVRDYRSPFIASVSDQHGI VYITENKNKTVVIPCGRGISNLNVSL
CARYPEKRFVPDGNRISWDSEIGFTLPSYMISYAGMV FCEAKINDETYQSIMYIVVVVG
YRIYDVILSPPHEIELSAGEKLVLNCTARTELVGLDFTWHSPPSKSHHKKIVNRDVKP
FPGTVAKMFLSTLTIESVTKSDQGEYTCVASSGRMIKRNRTFVRVHTKPFIAFGSGMKS
LVEATVGSQVRI PVKYLSYPAPDIKWYRNGRPIESNYTMI VGDELTIMEVTERDAGNYT
VILTNPISMEKQSHMVSLVVNVPPQIGEKALISPMDSYQYGTMTLTCTVYANPPLHHI
QWYWQLEEACSYRPGQTSFYACKEW RHVEDFQGGNKIEVTKNQYALIEGKNKTVSTLVI
QAANVSALYKCEAINKAGRGERVISEFHVIRGPEITVQPAAQPT EQESVSLCTADRNTF
ENLTWYKLGSAQTSVHMGESLTPVCKNLDALWKLNGTMFSNSTNDILIVAFQNASLQDQ
GDYVCSAQDKKTKKRHCLVKQLIILERMAMPITGNLENQTTTIGETIEVTCPASGNPTP
HITWFKDNETLVEDSGIVLRDGNRNLTIRRVKEDGGLYTCQACNVLGCARAETLFIIE
GAQEKTNLEVIILVGTAVIAMFFWLLLVI VLRTVKRANEGELKTGYLSIVMDPDELPLD
ERCERLPYDASKWEFPRDRLKLGKPLGRGAFGQVIEADAFGIDKTATCKTVAVKMLKEG
ATHSEHRALMSELKILIHIGHHLNVVNLLGACTKPGGPLMVIVEFCKFGNLSTYLRGKR
NEFVVPYKSKGARFRQ GKDYVGELSVDLKRRLDSITSSQSSASSGFVEEKSLSDVEEEEA
SEELYKDFLTLEHLICYSFQVAKGMEFLASRKC IHRDLAARNILLSEKNVVKICDFGLA
RDIYKDPDYVRKGDARLPLKWMAPETIFDRVYTIQSDVWSFGVLLWEIFSLGASPYPGV
KIDEEFCRRLKEGTRMRAPDYTTPEMYQTMLDCWHEDPNQRPSFSELVEHLGNLLQANA
QQDGKDYIVLPMSETLSMEEDSGLSLPTSPVSCMEEEEEVCDPKFHYDNTAGISHYLQNS
KRKSRPVSVKTFEDI PLEPEVKVIPDDSQTD SGMVLASEELKTLEDRNKLSPSFGGMM
PSKSRESVASEGSNQTSGYQSGYHSDDTDTTVYSSDEAGLLKMVDAAVHADSGTTLASP
PV

FIGURA 7



FIGURA 8

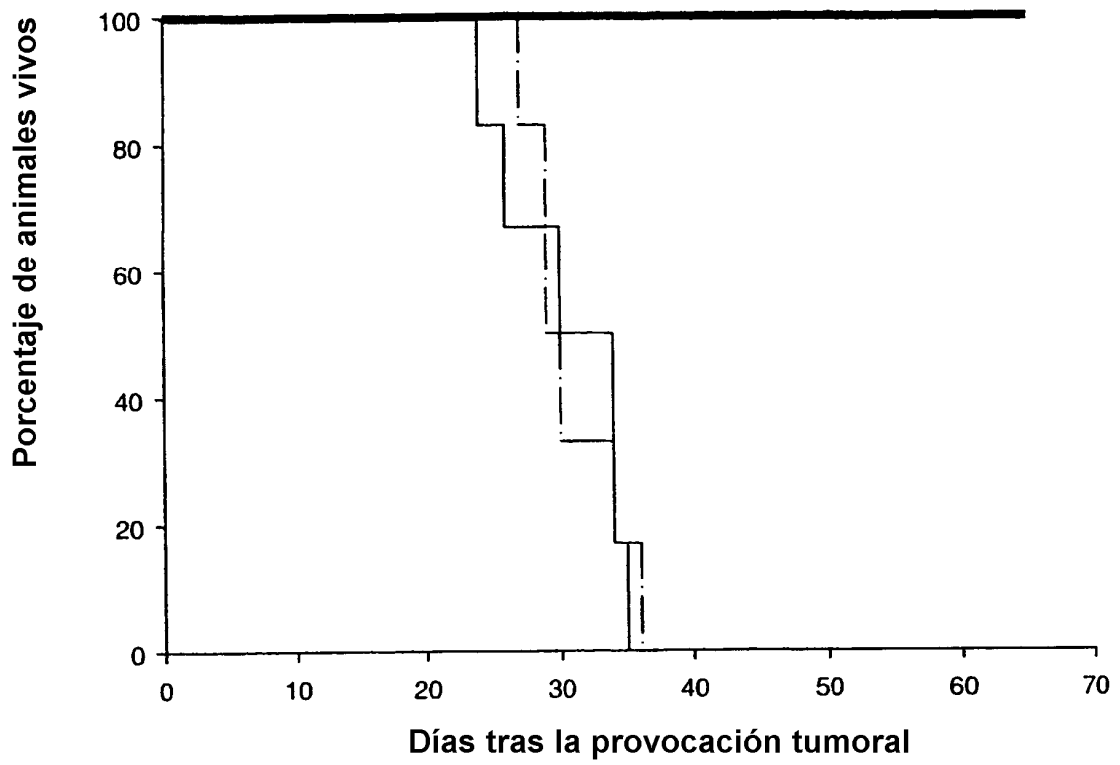


FIGURA 9

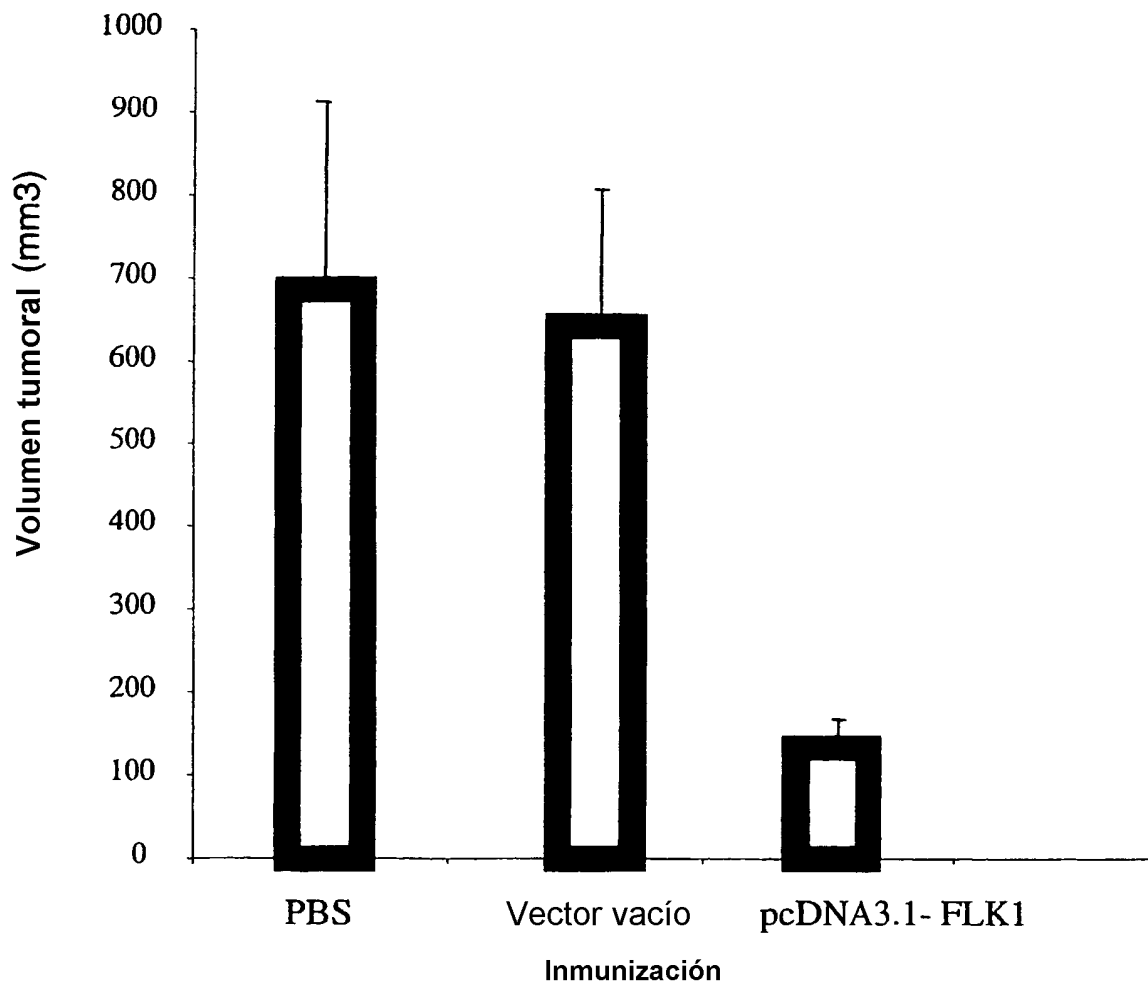


FIGURA 10

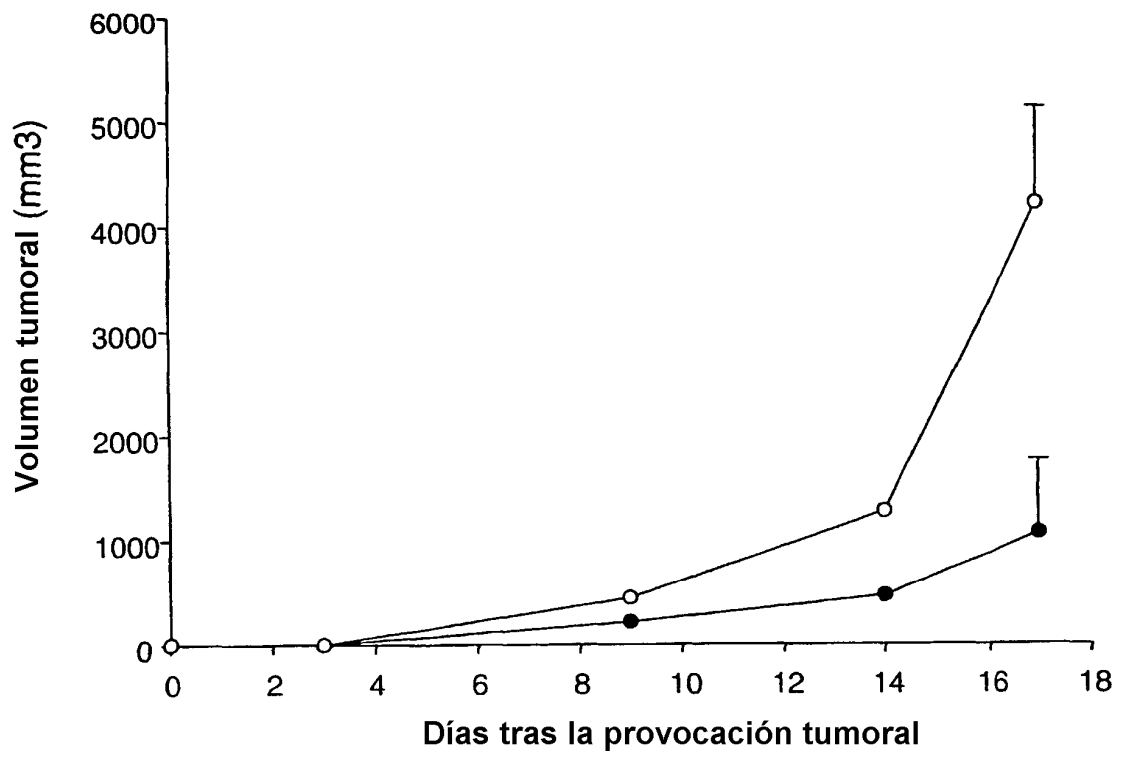


FIGURA 11

