

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 380 055**

51 Int. Cl.:  
**A61K 38/18** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**G01N 33/68** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07118012 .9**  
96 Fecha de presentación: **19.12.2003**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1891966**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.02.2008**

54 Título: **Modulación de la actividad de neurotrofinas; método de escrutinio**

30 Prioridad:  
**20.12.2002 DK 200201977**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**08.05.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**08.05.2012**

73 Titular/es:  
**H. LUNDBECK A/S  
OTTILIAVEJ 9  
2500 VALBY, DK**

72 Inventor/es:  
**Nykjær, Anders y  
Petersen, Claus Munck**

74 Agente/Representante:  
**de Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 380 055 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

Modulación de la actividad de neurotrofinas; método de escrutinio.

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a un método *in vitro* para realizar el escrutinio de un compuesto que altere la unión de al menos una neurotrofina y/o una pro-neurotrofina con un receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p.

**Antecedentes de la invención***La familia de las neurotrofinas*

10 Las neurotrofinas son hormonas peptídicas diméricas. El primer miembro de la familia de las neurotrofinas que se descubrió fue el factor de crecimiento de nervios (NGF, del inglés "nerve growth factor"), que desempeña un papel importante en procesos tales como el desarrollo de neuronas sensoriales y simpáticas en el sistema nervioso periférico (Levi-Montalcini, R. y Angeleeti, P.U., *Physiol. Rev.* 48, 534-569 (1968)). El siguiente miembro de la familia de las neurotrofinas que se aisló fue el factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF, del inglés "brain-derived neurotrophic factor"), también denominado neurotrofina-2 (NT-2), la secuencia fue publicada por Leibrock, J. y col. en 1989 (*Nature* 341, 149-152). En 1990 varios grupos identificaron un factor neurotrófico denominado originalmente factor neuronal (NF), ahora denominado neurotrofina-3 (NT-3) (Ernfors y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 5454-5458 (1990); Hohn y col., *Nature* 344, 339; Maisonpierre y col., *Science* 247, 1446; Rosenthal y col., *Neuron* 4, 767; Jones y Reichardt, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 8060-8064; Kaisho y col., *FEBS Lett.* 266, 187). A continuación se añadieron las neurotrofinas 4 y 5 a la familia (*Neuron* 6, 845-858 (1991); Berkmeier, L.R. y col., *Neuron* 7, 857-866 (1991); Ip y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 3060-3064 (1992)).

*Receptores de la familia de neurotrofinas*

25 De modo similar a otros factores de crecimiento polipeptídicos, las neurotrofinas afectan a sus células diana mediante interacciones con receptores de la superficie celular. Según el conocimiento que se tiene actualmente, las neurotrofinas se unen a dos tipos de receptores discretos que pueden distinguirse farmacológicamente: los receptores de neurotrofina Trk y p75<sup>NTR</sup>. El p75<sup>NTR</sup> es un miembro de la familia de receptores de Fas/factor de necrosis tumoral (TNF, del inglés "tumour necrosis factor"), y puede interactuar con todos los miembros mamíferos de la familia de las neurotrofinas con afinidades iguales (Rodríguez-Tebar y col. 1990, *Neuron* 4: 487-492; Barker y Murphy, 1992, *Mol. Cell. Biochem.* 100: 1-15). Las células que expresan TrkA, un receptor de tirosina quinasa identificado originalmente como oncogén humano (Mltin-Zanca y col., *Nature* 319: 743-748) se une únicamente a NGF y exhibe una cinética de disociación significativamente más lenta (Jing y col. 1992, *Neurol.* 9: 1067-1079; Loeb y Greene, 1993, *Neuroscience* 13: 2919-2929). El BDNF se une al receptor TrkB únicamente, pero la NT-3 puede unirse a los tres receptores Trk (A, B y C), mostrando preferencia por el TrkC. Las NT 4/5 se pueden unir a TrkA y a TrkB (Ip y col., *PNAS* 89: 3060-3064; Klein y col. *Neuron* 9: 947-956). La NT-7 no interacciona con el TrkB o el TrkC pero sin embargo puede inducir la fosforilación de tirosina del TrkA, lo que indica una especificidad de receptor similar a la del NGF (Nilsson y col., *FEBS Lett* (1998) 13 Marzo; 424(3): 285-90). La NT-6 recombinante purificada también presenta un espectro de acciones similares al NGF pero con una menor potencia (Gotz y col., *Nature* (1994) 17 Noviembre; 372(6503): 266-9).

*Familia de neurotrofinas: proteínas precursoras*

40 La biología de la familia de las neurotrofinas es compleja: las neurotrofinas se sintetizan intracelularmente como proteínas precursoras de 30-35 kDa, que contienen un péptido señal y posiciones de glicosilación. Durante el procesado, las proteínas precursoras también son divididas en una posición de ruptura básica por acción de la serina proteasa dependiente de calcio furina y otros miembros de la familia de las prohormona convertasas, dentro del aparato de Golgi. La parte N-terminal de esta ruptura es la neurotrofina madura de 118-120 aminoácidos y un producto C-terminal de 12-14 kDa biológicamente activo (Seidah y col., *Biochem. J.* (1996) 314: 951-960).

*Funciones clínicamente relevantes de la familia de las neurotrofinas*

45 Las neurotrofinas presentan interés clínico porque desempeñan un papel importante en la supervivencia y diferenciación de células neuronales (Thoenen 1991, *Trends Neurosci.* 14: 165-170; Raffioni y col. 1991, *Ann. Rev. Biochem.* 62: 823-850; Chao, 1992, *Neuron* 9: 583-593; Barbacid 1993, *Oncogene* 8: 2033-2042). Los receptores Trk transmiten señales que promueven la supervivencia neuronal, mientras que el p75<sup>NTR</sup> puede inducir la apoptosis neuronal así como la supervivencia neuronal que depende de cualquier co-expresión de TrkA (Miller y col., *Cell. Mol. Life Sci.* 58: 1045-1053 (2001)). Ciertamente, se ha demostrado que la activación de receptores TrkA puede negar el efecto pro-apoptótico del p75<sup>NTR</sup> (Yoon y col., *J. Neurosci.* (1998) 18: 3273-3281).

55 Es probable que los pro-péptidos de las neurotrofinas desempeñen importante funciones biológicas: al menos una proteína precursora de neurotrofina (proNGF) y su producto procesado proteolíticamente y la contrapartida madura (NGF) activan diferencialmente respuestas celulares pro- y anti-apoptóticas a través de la activación preferencial de

los receptores p75<sup>NTR</sup> y Trk, respectivamente (presentando la pro-NGF una mayor afinidad por los receptores p75<sup>NTR</sup> y una menor afinidad por los receptores Trk que las formas maduras de NGF). De hecho, se ha demostrado que la pro-NGF induce la apoptosis dependiente de p75<sup>NTR</sup> en neuronas cultivadas con una activación mínima de la diferenciación o la supervivencia mediada por TrkA (Lee y col., Science (2001), 294: 1945-1948).

5 Además, las neurotrofinas presentan interés clínico porque se sabe que se produce simultáneamente una regulación al alza de neurotrofinas y un aumento de la expresión de p75<sup>NTR</sup> en condiciones patológicas e inflamatorias, especialmente tras una lesión nerviosa y daño en el sistema vascular. De hecho, Soilu-Hanninen y col. han demostrado que las funciones apoptóticas del p75<sup>NTR</sup> están implicadas directamente en la apoptosis inducida por una lesión (Soilu-Hanninen y col., J. Neurosci. 19: 4824-4838 (1999)). Recientemente, también se ha demostrado  
10 que la pro-NGF induce la muerte mediada por p75 de oligodendrocitos después de una lesión de médula espinal (Beatty y col., Neuron (2002), vol. 39, pág. 375-386).

Se ha presentado la hipótesis de que la carencia de factores neurotróficos es la responsable de la degeneración de poblaciones neuronales selectivas, ya que se produce en la enfermedad de Parkinson, en la enfermedad de  
15 Alzheimer y en la esclerosis lateral amiotrófica, y que la aplicación del correspondiente factor neurotrófico podría prevenir la degeneración neuronal [Appel, S.H., "A unifying hypothesis for the cause of amyotrophic lateral sclerosis, parkinsonism, and Alzheimer's disease", Ann. Neurol. 10: 499-505 (1981)]. En particular, como el NGF es un factor trófico para la población de neuronas colinérgicas basales del cerebro anterior que se degeneran en la enfermedad de Alzheimer, se ha especulado con que el NGF puede ser útil en el tratamiento de esta enfermedad.

Otra razón para el interés en los mecanismos de terapia con neurotrofinas es que los estudios realizados han proporcionado evidencias sólidas sobre la implicación de las neurotrofinas en la depresión y la acción antidepressiva  
20 (Duman y col., Arch Gen Psychiatry (1997) 54: 597-606); por ejemplo la infusión de BDNF en el hipocampo ha producido un efecto antidepressivo en dos modelos de comportamiento de la depresión (Shirayama y col. (2002), J Neurosci 22(8): 3251-3261).

*La familia de receptores con dominio Vps10p*

25 La sortilina (o NTR-3 ó GP95) es un receptor de membrana de tipo I que se expresa en una serie de tejidos, incluyendo el cerebro, la espina dorsal, los testículos y el músculo esquelético (Petersen y col., J. Biol. Chem., 272: 3599-3605 (1997); Herman-Borgmeyer y col., Mol. Brain Res., 65: 216-219 (1999)). La sortilina pertenece a una familia de receptores que comprenden sortilina, SorLA (Jacobsen y col., J. Biol. Chem., 271: 31379-31383 (1996)), SorCS1, SorCS2 y SorCS3. Todos los receptores de esta familia comparten la característica estructural de un  
30 dominio N-terminal de aproximadamente 600 aminoácidos con una fuerte semejanza con los dos dominios que constituyen la porción luminal del receptor de clasificación de levadura Vps10p (Marcusson, E.G. y col., Cell, 77: 579-586 (1994)). El dominio Vps10p comprende un segmento C-terminal que contiene 10 cisteínas conservadas y un pro-péptido N-terminal de 40-80 aminoácidos.

En la sortilina, el propéptido exhibe una elevada afinidad de unión con el receptor totalmente procesado. La  
35 prevención de la ruptura del propéptido inhibe esencialmente la unión de ligando a sortilina, lo que indica que el propéptido dificulta estéricamente que los ligandos ganen acceso a sus sitios de unión sobre el receptor (Petersen y col., EMBO J., 18: 595-604, 1999).

Se han conseguido algunos progresos en el entendimiento de la función de esta familia: existen evidencias que sugieren que la sortilina contiene al menos estructuras YXXΦ y de dileucina, que conforman señales potentes para  
40 la clasificación de endosomas de Golgi (Nielsen y col., EMBO 20(9): 2180-2190). Es probable que los otros miembros de la familia también puedan ser útiles en una función de "clasificación" similar, no inferior porque exhiben todos homología con Vsp10p, el receptor de clasificación para carboxipeptidasa Y (CPY) en levaduras. Sólo una pequeña proporción de los receptores de sortilina están presentes sobre la superficie celular (Mazella y col., J. Biol. Chem. (1998) 273, 26273-26276; Morris y col. J. Biol. Chem. (1998) 273: 3582-3587), aunque la expresión sobre la  
45 membrana superficial puede regularse al alza mediante estímulos que incluyen insulina en adipocitos 3T3-L1 (Morris y col. J. Biol. Chem. (1998) 273: 3582-3587) y neurotensina en neuronas embrionarias (Chabry y col., J. Biol. Chem. (1993), 286: 17138-17144).

*Modulación de la actividad de neurotrofinas: estado del arte actual*

50 Ciertamente, el entendimiento actual de las funciones biológicas de las neurotrofinas hace de la familia de las neurotrofinas una diana atractiva para la intervención terapéutica, y se conocen algunos métodos para la modulación de la actividad de neurotrofinas:

1) El documento US 6.417.159 describe un método para potenciar el efecto de una neurotrofina con análogos de p75<sup>NTR</sup>367-379.

2) El documento US 6.300.327 describe composiciones y métodos para la potenciación de la actividad de las  
55 neurotrofinas.

3) El documento US 6.291.247 describe métodos para realizar escrutinios de factores que alteren la conformación de las neurotrofinas y reduzcan la actividad biológica de las neurotrofinas.

4) El documento US 5.516.772 describe derivados de K-252 que potencian la actividad inducida por neurotrofinas.

### Resumen de la invención

5 La presente invención se refiere a un método *in vitro* para realizar el escrutinio de un compuesto que altere la unión de al menos una neurotrofina y/o una pro-neurotrofina a un receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p.

### Descripción de las figuras

Figura 1: ejemplos de receptores con dominio Vps10p. Se indica su composición estructural.

10 Figura 2: caracterización de la unión de NGF a p75, TrkA y sortilina, determinada mediante análisis de resonancia de plasmón superficial (BIAcore). Se midió la unión de NGF 50-500 nM a 91,5 fmol/mm<sup>2</sup> de proteína quimérica p75-IgG-Fc inmovilizada (panel superior), a 66 fmol/mm<sup>2</sup> de TrkA-IgG-Fc inmovilizada (panel del medio) y a 51 fmol/mm<sup>2</sup> de dominio extracelular de sortilina purificada (panel inferior). Se registraron las tasas de arranque (on) y apagado (off) – de 100 a 600 segundos y de 600 a 1000 segundos, respectivamente – y se calcularon los valores Kd de unión de NGF correspondientes a ~ 1 nM para p75, ~ 2 nM para TrkA y ~ 87 nM para sortilina.

15 El NGF murino maduro procedía de Austral Biologicals (San Ramon, CA), las quimeras de receptor de neurotrofina p75 humano/Fc y de TrkA humano/Fc eran de R&D Systems (Oxon, R.U.). La sortilina humana se produjo en células CHO transfectadas de forma estable y purificadas como se ha descrito previamente (Munck Petersen y col., EMBO J. (1999) 18: 595-604).

20 Figura 3: caracterización de la unión de pro-NGF a p75, TrkA y sortilina determinada mediante análisis de plasmón superficial (BIAcore). Se midió la unión de pro-NGF 25-500 nM a 91,5 fmol/mm<sup>2</sup> de proteína quimérica p75-IgG-Fc inmovilizada (panel superior), a 66 fmol/mm<sup>2</sup> de TrkA-IgG-Fc inmovilizada (panel del medio) y a 51 fmol/mm<sup>2</sup> de dominio extracelular de sortilina purificada (panel inferior). Se registraron las tasas de arranque (on) y apagado (off) – de 100 a 600 segundos y de 600 a 1000 segundos, respectivamente – y se calcularon los valores Kd correspondientes a unión de pro-NGF a ~ 12 nM para p75, ~ 15 nM para TrkA y ~ 5 nM para sortilina.

25 El pro-NGF humano fue producido y purificado en *E. coli* tal como se ha descrito (Rattenholl y col., Eur. J. Biochem. (2001) 268: 3296-3303). El resto de reactivos fueron como se ha descrito en la leyenda de la figura 2.

30 Figura 4: caracterización de la unión del propéptido de pro-NGF a p75, TrkA y sortilina determinada mediante análisis de plasmón superficial (BIAcore). Se midió la unión de propéptido 25-500 nM a 91,5 fmol/mm<sup>2</sup> de proteína quimérica p75-IgG-Fc inmovilizada (panel superior), a 66 fmol/mm<sup>2</sup> de TrkA-IgG-Fc inmovilizada (panel del medio) y a 51 fmol/mm<sup>2</sup> de dominio extracelular de sortilina purificada (panel inferior). Se registraron las tasas de arranque (on) y apagado (off) – de 100 a 600 segundos y de 600 a 1000 segundos, respectivamente – y se calcularon los valores Kd correspondiente a propéptido de pro-NGF correspondientes a ~ 87 nM para sortilina. No se produjo unión detectable con p75 y TrkA.

35 El propéptido de NGF humano expresado en *E. coli* fue suministrado por Elisabeth Schwarz, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle/Saale, Alemania. El resto de reactivos fueron como se ha descrito en las leyendas de las figuras 2 y 3.

Figura 5: inhibición de la unión de pro-NGF a sortilina inmovilizada por neurotensina determinada mediante análisis BIAcore. La unión de pro-NGF 200 nM a 51 fmol/mm<sup>2</sup> de sortilina inmovilizada se inhibe en ~45% después de una inyección conjunta con neurotensina 10 µM. La unión de neurotensina sola se muestra a modo de comparación.

40 La neurotensina se obtuvo de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). Todos los demás productos fueron como se ha indicado anteriormente.

45 Figura 6: inhibición de la unión de pro-NGF a sortilina inmovilizada por RAP (proteína asociada a receptor), el propéptido de pro-NGF y el pro-péptido de sortilina. Los inhibidores se pre-ligaron a sortilina y después se realizó una inyección conjunta con pro-NGF 200 nM. Se han corregido las líneas base correspondientes a las señales obtenidas en presencia de cada uno de los inhibidores. La unión a pro-NGF máxima se mide sin pre-incubación con los respectivos inhibidores. La unión de pro-NGF 200 nM a 51 fmol/mm<sup>2</sup> de sortilina inmovilizada se inhibe en ~65% por RAP 10 µM, en ~85% por 5 µM del propéptido de pro-NGF y en ~65% por 5 µM del propéptido de sortilina.

50 Figura 7: la caracterización de la unión de pro-BDNF y BDNF a sortilina purificada determinada mediante resonancia de plasmón superficial (BIAcore). Se produjo pro-BDNF de rata en células 293 tal como se describe en Lee, R., Kermani, P., Teng, K.K. y Hempstead, B.L. "Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins". Science 294, 1945-1948 (2001) y se purificó a partir del medio acondicionado. El BDNF humano recombinante maduro procedía de Promega (#G1491) y el pro-dominio de BDNF humano fusionado a GST (glutaciona S-transferasa) se produjo en *E. coli* y se purificó mediante cromatografía de afinidad glutaciona-seferosa. La unión de pro-BDNF 5-500 nM (panel

superior), del pro-dominio de pro-BDNF (una proteína de fusión con GST, panel del medio) o de BDNF (panel inferior) se midió a 94 fmol/mm<sup>2</sup> de dominio extracelular de sortilina purificada inmovilizada. El experimento se llevó a cabo esencialmente como se ha descrito en las figuras 2-4. Se registraron las tasas de arranque (on) y apagado (off) – de 100 a 600 segundos y de 600 a 10000 segundos, respectivamente – y se calcularon los valores Kd correspondientes a la unión de ligando a ~3 nM para pro-BDNF, ~58 nM para el pro-dominio de GST de pro-BDNF y ~40 nM para BDNF maduro.

Otras preparaciones de BDNF maduro han mostrado valores de Kd para la unión de ligando a 10 nM.

#### Descripción de las secuencias

- SEC ID N° 1: secuencia de sortilina
- 10 SEC ID N° 2: secuencia de SorLA
- SEC ID N° 3: secuencia de SorCS1
- SEC ID N° 4: secuencia de SorCS3
- SEC ID N° 5: secuencia de SorCS2
- SEC ID N° 6: secuencia de NGF
- 15 SEC ID N° 7: secuencia de BDNF
- SEC ID N° 8: secuencia de neurotrofina-3
- SEC ID N° 9: secuencia de neurotrofina-4
- SEC ID N° 10: secuencia de neurotensina
- SEC ID N° 11: secuencia de neuromedina
- 20 SEC ID N° 12: péptido asociado a receptor (RAP)
- SEC ID N° 13: pro-neurotensina/pro-neuromedina

#### Descripción detallada de la invención

La presente invención se define en las reivindicaciones.

##### Definiciones

- 25 El término “unión” tal como se emplea en la presente memoria se refiere a la atracción o unión temporal o de mayor duración entre dos o más restos funcionales uno con el otro, mediada por fuerzas físicas tales como, por ejemplo, interacciones electrostáticas, interacciones hidrofóbicas, interacciones dipolo-dipolo y enlaces de hidrógeno. La expresión “interacción hidrofóbica” tal como se usa en la presente memoria se refiere a cualquier interacción que se produce entre componentes esencialmente no polares (hidrofóbicos) localizados dentro de sus respectivos alcances de atracción en un entorno polar (por ejemplo, agua). Tal como se usa en la presente memoria, el alcance de atracción está en una escala de aproximadamente 100 nm. Un tipo particular de interacción hidrofóbica es la ejercida por “fuerzas de Van der Waals”, es decir, las fuerzas de atracción entre moléculas no polares que se deben a mecánica cuántica. Las fuerzas de Van der Waals generalmente se asocian con momentos dipolares puntuales inducidos por moléculas colindantes y que implican cambios en la distribución electrónica. El término “enlace de hidrógeno” tal como se usa aquí se refiere a una fuerza de atracción, o un puente, que puede producirse entre un átomo de hidrógeno que está enlazado covalentemente a un átomo electronegativo, por ejemplo oxígeno, azufre o nitrógeno, y otro átomo electronegativo. El enlace de hidrógeno se puede dar entre un átomo de hidrógeno de una primera molécula y un átomo electronegativo de una segunda molécula (enlace de hidrógeno intermolecular). También se puede producir entre un átomo de hidrógeno y un átomo electronegativo que estén ambos contenidos en la misma molécula (enlace de hidrógeno intramolecular). La expresión “interacción electrostática” tal como se usa en la presente memoria se refiere a cualquier interacción que se produce entre componentes cargados, moléculas o iones, debido a fuerzas de atracción que aparecen cuando componentes de carga eléctrica opuesta se ven atraídos entre ellos. Los ejemplos incluyen, aunque sin limitación: interacciones iónicas, interacciones covalentes, interacciones entre un ion y un dipolo (ion y molécula polar), interacciones entre dos dipolos (cargas parciales de moléculas polares), enlaces de hidrógeno y enlaces de dispersión de London (dipolos inducidos de moléculas polarizables). Por tanto, por ejemplo, “interacción iónica” o “interacción electrostática” se refieren a la atracción entre una primera molécula cargada positivamente y una segunda molécula cargada negativamente. Las interacciones iónicas o electrostáticas incluyen, por ejemplo, la atracción entre un agente bioactivo cargado negativamente (ejemplo relevante en esta invención). La expresión “interacción dipolo-dipolo” tal como se usa aquí se refiere a la atracción que se puede producir entre dos o más moléculas polares. Así, “interacción dipolo-dipolo” se refiere a la

atracción del extremo no cargado parcialmente positivo de una primera molécula polar con el extremo no cargado parcialmente negativo de una segunda molécula polar. Las “interacciones dipolo-dipolo” también se refieren a enlaces de hidrógeno intermoleculares.

5 Equivalentes funcionales y variantes de polinucleótidos que codifican un modulador de la actividad de neurotrofina y polipéptidos que comprenden dicho modulador de actividad de neurotrofina: en la presente memoria “equivalentes funcionales” y “variantes” se usan indistintamente. En una realización preferida de la invención también se proporcionan variantes de modulador de actividad de neurotrofina y variantes de fragmentos del mismo. Cuando son polipéptidos, las variantes se determinan en base a su grado de identidad o a su homología con una secuencia de aminoácidos predeterminada, siendo dicha secuencia de aminoácidos predeterminada una de SEC ID N°:  
10 modulador de actividad de neurotrofina, o, cuando la variante es un fragmento, un fragmento de las secuencias de aminoácido mencionadas anteriormente, respectivamente.

Por consiguiente, las variantes preferiblemente presentan al menos un 75% de identidad de secuencia, por ejemplo al menos un 80% de identidad de secuencia, tal como al menos un 85% de identidad de secuencia, por ejemplo al menos un 90% de identidad de secuencia, tal como al menos un 91% de identidad de secuencia, por ejemplo al menos un 91% de identidad de secuencia, tal como al menos un 92% de identidad de secuencia, por ejemplo al menos un 93% de identidad de secuencia, tal como al menos un 94% de identidad de secuencia, por ejemplo al menos un 95% de identidad de secuencia, tal como al menos un 96% de identidad de secuencia, por ejemplo al menos un 97% de identidad de secuencia, tal como al menos un 98% de identidad de secuencia, por ejemplo un 99% de identidad de secuencia con la secuencia predeterminada.

20 La identidad de secuencia se determina en una realización utilizando fragmentos de péptidos de modulador de actividad de neurotrofina que comprenden al menos 25 aminoácidos contiguos y que tienen una secuencia de aminoácidos que al idéntica en al menos un 80%, tal como un 85%, por ejemplo un 90%, tal como un 95%, por ejemplo un 99%, a la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEC ID N°: 2, SEC ID N°: 4, SEC ID N°: 6 y SEC ID N°: 8, respectivamente, en donde el porcentaje de identidad se determina mediante los algoritmos GAP, BESTFIT o FASTA en el paquete de software Wisconsin Genetics versión 7.0, usando los pesos de hueco por defecto.

25 Los siguientes términos se usan para describir las relaciones de secuencia entre dos o más polinucleótidos: “secuencia predeterminada”, “ventana de comparación”, “identidad de secuencia”, “porcentaje de identidad de secuencia” y “identidad sustancial”.

30 Una “secuencia predeterminada” es una secuencia definida usada como base para una comparación de secuencias; una secuencia predeterminada puede ser un subconjunto de una secuencia de mayor tamaño, por ejemplo, como un segmento de una secuencia de ADN de longitud completa o de un gen dado en un listado de secuencias, tal como una secuencia de polinucleótido de SEC ID N°: 1, o puede comprender una secuencia de ADN o génica completa. Generalmente, una secuencia predeterminada tiene al menos 20 nucleótidos de longitud, frecuentemente al menos 25 nucleótidos de longitud, y a menudo al menos 50 nucleótidos de longitud.

35 Puesto que dos polinucleótidos pueden cada uno (1) comprender una secuencia (es decir, una porción de la secuencia de polinucleótido completa) que es similar entre los dos polinucleótidos, y (2) puede comprender además una secuencia que es divergente entre los dos polinucleótidos, las comparaciones de secuencia entre dos (o más) polinucleótidos se llevan a cabo típicamente comparando las secuencias de los dos polinucleótidos en una “ventana de comparación” para identificar y comparar regiones locales de similitud de secuencia. Una “ventana de comparación”, tal como se usa en la presente memoria, se refiere a un segmento conceptual de al menos 20 posiciones de nucleótidos contiguos en donde una secuencia de polinucleótido se puede comparar con una secuencia predeterminada de al menos 20 nucleótidos contiguos y en donde la porción de la secuencia de polinucleótido de la ventana de comparación puede comprender adiciones o eliminaciones (es decir, huecos) del 20 por ciento o menos en comparación con la secuencia predeterminada (que no comprende adiciones o eliminaciones) para el alineamiento óptimo de las dos secuencias.

40 El alineamiento óptimo de las secuencias para alinear una ventana de comparación puede realizarse mediante el algoritmo de homología local de Smith y Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2: 482, mediante el algoritmo de alineamiento de homología de Needleman y Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48: 443, mediante el método de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 85: 2444, mediante implementaciones computerizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el paquete de software Wisconsin Genetics versión 7.0, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis) o mediante inspección, y se selecciona el mejor alineamiento (es decir, el que resulta en el mayor porcentaje de homología de la ventana de comparación) generado por los diversos métodos.

55 La expresión “identidad de secuencia” significa que las dos secuencias de polinucleótidos son idénticas (es decir, en una base nucleótido a nucleótido) en la ventana de comparación. La expresión “porcentaje de identidad de secuencia” se calcula comparando dos secuencias alineadas óptimamente en la ventana de comparación, determinando el número de posiciones en las se da una base de ácido nucleico idéntica (por ejemplo, A, T, C, G, U ó I) en ambas secuencias para proporcionar el número de posiciones coincidentes, dividiendo el número de posiciones coincidentes entre el número total de posiciones en la ventana de comparación (es decir, el tamaño de la

5 ventana) y multiplicando el resultado por 100 para dar lugar al porcentaje de identidad de secuencia. El término "identidad sustancial" tal como se usa en la presente memoria denota una característica de una secuencia de polinucleótido, en donde el polinucleótido comprende una secuencia que tiene al menos un 85 por ciento de identidad de secuencia, preferiblemente al menos del 90 al 95 por ciento de identidad de secuencia, más habitualmente al menos un 99 por ciento de identidad de secuencia en comparación con una secuencia predeterminada en una ventana de comparación de al menos 20 posiciones de nucleótidos, frecuentemente en una ventana de al menos 25-50 nucleótidos, en donde el porcentaje de identidad de secuencia se calcula comparando la secuencia predeterminada con la secuencia de polinucleótido que puede incluir eliminaciones o adiciones que sumen un 20 por ciento o menos de la secuencia predeterminada en la ventana de comparación. La secuencia predeterminada puede ser un subconjunto de una secuencia de mayor tamaño, por ejemplo, un segmento de la secuencia de polinucleótido de longitud completa SEC ID N°: 1 presentada en la presente memoria.

15 Según se aplica a polipéptidos, un grado de identidad de secuencias de aminoácido es función del número de aminoácidos idénticos en posiciones compartidas por las secuencias de aminoácido. Un grado de homología o de similitud de secuencias de aminoácidos es función del número de aminoácidos, es decir, está relacionado con la estructura, en posiciones compartidas por las secuencias de aminoácidos.

20 Una secuencia "no relacionada" o "no homóloga" comparte menos del 40% de identidad, aunque preferiblemente menos del 25% de identidad, con una de las secuencias de polipéptido de modulador de actividad de neurotrofina de la presente invención. El término "identidad sustancial" significa que dos secuencias de péptidos, cuando están alineadas de manera óptima, mediante los programas GAP o BESTFIT usando pesos de hueco por defecto, comparten al menos un 80% de identidad de secuencia, preferiblemente al menos un 90 por ciento de identidad de secuencia, más preferiblemente al menos un 95 por ciento de identidad de secuencia o más (por ejemplo, un 99 por ciento de identidad de secuencia). Preferiblemente, las posiciones de residuos que no son idénticas difieren en sustituciones conservativas de aminoácidos.

25 Las sustituciones conservativas de aminoácidos se refieren a la posibilidad de intercambiar residuos que tienen cadenas laterales similares. Por ejemplo, un grupo de aminoácidos que tiene cadenas laterales alifáticas es glicina, alanina, valina, leucina y isoleucina; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales alifáticas de hidroxilo es serina y treonina; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen amidas es asparagina y glutamina; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales aromáticas es fenilalanina, tirosina y triptófano; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales básicas es lisina, arginina e histidina; y un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen azufre es cisteína y metionina. Los grupos de sustitución conservativa de aminoácidos preferidos son: valina-leucina-isoleucina, fenilalanina-tirosina, lisina-arginina, alanina-valina y asparagina-glutamina.

30 Adicionalmente, también se determinan las variantes en base a un número predeterminado de sustituciones conservativas de aminoácidos tal como se define en la presente memoria más adelante. Tal como se usa aquí, la sustitución conservativa de aminoácidos se refiere a la sustitución de un aminoácido (dentro de un grupo de aminoácidos predeterminado) por otro aminoácido (dentro del mismo grupo), en donde los aminoácidos exhiben características similares o sustancialmente similares.

35 Dentro del significado de la expresión "sustitución conservativa de aminoácidos", tal como se aplica aquí, un aminoácido puede ser sustituido por otro dentro de los grupos de aminoácidos indicados aquí a continuación:

- 40
- i. Aminoácidos que tienen cadenas laterales polares (Asp, Glu, Lys, Arg, His, Asn, Gln, Ser, Thr, Tyr y Cys).
  - ii. Aminoácidos que tienen cadenas laterales no polares (Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Trp, Pro y Met).
  - iii. Aminoácidos que tienen cadenas laterales alifáticas (Gly, Ala, Val, Leu, Ile).
  - iv. Aminoácidos que tienen cadenas laterales cíclicas (Phe, Tyr, Trp, His, Pro).
  - v. Aminoácidos que tienen cadenas laterales aromáticas (Phe, Tyr, Trp).

45

  - vi. Aminoácidos que tienen cadenas laterales ácidas (Asp, Glu).
  - vii. Aminoácidos que tienen cadenas laterales básicas (Lys, Arg, His).
  - viii. Aminoácidos que tienen cadenas laterales de amida (Asn, Gln).
  - ix. Aminoácidos que tienen cadenas laterales hidroxilo (Ser, Thr).
  - x. Aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen azufre (Cys, Met).

50

  - xi. Aminoácidos neutros ligeramente hidrofóbicos (Pro, Ala, Gly, Ser, Thr).
  - xii. Aminoácidos ácidos hidrofílicos (Gln, Asn, Glu, Asp), y

xiii. Aminoácidos ácidos hidrofóbicos (Leu, Ile, Val).

Por consiguiente, una variante o un fragmento de la misma según la invención puede comprender, dentro de la misma variante de la secuencia o fragmentos de la misma, o entre diferentes variantes de la secuencia o fragmentos de la misma, al menos una sustitución, tal como una pluralidad de sustituciones introducidas independientemente unas respecto a las otras.

Es evidente a partir de la anterior descripción que la misma variante o fragmento de la misma puede comprender más de una sustitución conservativa de aminoácido de entre más de un grupo de aminoácidos conservativos tal como se ha definido aquí anteriormente.

La adición o eliminación de al menos un aminoácido puede ser una adición o eliminación de entre preferiblemente 2 y 250 aminoácidos, tal como entre 10 y 20 aminoácidos, por ejemplo entre 20 y 30 aminoácidos, tal como entre 40 y 50 aminoácidos. Sin embargo, dentro de la presente invención también se contemplan adiciones o eliminaciones de más de 50 aminoácidos, tal como adiciones de 50 a 100 aminoácidos, la adición de 100 a 150 aminoácidos, la adición de 150-250 aminoácidos. La eliminación y/o la adición pueden – independientemente una de la otra – ser una eliminación y/o una adición dentro de la secuencia y/o al final de la secuencia.

Los fragmentos de polipéptido de acuerdo con la invención, incluyendo cualquier equivalente funcional de los mismos, pueden comprender en una realización menos de 250 residuos de aminoácido, tal como menos de 240 residuos de aminoácido, por ejemplo menos de 225 residuos de aminoácido, tal como menos de 200 residuos de aminoácido, por ejemplo menos de 180 residuos de aminoácidos, tal como menos de 160 residuos de aminoácido, por ejemplo menos de 150 residuos de aminoácido, tal como menos de 140 residuos de aminoácido, por ejemplo menos de 130 residuos de aminoácido, tal como menos de 120 residuos de aminoácido, por ejemplo menos de 110 residuos de aminoácido, tal como menos de 100 residuos de aminoácido, por ejemplo menos de 90 residuos de aminoácido, tal como menos de 85 residuos de aminoácido, por ejemplo menos de 80 residuos de aminoácido, tal como menos de 75 residuos de aminoácido, por ejemplo menos de 70 residuos de aminoácido, tal como menos de 65 residuos de aminoácido, por ejemplo menos de 60 residuos de aminoácido, tal como menos de 55 residuos de aminoácido, por ejemplo menos de 50 residuos de aminoácido.

“Equivalencia funcional”, tal como se usa en la presente memoria, se establece de acuerdo con una realización preferida mediante una referencia a la funcionalidad correspondiente de un fragmento predeterminado de la secuencia.

Debe entenderse que las variantes o equivalentes funcionales de un modulador de actividad de neurotrofina presentan secuencias de aminoácidos que difieren gradualmente de la secuencia de modulador de actividad de neurotrofina predeterminada preferida, así como el número y el alcance de las inserciones, eliminaciones y sustituciones que incluyen un aumento de las sustituciones conservativas. Esta diferencia se mide como una reducción en la homología entre la secuencia predeterminada y el fragmento o equivalente funcional.

Todos los fragmentos o equivalentes funcionales de la SEC ID N°: modulador de actividad de neurotrofina se incluyen dentro del alcance de esta invención, independientemente del grado de homología que muestren con respecto a sus respectivas secuencias de modulador de actividad de neurotrofina predeterminado descrito aquí. La razón para esto es que algunas regiones del modulador de actividad de neurotrofina tienen mayor probabilidad de ser fácilmente mutables, o capaces de ser completamente eliminados, sin ningún efecto significativo sobre la actividad de unión del fragmento resultante.

Una variante funcional obtenida mediante sustitución puede presentar claramente alguna forma o grado de actividad de modulador de actividad de neurotrofina nativa, y aún así ser menos homóloga, si se sustituyen los residuos que contienen cadenas laterales de aminoácido funcionalmente similares. En este sentido, funcionalmente similar se refiere a características dominantes de las cadenas laterales, tal como ser hidrofóbicas, básicas, neutras o ácidas, o la presencia o ausencia de masa estérica. Por consiguiente, en una realización de la invención, el grado de identidad no es una medida principal de que un fragmento sea una variante o equivalente funcional de un fragmento predeterminado preferido de acuerdo con la presente invención.

La homología entre secuencias de aminoácidos puede calcularse usando matrices de puntuación bien conocidas tales como una cualquiera de BLOSUM 30, BLOSUM 40, BLOSUM 45, BLOSUM 50, BLOSUM 55, BLOSUM 60, BLOSUM 62, BLOSUM 65, BLOSUM 70, BLOSUM 75, BLOSUM 80, BLOSUM 85 y BLOSUM 90.

Los fragmentos que comparten homología con fragmentos de la SEC ID N°: 1-13, respectivamente, deben considerarse dentro del alcance de la presente invención cuando tienen preferiblemente al menos aproximadamente un 90 por ciento de homología, por ejemplo al menos un 92 por ciento de homología, tal como al menos un 94 por ciento de homología, por ejemplo al menos un 95 por ciento de homología, tal como al menos un 96 por ciento de homología, por ejemplo al menos un 97 por ciento de homología, tal como al menos un 98 por ciento de homología, por ejemplo al menos un 99 por ciento de homología con respecto a dichas secuencias de fragmento predeterminadas, respectivamente. De acuerdo con una realización de la invención, los porcentajes de homología se refieren a porcentajes de identidad.

Otros factores adicionales que pueden tomarse en consideración para determinar la equivalencia funcional según el significado usado en la presente memoria son: i) la capacidad de antisueros para detectar un fragmento de modulador de actividad de neurotrofina de acuerdo con la presente invención, o ii) la capacidad del fragmento de modulador de actividad de neurotrofina funcionalmente equivalente para competir con el correspondiente modulador de actividad de neurotrofina en un ensayo. Un método para determinar una secuencia de aminoácidos inmunogénicamente activos dentro de una secuencia de aminoácidos conocida ha sido descrito por Geysen en la Patente de EE.UU. nº 5.595.915.

Un método adicional adecuadamente adaptable para determinar la estructura y las relaciones de función de fragmentos peptídicos se describe en la Patente de EE.UU. nº 6.013.478. Asimismo, los especialistas en la técnica también conocen los métodos para evaluar la unión de una secuencia de aminoácidos a un resto receptor.

Además de las sustituciones conservativas introducidas en cualquier posición de un modulador de actividad de neurotrofina predeterminado preferido, o de un fragmento del mismo, también puede ser deseable introducir sustituciones no conservativas en una cualquiera, o en más de una, de las posiciones de dicho modulador de actividad de neurotrofina.

Una sustitución no conservativa que conduce a la formulación de un fragmento funcionalmente equivalente de modulador de actividad de neurotrofina, por ejemplo, i) diferiría sustancialmente en polaridad, por ejemplo un residuo con una cadena lateral no polar (Ala, Leu, Pro, Trp, Val, Ile, Leu, Phe o Met) sustituido por un residuo con una cadena lateral polar tal como Gly, Ser, Thr, Cys, Tyr, Asn o Gln, o por un aminoácido cargado tal como Asp, Glu, Arg o Lys, o sustituyendo un residuo cargado o polar por uno no polar; y/o ii) diferiría sustancialmente en su efecto sobre la orientación de la cadena principal del polipéptido, tal como la sustitución de o por Pro o Gly por otro residuo; y/o iii) diferiría sustancialmente en la carga eléctrica, por ejemplo una sustitución de un residuo cargado negativamente tal como Glu o Asp por un residuo cargado positivamente tal como Lys, His o Arg (y viceversa); y/o iv) diferiría sustancialmente en la masa estérica, por ejemplo la sustitución de un residuo voluminosos tal como His, Trp, Phe o Tyr por otro que tenga una cadena lateral menor, por ejemplo Ala, Gly o Ser (y viceversa).

Las variantes obtenidas mediante sustitución de aminoácidos pueden prepararse, en una realización preferida, en base a los valores de hidrofobicidad e hidrofiliicidad y a la similitud relativa de los sustituyentes de cadena lateral de los aminoácidos, que incluyen la carga, el tamaño y otros similares. Los ejemplos de sustituciones de aminoácidos que toman en consideración varias de las anteriores características son bien conocidos por los especialistas en la técnica e incluyen: arginina y lisina; glutamato y aspartato; serina y treonina; glutamina y asparagina; y valina, leucina e isoleucina.

Además de las variantes descritas en la presente memoria, se pueden formular variantes estéricamente similares para imitar las porciones clave de la estructura de la variante y así dichos compuestos también pueden usarse de la misma manera que las variantes de la invención. Esto puede lograrse mediante técnicas de modelización y diseño químico conocidas por los especialistas en la técnica. Se debe entender que todas las construcciones estéricamente similares son abarcadas por el alcance de la presente invención.

En la presente memoria también se describen variantes funcionales que comprenden aminoácidos sustituidos que presentan valores hidrofílicos o índices hidropáticos que están en el intervalo de  $\pm 4,9$ , por ejemplo dentro del intervalo de  $\pm 4,7$ , tal como dentro del intervalo de  $\pm 4,5$ , por ejemplo dentro del intervalo de  $\pm 4,3$ , tal como dentro del intervalo de  $\pm 4,1$ , por ejemplo dentro del intervalo de  $\pm 3,9$ , tal como dentro del intervalo de  $\pm 3,7$ , por ejemplo dentro del intervalo de  $\pm 3,5$ , tal como dentro del intervalo de  $\pm 3,3$ , por ejemplo dentro del intervalo de  $\pm 3,1$ , tal como dentro del intervalo de  $\pm 2,9$ , por ejemplo dentro del intervalo de  $\pm 2,7$ , tal como dentro del intervalo de  $\pm 2,5$ , por ejemplo dentro del intervalo de  $\pm 2,3$ , tal como dentro del intervalo de  $\pm 2,1$ , por ejemplo dentro del intervalo de  $\pm 2,0$ , tal como dentro del intervalo de  $\pm 1,8$ , por ejemplo dentro del intervalo de  $\pm 1,6$ , tal como dentro del intervalo de  $\pm 1,5$ , por ejemplo dentro del intervalo de  $\pm 1,4$ , tal como dentro del intervalo de  $\pm 1,3$ , por ejemplo dentro del intervalo de  $\pm 1,2$ , tal como dentro del intervalo de  $\pm 1,1$ , por ejemplo dentro del intervalo de  $\pm 1,0$ , tal como dentro del intervalo de  $\pm 0,9$ , por ejemplo dentro del intervalo de  $\pm 0,8$ , tal como dentro del intervalo de  $\pm 0,7$ , por ejemplo dentro del intervalo de  $\pm 0,6$ , tal como dentro del intervalo de  $\pm 0,5$ , por ejemplo dentro del intervalo de  $\pm 0,4$ , tal como dentro del intervalo de  $\pm 0,3$ , por ejemplo dentro del intervalo de  $\pm 0,25$ , tal como dentro del intervalo de  $\pm 0,2$  del valor del aminoácido que ha sustituido.

La importancia de los índices hidrofílico e hidropático de los aminoácidos a la hora de conferir una función biológica interactiva a una proteína es bien conocida en la técnica (Kyte y Doolittle, 1982, y Hopp, Patente de EE.UU. Nº 4.554.101).

Los valores de índice hidropático de los aminoácidos tal como se usan en la presente memoria son: isoleucina (+4,5); valina (+4,2); leucina (+3,8); fenilalanina (+2,8); cisteína/cistina (+2,5); metionina (+1,9); alanina (+1,8); glicina (-0,4); treonina (-0,7); serina (-0,8); triptófano (-0,9); tirosina (-1,3); prolina (-1,6); histidina (-3,2); glutamato (-3,5); glutamina (-3,5); aspartato (-3,5); asparagina (-3,5); lisina (-3,9) y arginina (-4,5) (Kyte y Doolittle, 1982).

Los valores de hidrofiliicidad de aminoácidos son: arginina (+3,0); lisina (+3,0); aspartato (+3,0  $\pm 0,1$ ); glutamato (+3,0  $\pm 0,1$ ); serina (+0,3); asparagina (+0,2); glutamina (+0,2); glicina (0); treonina (-0,4); prolina (-0,5  $\pm 0,1$ ); alanina (-0,5);

histidina (-0,5); cisteína (-1,0); metionina (-1,3); valina (-1,5); leucina (-1,8); isoleucina (-1,8); tirosina (-2,3); fenilalanina (-2,5); triptófano (-3,4) (Patente de EE.UU. n° 4.554.101).

5 Además de los compuestos de peptidilo descritos aquí, se pueden formular compuestos estéricamente similares para imitar las porciones clave de la estructura peptídica y dichos compuestos también pueden ser usados de la misma manera que los péptidos descritos en la presente memoria. Esto se puede lograr empleando técnicas de modelización y de diseño de productos químicos conocidas por los especialistas en la técnica. Por ejemplo, se puede emplear la esterificación y otras alquilaciones para modificar el extremo amino de, por ejemplo, una cadena peptídica principal de di-arginina, para imitar una estructura de tetrapéptido.

10 Los péptidos con alquilaciones N-terminales y esterificaciones C-terminales también son contemplados dentro del alcance de la presente invención. Los equivalentes funcionales también comprenden conjugados glicosilados y covalentes o agregados formados con los mismos, o con otros, fragmentos de modulador de actividad de neurotrofina y/o moléculas de modulador de actividad de neurotrofina, incluyendo los dímeros o restos funcionales químicos no relacionados. Dichos equivalentes funcionales se preparan mediante unión de funcionalidades a grupos presentes en el fragmento, que incluyen uno o ambos extremos N y C, empleando medios conocidos en la técnica.

15 Por tanto, los equivalentes funcionales pueden comprender fragmentos conjugados a ésteres o amidas alifáticos o de acilo de los extremos carboxilo, alquilaminas o residuos que contengan cadenas laterales de carboxilo, por ejemplo, conjugados a alquilaminas en residuos de ácido aspártico; derivados de O-acilo de residuos que contengan grupos hidroxilo y derivados de N-acilo de los aminoácidos amino-terminales o de residuos que contengan grupos amino, por ejemplo conjugados con fMet-Leu-Phe o proteínas inmunogénicas. Los derivados de los grupos acilo se seleccionan del grupo de los restos funcionales alquilo (que incluyen alquilos C3 a C10 normales), formando con ello especies de alcanilo, y compuestos carbocíclicos o heterocíclicos, formando con ello especies de aroilo. Los grupos reactivos preferiblemente son compuestos difuncionales conocidos *per se* para su uso en reticulación de proteínas a matrices insolubles a través de grupos laterales reactivos.

25 Los equivalentes funcionales covalentes o agregativos y los derivados de los mismos son útiles como reactivos en inmunoensayos o para procedimientos de purificación por afinidad. Por ejemplo, un fragmento de modulador de actividad de neurotrofina de acuerdo con la presente invención puede insolubilizarse mediante enlace covalente a Sefarosa activada con bromuro de cianógeno empleando métodos conocidos *per se*, o adsorberse en superficies de poliolefinas, con reticulación de glutaraldehído o no, para su uso en un ensayo o en una purificación de anticuerpos de modulador de actividad de anti-neurotrofina o en receptores de la superficie celular. Los fragmentos también pueden marcarse con un grupo detectable, por ejemplo, pueden ser radioyodados mediante el procedimiento de cloramina T, ligados covalentemente a quelatos de tierras raras o conjugados a otro resto fluorescente para su uso, por ejemplo, en ensayos diagnósticos.

30 La mutagénesis de un fragmento predeterminado preferido de modulador de actividad de neurotrofina puede llevarse a cabo haciendo inserciones de aminoácidos, normalmente en el orden de 1 a 10 residuos de aminoácidos, preferiblemente entre aproximadamente 1 y 5 residuos de aminoácidos, o eliminaciones aproximadamente entre 1 y 10 residuos, tal como aproximadamente entre 2 y 5 residuos.

40 En una realización el fragmento de modulador de actividad de neurotrofina se sintetiza mediante síntesis automatizada. Se puede emplear cualquiera de las técnicas de fase sólida disponibles comercialmente, tal como el método de síntesis en fase sólida de Merrifield, en el que se añaden secuencialmente los aminoácidos a una cadena de aminoácidos creciente (véase Merrifield, J. Am. Chem. Soc. 85: 2149-2146, 1963).

45 El equipo para la síntesis automatizada de polipéptidos está disponible comercialmente a partir de suministradores tales como Applied Biosystems, Inc. de Foster City, California, y puede operarse de forma general según las instrucciones del fabricante. La síntesis en fase sólida permitirá la incorporación de sustituciones de aminoácidos deseables en cualquier fragmento de modulador de actividad de neurotrofina de acuerdo con la presente invención. Debe entenderse que las sustituciones, eliminaciones, inserciones o cualquier sub-combinación de las mismas pueden combinarse para alcanzar una secuencia final de un equivalente funcional. Debe entenderse que las inserciones incluyen fusiones amino-terminales y/o carboxi-terminales, por ejemplo con una proteína o un vehículo hidrofóbico o inmunogénico tal como cualquier polipéptido o estructura soporte capaz de actuar como vehículo.

50 También se proporcionan oligómeros, que incluyen dímeros que incluyen homodímeros y heterodímeros, de fragmentos de modulador de actividad de neurotrofina de acuerdo con la invención y caen dentro del alcance de la invención. Los equivalentes funcionales y las variantes de modulador de actividad de neurotrofina se pueden producir como homodímeros o heterodímeros con otras secuencias de aminoácido o con secuencias nativas de modulador de actividad de neurotrofina. Los heterodímeros incluyen dímeros que contienen fragmentos de modulador de actividad de neurotrofina inmunorreactivos, así como fragmentos de modulador de actividad de neurotrofina que no necesitan tener o ejercer actividad biológica alguna.

55 Los fragmentos de modulador de actividad de neurotrofina pueden sintetizarse tanto *in vitro* como *in vivo*. El método para la síntesis *in vitro* es bien conocido, y los métodos que son adecuados o adecuadamente adaptables a la síntesis *in vivo* de modulador de actividad de neurotrofina también se describen en la técnica anterior. Cuando se

- 5 sintetizan *in vivo*, una célula hospedante se transforma con vectores que contienen ADN que codifica modulador de actividad de neurotrofina o un fragmento del mismo. Un vector se define como una construcción de ácido nucleico replicable. Los vectores se usan para mediar en la expresión de modulador de actividad de neurotrofina. Un vector de expresión es una construcción de ADN replicable en la que una secuencia de ácido nucleico que codifica un fragmento predeterminado de modulador de actividad de neurotrofina, o cualquier equivalente funcional del mismo que pueda expresarse *in vivo*, es ligado operativamente a secuencias de control adecuadas capaces de efectuar la expresión del fragmento o equivalente en un hospedante adecuado. Dichas secuencias de control son bien conocidas en la técnica.
- 10 Los cultivos de células derivadas de organismos multicelulares representan células hospedantes preferidas. En principio, cualquier cultivo de células eucarióticas superiores es factible, tanto de cultivos de vertebrados como de invertebrados. Los ejemplos de líneas celulares de hospedante útiles son células VERO y HeLa, líneas celulares de ovario de hámster chino (CHO) y líneas celulares WI38, BHK, COS-7, 293 y MDCK. Las células hospedantes preferidas son células eucarióticas que se sabe que sintetizan modulador de actividad de neurotrofina endógeno. Los cultivos de dichas células pueden aislarse y usarse como fuente del fragmento, o usarse en métodos terapéuticos de tratamiento, que incluyen métodos terapéuticos dirigidos a promocionar o inhibir un estado de crecimiento, o a métodos diagnósticos llevados a cabo en un organismo humano o animal.
- 15 Agente farmacéutico: los términos “agente farmacéutico” o “fármaco” o “medicamento” se refieren a cualquier agente terapéutico o profiláctico que puede usarse en el tratamiento (que incluye la prevención, el diagnóstico, el alivio o la cura) de un malestar, aflicción, afección, enfermedad o lesión en un paciente. Los determinantes genéticos útiles terapéuticamente, péptidos, polipéptidos y polinucleótidos pueden incluirse dentro del significado del término producto farmacéutico o fármaco. Tal como se define aquí, un “agente terapéutico”, “agente farmacéutico” o “fármaco” o “medicamento” es un tipo de agente bioactivo.
- 20 El término “agente bioactivo” tal como se emplea en la presente memoria se refiere a cualquier sustancia que pueda usarse en relación con una aplicación que sea terapéutica o diagnóstica, tal como por ejemplo en métodos para diagnosticar la presencia o ausencia de una enfermedad en un paciente y/o métodos para el tratamiento de una enfermedad en un paciente. “Agente bioactivo” se refiere a sustancias que son capaces de ejercer un efecto biológico *in vitro* y/o *in vivo*. Los agentes bioactivos pueden ser neutros o estar cargados negativa o positivamente. Los agentes bioactivos adecuados incluyen, por ejemplo, profármacos, agentes de diagnóstico, agentes terapéuticos, agentes farmacéuticos, fármacos, agentes de aporte de oxígeno, sustitutos sanguíneos, moléculas orgánicas sintéticas, polipéptidos, péptidos, vitaminas, esteroides, análogos de esteroides y determinantes genéticos, que incluyen nucleósidos, nucleótidos y polinucleótidos.
- 25 Tratamiento: el término “tratamiento” tal como se usa en la presente memoria se refiere a un método que implica una terapia que incluye la cirugía de una afección clínica en un individuo que incluye un organismo humano o animal. La terapia puede ser profiláctica, paliativa o curativa.
- 30 ARN antisentido: una molécula de ARN capaz de causar el silenciamiento de un gen mediante la unión específica a una molécula de ARNm de interés.
- ADN antisentido: una molécula de ADN capaz de causar el silenciamiento de un gen mediante la unión específica a una molécula de ARNm de interés.
- 35 SiRNA: “ARN de interferencia pequeña” (del inglés “small interfering RNA”) es una molécula de ARN de cadena doble corta (a menudo, aunque sin restricción, de menos de 30 nucleótidos de longitud) capaz de causar el silenciamiento específico de un gen en células de mamífero.
- “Silenciamiento” de un gen: un proceso que conduce a una expresión reducida de genes endógenos. El silenciamiento génico preferiblemente resulta de la reducción post-transcripcional de la expresión génica.
- 40 Regulación al alza de la expresión: un proceso que conduce a un aumento de la expresión de genes, preferiblemente de genes endógenos.
- 45 *In vitro/in vivo*: los términos se usan con su significado normal.
- “Polipéptido”, tal como se usa en la presente memoria se refiere a una molécula que comprende al menos dos aminoácidos. Los aminoácidos pueden ser naturales o sintéticos. “Oligopéptidos” se define aquí como polipéptidos que tienen una longitud no superior a 100 aminoácidos. El término “polipéptido” también pretende incluir proteínas, es decir biomoléculas funcionales que comprenden al menos un polipéptido; cuando comprenden al menos dos polipéptidos, éstos pueden formar complejos, estar unidos covalentemente o pueden estar unidos no covalentemente. Los polipéptidos de una proteína pueden estar glicosilados y/o lipidados y/o comprender grupos prostéticos.
- 50 “Polinucleótido”, tal como se emplea en la presente memoria, se refiere a una molécula que comprende al menos dos ácidos nucleicos. Los ácidos nucleicos pueden existir de forma natural o pueden ser modificados, tal como
- 55

ácidos nucleicos cerrados (LNA, del inglés “locked nucleic acids”), o ácidos nucleicos peptídicos (PNA, del inglés “peptide nucleic acids”). Polinucleótido, tal como se usa aquí, generalmente pertenece a:

- i) un polinucleótido que comprende una secuencia de codificación predeterminada, o
  - ii) un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos predeterminada, o
  - 5     iii) un polinucleótido que codifica un fragmento de un polipéptido codificado por polinucleótidos (i) o (ii), en donde dicho fragmento tiene al menos una actividad predeterminada como la especificada en la presente memoria; y
  - 10    iv) un polinucleótido cuya cadena complementaria se hibrida en condiciones severas con un polinucleótido como el definido en una cualquiera de (i), (ii) y (iii), y que codifica un polipéptido, o un fragmento del mismo, que tiene al menos una actividad predeterminada como la especificada en la presente memoria; y
  - v) un polinucleótido que comprende una secuencia de nucleótidos que está degenerada respecto a la secuencia de nucleótidos de los polinucleótidos (iii) o (iv);
- o la cadena complementaria de dicho polinucleótido.

15     Un “anticuerpo purificado” es un anticuerpo en el que al menos el 60 por ciento de su peso está libre de polipéptidos y moléculas orgánicas naturales con las que se asocia de forma natural. Preferiblemente, la preparación comprende anticuerpo en una cantidad de al menos el 75 por ciento en peso, más preferiblemente de al menos el 90 por ciento en peso, y aún más preferiblemente de al menos el 99 por ciento en peso.

*Descripción detallada*

20     Los presentes inventores han identificado que las neurotrofinas se unen a receptores de la familia de receptores con dominio Vps10p. Por consiguiente, la presente invención se refiere a la modulación de la actividad de al menos una neurotrofina.

Sin pretender establecer una teoría, se cree que la familia de receptores con dominio Vps10p está implicada en uno o más de los siguientes mecanismos relativos a las neurotrofinas:

- Transporte retrógrado, que incluye la captación de pro-neurotrofina, neurotrofina y p75.
- 25    - Transporte dentro de mecanismos biosintéticos, que incluyen la clasificación de pro-neurotrofina y transporte desde la red de Golgi.
- Liberación de neurotrofinas.
- Señalización, que incluye la modulación del transporte celular y la señalización mediante formación de complejos ternarios con p75 y neurotrofina o pro-neurotrofina.

30     *Receptores de la familia de receptores con dominio Vps10p*

35     La expresión “receptor de la familia Vps10p” se refiere a una familia de receptores que se caracteriza por tener un dominio de Vps10p N-terminal; dicha familia con dominio Vps10p comprende SorLA, sortilina, SorCS-1, SorCS-2 ó SorCS-3, véase la Figura 1. En una realización de la presente invención, se puede usar cualquiera de los receptores de la familia con dominio Vps10p; más preferiblemente, el receptor comprende el dominio Vps10p, el módulo 10CC, un segmento de transmembrana, así como un segmento citoplásmico que media en la clasificación celular y en la internalización, así como en la unión de adaptadores citoplásmicos que afectan a la señalización celular. En particular, el receptor usado es sortilina.

*Neurotrofinas/pro-neurotrofinas*

40     El término “neurotrofina” tal como se usa en la presente memoria se refiere a cualquier miembro de la familia de las neurotrofinas, comprendiendo dicha familia de neurotrofinas el factor de crecimiento neural (NGF), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), la neurotrofina-3 (NT-3) y la neurotrofina-4/5 (NT-4/5). En una realización de la presente invención, se puede usar cualquier miembro de la familia de las neurotrofinas; sin embargo, se prefiere que la neurotrofina sea NGF o BDNF.

45     El término “pro-neurotrofina” tal como se usa en la presente memoria se puede referir a cualquier pro-péptido de la familia de las neurotrofinas, comprendiendo dicha familia de pro-péptidos pro-NGF, pro-BDNF, pro-NT-3 y pro-NT-4/5. En una realización de la presente invención se puede usar cualquier pro-neurotrofina, sin embargo se prefiere que la pro-neurotrofina sea pro-NGF o pro-BDNF.

*Modulación de la actividad de neurotrofina*

- Las expresiones “actividad mediada por neurotrofina”, “actividad de una neurotrofina” o “actividad de neurotrofina” se refieren a una actividad biológica que normalmente se ve promovida, tanto directa como indirectamente, en presencia de una neurotrofina o una pro-neurotrofina. Las actividades de neurotrofina incluyen, aunque sin restricción, supervivencia neuronal, diferenciación neuronal que incluye el proceso de formación y el sobrecrecimiento de neuritas, cambios bioquímicos tales como inducción enzimática, implicación en la depresión y acción antidepresiva, implicación en acelerar el crecimiento del proceso nervioso, e implicación en disminuir la movilidad celular general. Se ha propuesto la hipótesis de que la carencia de factores neurotróficos es responsable de la degeneración de poblaciones neuronales selectivas, ya que se produce en la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer y la esclerosis lateral amiotrófica.
- 5 Las actividades de las pro-neurotrofinas incluyen, aunque sin limitación, la activación diferencial de respuestas celulares tanto pro-apoptóticas como anti-apoptóticas, a través de la activación preferencial de receptores p75<sup>NTR</sup> o TrkA, respectivamente.
- 10 En las realizaciones preferidas, una o más de dichas actividades de la(s) neurotrofina(s) y/o pro-neurotrofina(s) son moduladas directa o indirectamente mediante la administración de un agente a un animal.
- 15 Los términos “modulación” o “modulado” se refieren a cualquier cambio o cambios en la actividad biológica de un agente bioactivo, por ejemplo una neurotrofina. En una realización de la presente invención, dicha modulación de la actividad de una neurotrofina es una disminución de la actividad de neurotrofina; sin embargo, la modulación puede igualmente ser un aumento de la actividad de la neurotrofina.
- Agentes capaces de modular la actividad*
- 20 En una realización preferida, el agente es capaz de unirse a un receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p o a una neurotrofina y/o pro-neurotrofina, interfiriendo con ello en la actividad de una neurotrofina, bien directamente o bien indirectamente.
- En una realización igualmente preferida, el agente es capaz de modular la expresión de un receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p.
- 25 El agente capaz de exhibir uno o más de los efectos mencionados anteriormente puede ser cualquier tipo de agente, por ejemplo el agente puede seleccionarse del grupo que comprende proteínas, péptidos, polipéptidos, anticuerpos, ARN antisentido, ADN antisentido, SiRNA, otros polinucleótidos o moléculas orgánicas. En una realización preferida el agente es un anticuerpo o un polipéptido, y en el caso más preferible el agente es un polipéptido.
- 30 En una realización, el agente es capaz de inhibir la unión de una neurotrofina o pro-neurotrofina con un receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p. Dicha inhibición puede, por ejemplo, deberse a la unión del agente con la neurotrofina y/o la pro-neurotrofina y/o el receptor.
- En una realización, el agente es capaz de unirse a la neurotrofina y/o pro-neurotrofina, tal como un receptor soluble de la familia de receptores con dominio Vps10p o un fragmento o una variante del mismo, siendo capaz dicho fragmento o variante de unirse a dicha neurotrofina. En particular, el receptor soluble es un receptor de sortilina soluble, o un fragmento o una variante del mismo. Cualquier fragmento o variante capaz de unirse a una neurotrofina y/o a una pro-neurotrofina queda incluido dentro de la presente memoria. En particular, un fragmento es un péptido que comprende una secuencia que corresponde a la estructura 10CC de la familia de receptores con dominio Vps10p que tiene la secuencia SEC ID N°: 1 residuos de aminoácido 612-740, o un fragmento o variante de la misma.
- 35 En otra realización el agente es capaz de unirse al receptor. El agente se puede unir a cualquier parte del receptor relevante para la inhibición de la unión de la neurotrofina. Por consiguiente, el agente puede ser capaz de inhibir la unión de dicha neurotrofina o de dicha pro-neurotrofina a un receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p mediante la unión a una parte extracelular del receptor, a una parte intracelular del receptor o a un segmento de la parte transmembrana del receptor.
- 40 Un ejemplo del agente es un anticuerpo dirigido contra una parte extracelular del receptor. En una realización aún más preferida, el anticuerpo está purificado. En la realización preferida en la que el agente es un anticuerpo dirigido contra una parte extracelular del receptor, el anticuerpo está dirigido preferiblemente contra un péptido que comprende una secuencia que corresponde a la estructura 10CC de la familia de receptores con dominio Vps10p que tiene la secuencia SEC ID N°: 1 residuos de aminoácido 612-740 o un fragmento o una variante de la misma. En particular, el anticuerpo debería estar dirigido contra una posición dentro de dicha estructura de tal modo que el anticuerpo bloquee estéricamente la unión de la neurotrofina y/o la pro-neurotrofina con el receptor.
- 45 En otra realización adicional, el agente es un péptido que comprende una secuencia que tiene la SEC ID N°: 1 residuos de aminoácido 34-77 correspondiente a la parte de la secuencia pro-Sortilina que se une a sortilina o a un fragmento o variante de la misma, siendo capaz dicho péptido de unirse al receptor. El fragmento del mismo preferiblemente comprende la SEC ID N°: 1 residuos de aminoácido 50-70, más preferiblemente la SEC ID N°: 1
- 50
- 55

residuos de aminoácido 55-61 (GVSWGLR).

5 En otra realización preferida, el agente se selecciona de una o más de las siguientes secuencias: SEC ID N°: 2 residuos de aminoácido 29-81 correspondientes a la pro-parte de SorLa, o un fragmento o variante de la misma. En particular, un fragmento o variante de la misma debería comprender una secuencia correspondiente a la secuencia SEC ID N°: 2 residuos de aminoácido 47-66.

10 En otra realización preferida adicional, el agente es un péptido que comprende una o más de las siguientes secuencias o un fragmento o variante de las mismas: SEC ID N°: 6 residuos de aminoácidos 19-121 (pro-parte de NGF), SEC ID N°: 7 residuos de aminoácido 19-127 (pro-parte de BDNF); SEC ID N°: 8 residuos de aminoácido 17-124 (pro-parte de neurotrofina-3, NT-3), SEC ID N°: 9 residuos de aminoácido 25-80 (pro-parte de neurotrofina-4, NT-4) o un fragmento o variante de las mismas, siendo capaz dicho péptido de unirse al receptor. El agente es incluso más preferiblemente un péptido que comprende una secuencia de unión de receptor de sortilina de pro-NGF o un fragmento o variante de la misma. El agente en otra realización preferida puede ser un péptido que comprende la secuencia SEC ID N°: 6 residuos de aminoácido 19-121 (la secuencia de la pro-parte de NGF) o un fragmento o variante de la misma, siendo dicho péptido capaz de unirse al receptor.

15 En otra realización preferida, el agente puede ser de forma preferible un péptido que presenta la secuencia de SEC ID N°: 13, la secuencia correspondiente a la pro-neurotensina/pro-neuromedina, la SEC ID N°: 10 (la secuencia de la neurotensina), la SEC ID N°: 11 (la secuencia de la neuromedina) o un fragmento o una variante de las mismas, siendo dicho péptido capaz de unirse al receptor.

20 En otra realización preferida, el agente puede ser de forma preferible un péptido que tiene la secuencia SEC ID N°: 13, la secuencia correspondiente a la pro-neurotensina/pro-neuromedina, SEC ID N°: 10 (la secuencia de la neurotensina), SEC ID N°: 11 (la secuencia de la neuromedina) o un fragmento o una variante de las mismas, siendo dicho péptido capaz de unirse al receptor.

25 En otra realización preferida, el agente puede ser un péptido que comprende una variante de NGF o un fragmento de unión a receptor de sortilina de la misma. Más preferiblemente, dicho péptido que comprende una variante de NGF o un fragmento de unión a receptor de sortilina de la misma es capaz de unirse a sortilina y de estimular la actividad del receptor de sortilina. Incluso más preferiblemente, dicho péptido que comprende una variante de NGF o un fragmento de unión a receptor de sortilina de la misma comprende una o más de las secuencias descritas en la patente de EE.UU. n° 6.333.310, o un fragmento o variante de las mismas (secuencias correspondientes a variantes de NGF).

30 En otra realización adicional, el agente deriva de RAP natural (proteína asociada a receptor natural), tal como un fragmento o una variante de RAP. La RAP (proteína asociada a receptor) es una proteína celular que comprende aproximadamente 300 aminoácidos, que en una realización preferida presenta la secuencia mostrada en: XM\_003315, Gene: AH006949 correspondiente a la SEC ID N°: 12. En una realización preferida el agente derivado de RAP es un péptido que comprende un dominio funcional mínimo que tiene como mucho 104 aminoácidos, preferiblemente entre 20 y 60 aminoácidos. En particular, son dominios de proteína funcional mínimos. Estos péptidos presentan como mucho 104 aminoácidos, preferiblemente entre 20 y 60 aminoácidos. Un dominio preferido corresponde a las posiciones de aminoácido 219-323 de la RAP.

40 En otra realización preferida, el agente es capaz de unirse a una parte intracelular del receptor y/o a la parte transmembrana de un receptor de la familia de receptores con dominio Vsp10p. En particular, el agente puede ser capaz de unirse a la parte citoplásmica del receptor de la familia de receptores con dominio Vsp10p, tal como a una parte de la sortilina correspondiente a la SEC ID N°: 1 residuos de aminoácido 779-831 o a un fragmento de una variante de la misma. Más preferiblemente, el agente es capaz de unirse a la parte citoplásmica del receptor de la familia de receptores con dominio Vsp10p, tal como a una parte de la sortilina que corresponde a la SEC ID N°: 1 residuos de aminoácido 779-831 o un fragmento de una variante de la misma. Más preferiblemente, el agente es capaz de unirse a la parte citoplásmica del receptor de la familia de receptores con dominio Vsp10p, tal como a una parte de la sortilina correspondiente a la SEC ID N°: 1 residuos de aminoácido 792-794 (YSVL) o residuos de aminoácido 821-831 (HDDSDEDLLE) o un fragmento de una variante de la misma.

50 En particular, la unión de un agente a las partes intracelulares o de transmembrana del receptor puede conducir a la modulación de la actividad de la neurotrofina y/o la pro-neurotrofina a través de la modulación del transporte de al menos una neurotrofina y/o pro-neurotrofina hacia fuera, hacia dentro o en el interior de células que expresan el receptor de la familia de receptores con dominio Vsp10p, tal como se discute más adelante.

55 En otra realización preferida, el agente es capaz de modular la expresión de un receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p y con ello interferir en la actividad de al menos una neurotrofina. La modulación puede ser bien una inhibición o bien una estimulación de la expresión. Los métodos preferidos para modular la expresión del receptor incluyen, aunque sin restricción:

- (i) Bloquear o inhibir la actividad de los productos de traducción de uno o más genes de receptor con dominio Vps10p y/o uno o más derivados de los mismos, mediante la inhibición la traducción de ARNm o la

activación transcripcional usando ácidos nucleicos antisentido.

- (ii) Desactivar el ARNm mediante ribozimas dirigidas a los ARNms que codifican uno o más genes de receptor con dominio Vps10p y/o uno o más derivados de los mismos.
- 5 (iii) Inhibición de los productos de traducción presentes intracelularmente de los genes de receptor con dominio Vps10p mediante la administración de moléculas que imitan dianas de los productos de traducción de uno o más genes de receptor con dominio Vps10p y/o uno o más derivados de los mismos, compitiendo con ello con sus dianas naturales.
- 10 (iv) Estimular la expresión de uno o más genes de receptor con dominio Vps10p y/o uno o más derivados de los mismos, por ejemplo en una realización preferida, se administra un agente a las células *in vitro* o *in vivo*. Dicho agente puede actuar específicamente o no específicamente. También es posible activar genes responsables de un crecimiento adicional de tejido diferenciado mediante la introducción de uno o más genes de receptor con dominio Vps10p y/o uno o más derivados de los mismos en las respectivas células y tejidos mediante terapia génica. Para este propósito, las respectivas secuencias de ácido nucleico pueden ponerse bajo el control de un promotor más fuerte, que opcionalmente se puede activar y desactivar con la administración de un estímulo a la célula/tejido.
- 15 (v) Estimular la expresión de uno o más genes de receptor con dominio Vps10p y/o uno o más derivados de los mismos mediante la administración directa a la respectiva célula/tejido de un producto de traducción, bien un péptido o bien una proteína, que derive de uno o más genes de receptor con dominio vps10p y/o uno o más derivados de los mismos. Debido al bajo peso molecular de cualquiera de los productos de traducción mencionados, dichos péptidos/proteínas pueden aplicarse fácilmente a la célula, por ejemplo usando sistemas de administración por encapsulación.
- 20

El cambio en el nivel de expresión del receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p puede determinarse usando métodos conocidos por los especialistas en la técnica, que incluyen, aunque sin restricción: sistemas o microsistemas de ADN (Brazma y Vilo, FEBS Lett., 2000, 480, 17-24; Celis, y col., FEBS Lett., 2000, 480, 2-16); SAGE (análisis en serie de expresión génica) (Madden y col., Drug Discov. Today, 2000, 5, 415-425), READS (amplificación de enzimas de restricción de ADNcs digeridos) (Prashar y Weissman, Methods Enzymol., 1999, 303, 258-72), TOGA (análisis de expresión génica total) (Sutcliffe y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2000, 97, 1976-81), sistemas de proteínas y proteómica (Celis y col., FEBS Lett., 2000, 480, 2-16; Jungblut y col., Electrophoresis, 1999, 20, 2100-10), secuenciamiento de etiqueta de secuencia expresada (EST) (Celis y col., FEBS Lett., 2000, 480, 2-16; Larsson y col., J. Biotechnol., 2000, 80, 143-57), huella dactilar de ARN sustractiva (SuRF) (Fuchs y col., Anal. Biochem., 2000, 286, 91-98; Larson y col., Cytometry, 2000, 41, 203-208), clonación sustractiva, pantalla diferencial (DD) (Jurecic y Belmont, Curr. Opin. Microbiol., 2000, 3, 316-21), hibridación genómica comparativa (Carulli y col., J. Cell Biochem. Suppl., 1998, 31, 286-96), técnicas FISH (hibridación fluorescente *in situ*) (Going y Gusterson, Eur. J. Cancer, 1999, 35, 1895-904) y métodos de espectrometría de masas (revisados en To, Comb. Chem. High Throughput Screen, 2000, 3, 235-41).

#### Métodos para tratar una enfermedad o trastorno

Los agentes identificados de acuerdo al método de la presente invención son considerados útiles para la promoción del desarrollo, el mantenimiento o la regeneración de neuronas *in vitro* e *in vivo*, incluyendo neuronas centrales (cerebro y espina dorsal), periféricas (neuronas simpáticas, parasimpáticas, sensoriales y entéricas) y motoras. Por consiguiente, dichos agentes se pueden utilizar en métodos para el tratamiento de una variedad de enfermedades y trastornos neurológicos. En una realización preferida, las formulaciones están destinadas a la administración a un paciente para tratar trastornos neurales. Por "trastornos neurales" se entiende aquí trastornos del sistema nervioso central o periférico que estén asociados a una degeneración o daño neuronal. Los ejemplos específicos de trastornos neurales incluyen, aunque sin limitación, la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la corea de Huntington, la apoplejía, ELA, neuropatías periféricas y otras afecciones que se caracterizan por necrosis o pérdida de neuronas, tanto de neuronas centrales como periféricas o motoras, además de tratar nervios dañados debido a un trauma, disfunción o lesión renal, disfunción o lesión pancreática, disfunción o lesión pulmonar, lesión en tejidos adiposos y efectos tóxicos de agentes quimioterapéuticos usados para tratar un cáncer o el SIDA. Por ejemplo, las neuropatías periféricas asociadas a determinadas afecciones, tales como las neuropatías asociadas a la diabetes, el SIDA o la quimioterapia pueden tratarse usando las formulaciones de la presente invención.

Por ejemplo, los agentes identificados de acuerdo al método de la invención se pueden usar para promocionar la supervivencia o el crecimiento de neuronas motoras que estén dañadas por un trauma o una cirugía. Asimismo, dichos agentes pueden usarse para tratar trastornos motoneuronales, tales como la esclerosis lateral amiotrófica (enfermedad de Lou Gehrig), la parálisis de Bell y diversas afecciones que incluyen atrofia o parálisis muscular espinal. Dichos agentes también pueden usarse para tratar trastornos neurodegenerativos humanos, tales como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la epilepsia, la esclerosis múltiple, la corea de Huntington, el síndrome de Down, la sordera nerviosa y la enfermedad de Meniere. Dichos agentes pueden usarse como potenciadores cognitivos, para potenciar el aprendizaje particularmente en demencias o traumas. La enfermedad de Alzheimer, que ha sido identificada por el National Institute of Aging como responsable de más del 50% de las

demencias en personas mayores, también es la cuarta o quinta causa de muerte en estadounidenses por encima de los 65 años de edad. Cuatro millones de estadounidense, el 40% de los estadounidenses por encima de 85 años de edad (el segmento de mayor crecimiento en la población de EE.UU.), padece la enfermedad de Alzheimer. El veinticinco por ciento de todos los pacientes con enfermedad de Parkinson también padecen una demencia de tipo enfermedad de Alzheimer. Y en aproximadamente el 15% de los pacientes con demencia, la enfermedad de Alzheimer y la demencia multi-infarto coexisten. La tercera causa más común de demencia, tras la enfermedad de Alzheimer y la demencia vascular, es la pérdida cognitiva debida a una enfermedad cerebral orgánica relacionada directamente con el alcoholismo, que se da en aproximadamente el 10% de los alcohólicos. Sin embargo, la anomalía más consistente para la enfermedad de Alzheimer, así como para la demencia vascular y la pérdida cognitiva debida a enfermedad cerebral orgánica relacionada con el alcoholismo, es la degeneración del sistema colinérgico procedente del cerebro anterior basal (BF, del inglés "basal forebrain") y dirigida al códex y al hipocampo (Bigl y col. en *Brain Cholinergic Systems*, M. Steriade y D. Biesold, eds., Oxford University Press, Oxford, pág. 364-386 (1990)). Y existe una serie de otros sistemas neurotransmisores afectados por la enfermedad de Alzheimer (Davies *Med. Res. Rev.* 3: 221 (1983)). Sin embargo, la pérdida cognitiva, relacionada por ejemplo con la degeneración del sistema neurotransmisor colinérgico, no está limitada a individuos que padecen demencia. También se ha observado en adultos por lo demás sanos y en ratas. Los estudios que comparan el grado de pérdida de capacidad de aprendizaje con el grado de reducción del flujo sanguíneo cerebral cortical en ratas maduras demuestran una buena correlación (Berman y col. *Neurobiol. Aging* 9: 691 (1988)). En el alcoholismo crónico la enfermedad cerebral orgánica resultante, como la enfermedad de Alzheimer o el envejecimiento normal, también se caracteriza por reducciones difusas del flujo sanguíneo cerebral cortical en aquellas regiones del cerebro en las que surgen las neuronas colinérgicas (cerebro anterior basal) y en las que se proyectan (córtex cerebral) (Lofti y col., *Cerebrovasc. and Brain Metab. Rev* 1: 2 (1989)).

"Neuropatía periférica" se refiere a un trastorno que afecta al sistema nervioso periférico, que se manifiesta a menudo como una combinación de disfunciones neurales motoras, sensoriales, sensorimotoras o autónomas. La amplia variedad de morfologías exhibidas por las neuropatías periféricas pueden atribuirse cada una de forma inequívoca a un igualmente amplio número de causas. Por ejemplo, las neuropatías periféricas pueden adquirirse genéticamente, pueden resultar de una enfermedad sistémica o pueden estar inducidas por un agente tóxico. Los ejemplos incluyen, aunque sin limitación, neuropatía periférica diabética, neuropatía sensorimotora distal o neuropatías autónomas tales como movilidad reducida del tracto gastrointestinal o atonía de la vejiga urinaria. Los ejemplos de neuropatías asociadas a enfermedades sistémicas incluyen el síndrome post-polio o la neuropatía asociada a SIDA; los ejemplos de neuropatías hereditarias incluyen la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth, la enfermedad de Refsum, la abetalipoproteinemia, la enfermedad de Tangier, la enfermedad de Krabbe, la leucodistrofia metacrómica, el síndrome de Down, la enfermedad de Fabry y el síndrome de Dejerine-Sottas; y los ejemplos de neuropatías causadas por un agente tóxico incluyen aquellas causadas por el tratamiento con un agente quimioterapéutico tal como vincristina, cisplatino, metotrexato o 3'-azido-3'-desoxitimidina. Otras enfermedades neurales que podrían beneficiarse del tratamiento con uno o más agentes identificados de acuerdo al método de la presente invención incluyen la depresión y la manía.

*Métodos para determinar un compuesto que altera la unión de al menos una neurotrofina y/o una pro-neurotrofina a un receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p*

La presente invención comprende un método *in vitro* para escrutar un compuesto que altere la unión de al menos una neurotrofina y/o pro-neurotrofina a un receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p, comprendiendo dicho método de forma preferible las etapas de:

- a) proporcionar un ensayo para medir la unión de una neurotrofina y/o una pro-neurotrofina a un receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p,
- b) añadir el compuesto que va a ser evaluado al ensayo, y
- c) determinar la cantidad de una neurotrofina y/o una pro-neurotrofina ligada al receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p, y
- d) comparar la cantidad determinada en la etapa c) con la cantidad medida en ausencia del compuesto que está siendo evaluado,
- e) en donde una diferencia en las dos cantidades identifica un compuesto que altera la unión de neurotrofinas y/o pro-neurotrofinas al receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p.

En una realización preferida de este método de escrutinio de la presente invención, la neurotrofina se selecciona entre NGF, BDNF, NT-3 o NT-4/5. Incluso más preferiblemente, la neurotrofina es NGF o BDNF. La pro-neurotrofina puede seleccionarse entre pro-NGF, pro-BDNF, pro-NT-3 o pro-NT-4/5. Más preferiblemente, la pro-neurotrofina es pro-NGF o pro-BDNF. En una realización preferida de este método de escrutinio, el receptor se selecciona entre SorLa, Sortilina, SorCS1, SorCS3 o SorCS2. Incluso más preferiblemente, el receptor es sortilina. En otra realización del método de escrutinio de la presente invención, la neurotrofina y/o pro-neurotrofina es capaz de unirse a una parte extracelular del receptor. En una realización de la presente invención, el receptor puede ser un receptor

- 5 expresado en una célula, dentro de la membrana plasmática y/o presente sobre una membrana plasmática. La célula usada en el método de escrutinio de la presente invención puede ser seleccionada de forma preferible a partir de cultivos primarios de células neuronales, de líneas celulares derivadas de neuronas, de células transfectadas capaces de expresar receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p, de neuronas periféricas y de neuronas centrales. Preferiblemente, las células son líneas celulares inmortalizadas.
- 10 Los ensayos que pueden usarse para medir la unión de una neurotrofina y/o una pro-neurotrofina a un receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p son bien conocidos por los especialistas en la técnica e incluyen, aunque sin restricción, ensayos de dos híbridos de levadura, métodos de unión competitiva, tales como RIAs, ELISAs, y otros similares. Otros ensayos son la transferencia de energía de resonancia de fluorescencia (FRET), la resonancia de plasmón superficial (Biacore), los ensayos de transferencia Western, la inmunohistoquímica. Los resultados de los estudios de unión pueden analizarse usando cualquier representación gráfica convencional de los datos de unión, tal como el análisis de Scatchard (Scatchard, Ann. NY Acad. Sci., 51: 660-672 [1949]; Goodwin y col., Cell, 73: 447-456 [1993]), y otros similares.
- 15 *Un método para determinar el efecto de un agente sobre la actividad de neurotrofinas y/o pro-neurotrofinas en células que presentan un receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p*
- Se proporciona un método para determinar el efecto de un agente sobre la actividad de neurotrofinas y/o pro-neurotrofinas en células que presentan un receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p. Dicho método comprende las etapas de:
- 20 a) administrar dicho agente a un mamífero que expresa el receptor,
- b) medir la actividad de neurotrofinas y/o pro-neurotrofinas en dicho mamífero,
- c) comparar la medida de la etapa b) con una medida obtenida en ausencia del compuesto que está siendo evaluado,
- d) en donde la diferencia entre las dos medidas identifica el efecto de dicho agente sobre la actividad de neurotrofinas sobre células que presentan receptores de la familia de receptores con dominio Vps10.
- 25 El mamífero puede expresar el receptor de forma natural o puede estar transfectado con el gen natural del receptor.
- La actividad de dicha neurotrofina y/o pro-neurotrofinas en dicho mamífero pueden medirse mediante uno o más de las siguientes medidas:
- 30 a) medir el nivel de expresión de un gen diana de respuesta a neurotrofina, tal como ARNm o proteína en tejidos del mamífero,
- b) medir el nivel de expresión de un receptor tal como se ha definido en la presente memoria, como ARNm o proteína en tejidos del mamífero,
- c) medir la unión o el transporte mediados por el receptor de neurotrofinas y/o pro-neurotrofinas ligadas al receptor,
- d) medir la captación de neurotrofinas y/o pro-neurotrofinas al interior de células de dicho mamífero,
- 35 e) medir la transducción de señal de dicho receptor o de un receptor relacionado en células de dicho mamífero.
- El receptor relacionado puede ser el receptor p75 o el receptor TrkA.
- 40 En una realización preferida de dicho método, el método además comprende la administración de dicho agente a un mamífero que carezca de la expresión de dicho receptor. Dicho mamífero que carece de expresión de dicho receptor puede carecer únicamente de la expresión de dicho receptor en uno o más tejidos seleccionados, y/o puede presentar un nivel reducido de expresión de dicho receptor.
- Los métodos para medir la expresión de ARNm o proteína del receptor en los tejidos del mamífero son bien conocidos por los especialistas en la técnica y se han descrito con anterioridad. Los métodos para medir la unión o el transporte mediados por receptor de neurotrofinas y/o pro-neurotrofinas ligadas al receptor también son conocidos por los especialistas en la técnica: dichos métodos incluyen, aunque sin restricción, el escrutinio de dos híbridos de levadura, el escrutinio de RTM de Biacore, la reticulación UV y la inmunoprecipitación.
- 45 Los métodos para medir la captación de neurotrofinas y/o pro-neurotrofinas en células de un mamífero también son bien conocidos por los especialistas en la técnica: dichos métodos incluyen, aunque sin restricción, un método en el que la captación de neurotrofina/pro-neurotrofina se mide en células que presentan el receptor y en células que no presentan el receptor. La neurotrofina/pro-neurotrofina está preferiblemente marcada, por ejemplo radioactivamente o fluorescentemente.
- 50

*Un método para modular el transporte de al menos una neurotrofina y/o pro-neurotrofina en o hacia el interior de una neurona de un animal*

5 En otra realización descrita en la presente memoria, se proporciona un método para modular el transporte de al menos una neurotrofina y/o pro-neurotrofina fuera de, o hacia el interior de una línea celular o neurona de un animal, comprendiendo dicho método la administración a dicho animal de una cantidad suficiente de un agente capaz de unirse a un receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p. Dicha modulación puede comprender un aumento del transporte anterógrado de la neurotrofina y/o pro-neurotrofina en la neurona. La modulación puede comprender de forma alternativa un descenso del transporte anterógrado de la neurotrofina y/o la pro-neurotrofina en la neurona. En otra realización preferida, la modulación comprende un aumento del transporte retrógrado de la neurotrofina y/o pro-neurotrofina en la neurona. En otra realización preferida, la modulación comprende un descenso del transporte retrógrado de la neurotrofina y/o pro-neurotrofina en la neurona. La modulación puede llevarse a cabo mediante el agente discutido en la presente memoria.

*Receptor soluble*

15 En otro aspecto adicional, la especificación se refiere a un receptor soluble de la familia de receptores con dominio Vps10p o un fragmento o una variante del mismo, siendo dicho fragmento o variante capaz de unirse a dicha neurotrofina. En particular, el receptor soluble es un receptor de sortilina soluble, o un fragmento o una variante del mismo. Además, la invención se refiere al uso del receptor soluble. Por ejemplo, el receptor soluble puede usarse para modular la actividad de neurotrofinas y/o pro-neurotrofinas, usadas para modular la actividad de otros receptores tales como p75 y TrkA. En otra realización, el receptor soluble puede usarse para propósitos diagnósticos en relación a las neurotrofinas y pro-neurotrofinas, en particular en relación a NGF y pro-NGF.

20 Además de lo anterior, la especificación se refiere a la expresión de un receptor como el definido en la presente memoria, así como al aislamiento y purificación del mismo, llevándose a cabo dichos métodos mediante métodos estandarizados.

25 Adicionalmente, la especificación se refiere a una composición farmacéutica que comprende un receptor soluble de la familia de receptores con dominio Vps10p o un fragmento o una variante del mismo.

## **Ejemplos**

### Unión a los receptores

30 Todos los datos proporcionados en las Figuras 2-7 se han obtenido mediante medidas de resonancia de plasmón superficial (análisis BIAcore).

**LISTA DE SECUENCIAS**

**SEC ID Nº 1: Secuencia de sortilina**

5 >sp|Q99523|SORT\_HUMAN Precursor de sortilina (Glucoproteína 95) (Gp95) (Receptor 3 de neurotensina) (NT3) (100 kDa receptor NT) Homo sapiens (Humano)

MERPWGAADGLSRWPHGLGLLLLLQLLEPSTLSQDRLDAPPPAAPLPRWSGPIGVSWGL 60  
RAAAAGGAFPRGGRWRRSAPGEDEECGRVRDFVAKLANNTHQHVFDLDRGSVLSLWVGDS 120  
 TGVILVLTTFHVPLVIMTFGQSKLYRSEDYGNKFKDITDLINNTFIRTEFGMAIGPENSG 180  
 KVVLTAEVSGGSRGGRIFRSSDFAKNFVQTDLPFHPLTQMMYSPQNSDYLLALSTENGLW 240  
 VSKNFGGKWEIHKAVCLAKWGSNTIFFTTYANGSCKADLGALELWRSDLGKSFKTIG 300  
 VKIYSFGLGGRFLFASVMADKDTTRRIHVSTDQGDWMAQLPSVQEQFYSLAANDDM 360  
 VFMHVDEPGDTGFGTIFTSDDRGIVYSKSLDRHLYTTTGGETDFTNVTSLRGVYITSVLS 420  
 EDNSIQMTITFDQGRWTHLRKPENSECDATAKNKNECSLHIHASYSISQKLVNPMAPLS 480  
 EPNAVGVIAHGSVGDASVMVPDVIISDDGGYSWTKMLEGPHYTYILDSSGGIIVAI EHS 540  
 SRPINVIKFSTDEGQCWQTYTFTRDPIYFTGLASEPGARSMNISIWGFTESFLTSQWVSY 600  
 TIDFKDILERNCEEKDYTIWLAHSTDPEDYEDGCILGYKEQFLRLRKSSMCQNGRDYVVT 660  
 KQPSICLCSLEDFLCDFGYRPNDSKCVQPELKGHDLEFCLYGREEHLTNGYRKIPG 720  
 DKCQGGVNPVREVKDLKKKCTSNFLSPEKQNSKSNVPIILAIIVGLMLVTVVAGVLIVKK 780  
 YVCGGRFLVHRYSVLQQHAEANGVDGVDALDTASHTNKSGYHDDSDEDLLE

10 **SEC ID Nº 2: Secuencia de SorLA**

>sp|Q92673|SORL\_HUMAN Precursor del receptor relacionado con sortilina (Receptor relacionado con la proteína sortilina que contiene repeticiones de LDLR de clase A) (SorLA) (SorLA-1) (Receptor de lipoproteína de baja densidad relacionado con 11 repeticiones de uniones a ligandos) (LDLR relacionado con 11 uniones a ligandos)

MATRSSRRESRLPFLFTLVALLPPGALCEVWTQRLHGGSAPLPQDRGFLVVQGDPRELRL  
WARGDARGASRADEKPLRRKRSAAALQPEPIKVYGVVSLNDSHNQMVVHWAGEKSNVIVAL  
 ARDSLALARPKSSDVVYSYDYGKSFKKISDKLNFGLGNRSEAVIAQFYHSPADNKRYIFA  
 DAYAQYLWITDFCNTLQGFSPFRAADLLLHASKASNLLGFD RSHPNKQLWKSDDFGQT  
 WIMIQQHVKSFSWGI DPYDKPNTIYIERHEPSGYSTVFRSTDFQSRNQEVILEEVRDF  
 QLRDKYMFATKVVHLLGSEQQSSVQLWVSFGRKPMRAAQFVTRHPINEYYIADASEDQVF  
 VCVSHSNRNTNLYISEAEGLKFSLSLENVLYYSPGGAGSDTLVRYFANEPFADFHRVEGL  
 QGVYIATLINGSMNEENMRSVITFDKGGTWEFLQAPAFGTGYGEKINCELSQGCSLHLAQR  
 LSQLLNLQLRRMPILSKESAPGLI IATGSVGKNLASKTNVYISSAGARWREALPGPHY  
 TWGDHGGIITAI AQMETNELKYSTNEGETWKTFFISEKPVFVYGLLTPGEKSTVFTIF  
 GSNKENVHSLILQVNATDALGVPCCTENDYKLWSPSDE RGNELLGHKTVFKRRTPHATC  
 FNGEDFDRPVVVSNCSTREDEYECDFGFKMSEDLSEVCVPDEPFSGKSYSPVPCPVGS  
 TYRRTRGYRKISGDTCSGGDVEARLEGE LVPCLAEENEFILYAVRKSIRYD LASGATE  
 QLPLTGLRAAVALDFYEHNC LYWSDLALDVIQRCLNGSTGQEVINSGL ETVEALAFE  
 PLSQLLYVVDAGFKKIEVANPDGDFRLTIVNSSVLD RPRALVLPQEGVMFWTDWGD LKP  
 GIYRSNM DGSAAYHLVSE DVKWPNGISVDDQWIYWT DAYLECIERITFSGQQRSVILDNL  
 PHPYAI AVFKNEIYWD DWSQLSIFRASKYSGSQMEILANQLTGLMDMKIF YKGNKTSNA  
 CVPRPCSLCLPKANNRSRSCRCPE DVSSSVLPSGDLMCDCPQGYQLKNNTCVKEENTCLR  
 NQYRCSNGNCINSIWWCDFDND CGDMSDERNCPTTICDLDTQFR CQESGTCIPLSYKCDL  
 EDDCGDNSDESHCEMHQCRSDEYNCSSGMCIRSSWVCDGDNDCRDWSEANCTAIYHTCE  
 ASNFQCRNGHCI PQRWACDGD TDCQDGSDEDPVNCEK KNGFRCPNGTCIPSSKHCDGLR  
 DCSDGSD EQHCEPLCTHFMD FVCKNRQOCLFHS MVCDGI IQCRDGSDEDAAFAGCSQDPE

15

FHKVCDEFGFQCQNGVCISLIWKCDGMDDCGDYSDEANCENPTEAPNCSRYFQFRCENGH  
 CIPNRWKCDRENDCCGDSWSEKDCGDSHILPFSTPGPSTCLPNYYRCSSTGTCVMDTWVCDG  
 YRDCADGSDEEACPLLANVTAASTPTQLGRCDRFEFECHQPKTCIPNWKRCDBGHQDCQDG  
 RDEANCPHSTLTCMSREFQCEDGEACIVLSERCDFLDCSDESDEKACSELTVYKVQN  
 LQWTADFSGDVTLTWMRPKKMPASASCVYVYRVVGESIWKTLETHSNKTNVTKVLPD  
 TTYQVKVQVQCLSKAHTNDFVTLRTPGLPDAPRNLQLSLPREAEGVIVGHWAPPITH  
 GLIREYIVEYSRSGSKMWASQRAASNFTIKNLLVNTLYTVRVAAVTSRGIGNWSDSKSI  
 TTIKGKVIPPPDIHIDSYGENYLSFTLTMESDIKVNKYVNLFWAFDTHKQERRTLNFRG  
 SILSHKVGNLTAHTSYEISAWAKTDLGDSPLAFEHVMTRGVRPPAPSLKAKAINQTAVEC  
 TWTGPRNVVYGI FYATSFLDLYRNPKSLTSLHNKTVIVSKDEQYFLVLRVVVYPYQGPSS  
 DYVVVKMIPDSRPLPRHLHVHTGKTSVVIKWESEPYDSDPDQLLYAIAVKDLIRKTDRSY  
 KVKSRNSTVEYTLNKLEPGGKYHIVQLGNMSKDSSIKITTVSLSAPDALKIITENDHVL  
 LFWKSLALKEKHFNESRGEIHMFD SAMNITAYLGNTDNFFKI SNLKMGNHNYTFTVQAR  
 CLFGNQICGEPAILLYDELGSGADASATQAARSTDVAAVVPIFLILLSLGVGFALY  
 KHRRLQSSFTAFANSHYSSRLGSAIFSSGDDLGEDDEDAPMITGFSDDVPMVIA

**SEC ID Nº 3: Secuencia de SorCS1**

5 >tr|Q8WY21| Receptor SorCS con dominio VPS10-Homo sapiens (Humano)

MGKVGAGGGGQARLSALLAGAGLLILCAPGVCGGGGCCPSPHPSSAPRSAST-  
 PRGFHQG RPGRAPATPLPLVVRPLFVAPGDRALSLEARGTGASMAVAARS-  
**GRRRR**SGADQEKAER GEGASRSPRGVLRDGGQEPGTRERDPDKATFR-  
 MEELRLTSTTFALTGDSAHNQAMVHW SGHNSSVILITKLY-  
 DYNLGSITESSLWRSTDYGTTEKLNKDKVGLKILGYLYVCPTNK RKIMLLDPEI-  
 ESSLLISSDEGATYQKYRLNFYIQSLLFHPKQEDWILAYSQDQKLYSSA  
 EFGRRWQLIQEGVVPNRFYWSVMGSKNEPDLVHLEARTVDGHSHYLCRM-  
 QNCTEANRNQ PFGYIDPDSLIVQDHYVQVLTSGGRPHYVVSYRRNAFAQMK-  
 LPKYALPKDMHVISTDE NQVFAAVQEWNQNDTYNLYISDTRGVYFTLALEN-  
 VQSSRGPEGNIMIDLYEVAGIKGMFL ANK-  
 KIDYQVKTFITYNKGRDWRLLQAPDIDLGRDPVHCLLPYCSLHLHLKVSENPYTSGI  
 IASKDTAPSIIVASGNIGSELSDTDISMFVSSDAGNTWRQIFEEHSLVLYLDQGGVL-  
 VAM KHTSLPIRHLWLSFDEGRSWSKYSFTSIPLFVDGVLGEPGEETLIMTVFGHF-  
 SHRSEWQL VKVDYKSIFDRRCAEEDYRPWQLHSQGEACIMGAKRIYKKRK-  
 SERKCMQGYAGAMESEP CVCTEADFDYGYERHSNGQCLPAFWFNPSL-  
 SKDCSLGQSYLNSTGYRKVVSNNCTDG VREQYAKPQKCPGKAPRGLRIV-  
 TADGKLTAEQGHNVTLMVQLEEGDVQRTLIQVDFGDG  
 IAVSYVNLSSMEDGIKHVYQNVGIFRVTQVDNSLGSDSAVLYLHVTCPLHVHL-  
 SLPFV TTKNKEVNATAVLWPSQVGLTYVWWYGNTEPLITLEGSISFRFTSEG-  
 MNTITVQVSAG NAILQDTKIAVYEEFRSLRSLFSPNLDDYNPDIPWRRDIGR-  
 VIKKSLVEATGVPGQHI LVAVLPGLPTTAELFVLPYQDPAGENKRSTDDLEQISEL-  
 LIHTLNQNSVHFELKPGVRVL VHAAHL-  
 TAAPLVDLTPHSGSAMLMLLSVVFGVGLAVFVIYKFKRRVALPSPSPSTQPGD  
 SSLRLQRRARHATPPSTPKRGSAGAQAIAI

**SEC ID Nº 4: Secuencia de SorCS3**

10 Ab028982 Sortilina 3 humana

Referencia de EMBO 20. nº 9 pág. 2180-2190, 2001: descripción de mRNA para receptores cerebrales de la familia Vps10p

MEARTEPAGRPGAPLVRTGLLLLSTWVLGAEITWDATGGPG RPAAPASRPPALSPLSPRAVASQWPEELASARRAAVLGRRAGPELLPQQGGGRG-GEMQ VEAGGTSPAGERRGRGIPAPAKLGGARRSRRRAQPPITQERGDAWA-TAPADGSRGSRPL AKGSREEVKAPRAGGSAEDLRPSTSFALTGDSAHNQAM-VHWSGHNSSVILITKLY DFNLGSVTESSLWRSTDYGTTYEKLNDKVGLKTVL-SYLYVNPTNKRKIMLLSDPEMES SILISSDEGATYQKYRLTFYIQSLLFHPKQEDW-VLAYSLDQKLYSSMDFGRRWQLMHE RITPNRFYWSVAGLDKEADLVH-MEVRTTDGYAHYLTCRIQECAETTRSGPFARSIDIS SLVVQDEYIFIQVTTSGRASYYVSYRREAFQAQIKLPKYSPLKDMHIISTDENQVFAAV QEWNQNDTYNLY-ISDTRGIYFTLAMENIKSSRGLMGNIIEELYEVAGIKGIFLANKKV DDQVKTY-ITYNKGRDWRLQAPDVLDRGSPVHCLLPFCSLHLHLQSENPYSSGRISS KETAPGLVVATGNIGPELSYTDIGVFISSDGGNTWRQIFDEEYNVWFLDWGGAL-VAMK HTPLPVRHLWVSFDEGHSDWKYGFTSVPLFVDGALVEAGMETHIMTVF-GHFSLRSEWQ LVKVDYKSIFSRHCTKEDYQTWHLNQGEPVCVMGERKIFKKRK-PGAQCALGRDHSGSV VSEPCVCANWDFECDYGYERHGESQCVPAPFWYN-PASPSKDCSLGQSYLNSTGYRRIVS NNCTDGLREKYTA-KAQMCPGKAPRGLHVVTDDGRLVAEQGHNATFIILMEEGDLQRTN IQLDFGDGIAVSYANFSPIEDGIKHVYKSAGIFQVTAYAENNLGSDTAVLFLHVCPV EHVHLRVPFVAIRNKEVNISAVVWPSQLGTLTYFWWFGNSTKPLITLDSSISFT-FLAE GTDTITVQVAAGNALIQDTKEIAVHEYFQSLLSFSPNLDYHNPDIPEWRK-DIGNVIK RALVKVTSVPEDQILIAVFPGLPTSALFILPPKNLTERRKGNEG-DLEQIVETLFNAL NQNLVQFELKPGVQVIVYVTQLTLAPLVDSSAGHSSSAMLMLLSVVFVGLAVFLIYKF KRKIPWINIYAQVQHDKEQEMIGSVSQSENAPKITLSD-FTEPEELLDKELDTRVIGGI ATIANSESTKEIPNCTSV

5 **SEC ID Nº 5: Secuencia de SorCS2**

Ab037750 SorCS2 humano/sortilina 4

10 Referencia de EMBO 20. nº 9 pág. 2180-2190, 2001: descripción de mRNA para receptores cerebrales de la familia Vps10p, relacionado con sortilina y SorLa

LIFHPKEEDKVLAYTKESKLYVSSDLGKKWTLQERVTKDHVFW  
 SVSGVDADPDLVHVEAQDLGGDFRYVTCAIHNCSEKMLTAPFAGPIDHGSLT-  
 VQDDYI FFKATSANQTKYYVSYRRNEFVLMKLPKYALPKDLQIIST-  
 DESQVFAVQEWYQMDTY NLYQSDPRGVRY-  
 ALVLQDVRSSRQAEESVLIDILEVRGVKGVFLANQKIDGKVMTLIT  
 YNKGRDWDYLPPSPMDMNGKPTNCKPPDCHLHLHLRWADNPYVSGTVHTKD-  
 TAPGLIM GAGNLGSQLVEYKEEMYITSDCGHTWRQVFEEHHILYLDHGG-  
 VIVAIKDTSIPLKIL KFSVDEGLTWSTHNFTSTSVFVDGLLSEPGDETLVMTVF-  
 GHISFRSDWELVKVDFRPS FSRQCGEEDYSSWELSNLQGDRCIMGQQRFRK-  
 RKSTSWCIKGRSFTSALTSRVCECR DSDFLCDYG-  
 FERSPSESSTNKCSANFWFNPLSPPDDCALGQTYTSSLGYRKVVSNSVC  
 EGGVDMQSQVQLQCPLTPRGLQVSIQGEAVAVRPGEDVLFVVRQEQQDVL-  
 TKYQV DLGDGFKAMYVNLTLTGEPIRHRYESPGIYRVSVRAENTAGHDEAV-  
 LRVQVNSPLQAL YLEVVPVIGLNQEVNLTAVLLPLNPNLTVFYWWIGHSLQPLL-  
 SLDNSVTTRFSDTGDV RVTVQAACGNSVLQDSRVLRVLDQFQVMPLQFSKEL-  
 DAYNPPTREWRETVGLVTRLL SKETSVPQELLVTVVKPGLPTLAD-  
 LYVLLPPPRTKRSLSSDKRLAAIQQLNAQKI  
 SFLLRGGVRVLVALRDTGTGAEQLGGGGGYWAVVLFVIGLFAAGAFILYKFKRK-

RPG RTVYAQMHNKEQEMTSPVSHSEVDVQGAQGNHSGVLSINSREMH-  
 SYLVS

**SEC ID Nº 6: Secuencia de NGF**

5 >sp|P01138|NGF\_HUMAN Precursor del factor de crecimiento de nervios beta (beta-NGF) – Homo sapiens (Humano). Señal del péptido subrayada, parte del propéptido en negrita y cursiva:

MSMLFYTLITAFLLIGIQAE***EPHSESNVPAGHTIPQVHWTKLQHSLDTALRRARSAPAAAIARVAGQTRNITVDPRLFKRRLRSRVLVSTQPPREAADTQDLDFEVGGAAPFNRTHRSK***  
 RSSSHPIFHRGEFSVCDSSVSVWVGDKTTATDIKGEVMVLGEVNIINNSVFKQYFFETKCR  
 DPNPVDSGCRGIDSKHWNSYCTTHTTFVKALTMGKQAARWFIRIDTACVCLSRKAVRR  
 A

10 **SEC ID Nº 7: Secuencia de BDNF**

>gi|114900|sp|P23560|BDNF\_HUMAN Precursor del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF)

MTILFLTMVISYFGCMKAAPMKEANIRGQGLAYPGVTRTHGTLESVNGPKAGSGLTSLAD-  
***TFEHVIEEL***  
***LDEDQKVRPNEENNKDADLYTSRVMLSSQVPLEPPLLFLLEEYKNYLDAANMSMRVRRHS-***  
 DPARRGELSV  
 CDSISEWVTAADKKTAVDMSGGTVTVLEKVPVSKGQLKQYFYETKCNPMGYTKEGCRGID-  
 KRHWNSQCRT  
 TQSYVRALTMDSKKRIGWRFIRIDTSCVCTLTIKRGR

15 **SEC ID Nº 8: Secuencia de neurotrofina 3**

20 >gi|128581|sp|P20783|NT3\_HUMAN Precursor de neurotrofina 3 (NT-3) (Factor neurotrófico) (HNF) (Factor de crecimiento de nervios 2) (NGF-2)

MSILFYVIFLAYLRGI***QGNMDDQSLPEDSLNSLI IKLIQADILKNKLSKQMDV-***  
***VKENYQSTLPKAEAPR***  
***EPERGGPAKSAFQPIAMDELLRQQRYSRVLVSDSTPLEPPPLYLMEDYVG-***  
***SPVVANRTSRRKRYA***  
 EHKSHRGEYSVCDSESLWVTDKSSAIDIRGHQVTVLGEIKTGNPVGKQYFYETR-  
 CKEARPVKNGCRGIDD  
 KHWNSQCKTSQTYVRALTSNNKLVGWRWIRIDTSCVCALSRKIGRT

**SEC ID Nº 9: Secuencia de neurotrofina 4**

5 >gi|462741|sp|P34130|NT5\_HUMAN Precursor de neurotrofina 5 (NT-5) (Factor neutrófico 5) (Neurotrofina 4) (NT-4) (Factor neutrófico 4)

**MLPLPSCSLPILLFLLLPSVPIESQPPPSTLPPFLAPEWDLSPRVVLSRGAPAGP-  
 PLLFLLEAGAFRES  
 AGAPANRSRRGVSETAPASRRGELAVCDVSGWVTDRTAVDLRGREVEVL-  
 GEVPAAGGSPLRQYFFETR  
 CKADNAEEGGPGAGGGGCRGVDRRHVWSECKAKQSYVRALTADAQGRVGRWIRID-  
 TACVCTLLSRTGRA**

10 **SEC ID Nº 10: Secuencia de neurotensina**

**SEQ ID NO 10: neurotensin sequence**  
 qlyenkprpp yil

15 **SEC ID Nº 11: Secuencia de neuromedina**

**SEQ ID NO 11: neuromedin sequence**  
 ipyil

20 **SEQ ID NO 12: Receptor associated peptide (RAP)**

1 maprrvrsfl rglpallll lflgpwpaas hggkysrekn qpkpspkres geefrmekln  
 61 qlwekaqrh lppvrlaelh adlkiqerde lawkkkldg ldedgekear lirnlnvila  
 121 kygldgkda rqvtsnslg tqedglddpr leklwhkakt sgkfsgeeld klwreflhhk  
 181 ekvheynvll etlsrteeih envispsdls dikgsvihsr htelkekrs inqgldrrr  
 241 vshqgystea efeepvidl wdlaqsantl dkeleafree lkhfeakiek hnhyqkqlei  
 301 aheklrhaes vgdgersrs rekhallegr tkelgytvkk hlqdsgris rarhnel

**SEC ID Nº 13: pro-neurotensina/pro-neuromedina**

25 >gi|2828196|sp|P30990|NEUT\_HUMAN Precursor de neurotensina/neuromedina N [contiene: neuromedina N grande (NmN-125); Neuromedina N (NmN)(NN); Neurotensina (NT); Péptido de cola]

**MMAGMKIQLVCMLLAFSSWSLCS DSEEEMKALEADFLTNMHTSKISKAHVPSWK  
 MTLNVC SLVNNLNS  
 PAEETGEVHEEELVARRKLPTALDGFSL EAMLT IYQLHKICH SRAFQHWELIQEDIL  
 DTGNDKNGKEEVI KRKIPYILKRQLYENKPRR PYILKRDSYYY**

LISTA DE SECUENCIAS

- 5 <110> Aarhus University
- <120> Modulación de la actividad de neurotrofinas
- <130> P70PC00
- 10 <160> 13
- <170> PatentIn versión 3.1
- 15 <210> 1
- <211> 831
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- 20 <400> 1

```

Met Glu Arg Pro Trp Gly Ala Ala Asp Gly Leu Ser Arg Trp Pro His
 1          5          10
Gly Leu Gly Leu Leu Leu Leu Leu Gln Leu Leu Pro Pro Ser Thr Leu
          20          25
Ser Gln Asp Arg Leu Asp Ala Pro Pro Pro Pro Ala Ala Pro Leu Pro
          35          40          45
Arg Trp Ser Gly Pro Ile Gly Val Ser Trp Gly Leu Arg Ala Ala Ala
 50          55          60
Ala Gly Gly Ala Phe Pro Arg Gly Gly Arg Trp Arg Arg Ser Ala Pro
 65          70          75          80
Gly Glu Asp Glu Glu Cys Gly Arg Val Arg Asp Phe Val Ala Lys Leu
          85          90          95
Ala Asn Asn Thr His Gln His Val Phe Asp Asp Leu Arg Gly Ser Val
          100          105
Ser Leu Ser Trp Val Gly Asp Ser Thr Gly Val Ile Leu Val Leu Thr
          115          120          125
    
```

ES 2 380 055 T3

Thr Phe His Val Pro Leu Val Ile Met Thr Phe Gly Gln Ser Lys Leu  
 130 135 140

Tyr Arg Ser Glu Asp Tyr Gly Lys Asn Phe Lys Asp Ile Thr Asp Leu  
 145 150 155 160

Ile Asn Asn Thr Phe Ile Arg Thr Glu Phe Gly Met Ala Ile Gly Pro  
 165 170 175

Glu Asn Ser Gly Lys Val Val Leu Thr Ala Glu Val Ser Gly Gly Ser  
 180 185 190

Arg Gly Gly Arg Ile Phe Arg Ser Ser Asp Phe Ala Lys Asn Phe Val  
 195 200 205

Gln Thr Asp Leu Pro Phe His Pro Leu Thr Gln Met Met Tyr Ser Pro  
 210 215 220

Gln Asn Ser Asp Tyr Leu Leu Ala Leu Ser Thr Glu Asn Gly Leu Trp  
 225 230 235 240

Val Ser Lys Asn Phe Gly Gly Lys Trp Glu Glu Ile His Lys Ala Val  
 245 250 255

Cys Leu Ala Lys Trp Gly Ser Asp Asn Thr Ile Phe Phe Thr Thr Tyr  
 260 265 270

Ala Asn Gly Ser Cys Lys Ala Asp Leu Gly Ala Leu Glu Leu Trp Arg  
 275 280 285

Thr Ser Asp Leu Gly Lys Ser Phe Lys Thr Ile Gly Val Lys Ile Tyr  
 290 295 300

Ser Phe Gly Leu Gly Gly Arg Phe Leu Phe Ala Ser Val Met Ala Asp  
 305 310 315 320

Lys Asp Thr Thr Arg Arg Ile His Val Ser Thr Asp Gln Gly Asp Thr  
 325 330 335

Trp Ser Met Ala Gln Leu Pro Ser Val Gly Gln Glu Gln Phe Tyr Ser  
 340 345 350

Ile Leu Ala Ala Asn Asp Asp Met Val Phe Met His Val Asp Glu Pro  
 355 360 365

Gly Asp Thr Gly Phe Gly Thr Ile Phe Thr Ser Asp Asp Arg Gly Ile  
 370 375 380

Val Tyr Ser Lys Ser Leu Asp Arg His Leu Tyr Thr Thr Thr Gly Gly  
 385 390 395 400

ES 2 380 055 T3

Glu Thr Asp Phe Thr Asn Val Thr Ser Leu Arg Gly Val Tyr Ile Thr  
 405 410 415  
 Ser Val Leu Ser Glu Asp Asn Ser Ile Gln Thr Met Ile Thr Phe Asp  
 420 425 430  
 Gln Gly Gly Arg Trp Thr His Leu Arg Lys Pro Glu Asn Ser Glu Cys  
 435 440 445  
 Asp Ala Thr Ala Lys Asn Lys Asn Glu Cys Ser Leu His Ile His Ala  
 450 455 460  
 Ser Tyr Ser Ile Ser Gln Lys Leu Asn Val Pro Met Ala Pro Leu Ser  
 465 470 475 480  
 Glu Pro Asn Ala Val Gly Ile Val Ile Ala His Gly Ser Val Gly Asp  
 485 490 495  
 Ala Ile Ser Val Met Val Pro Asp Val Tyr Ile Ser Asp Asp Gly Gly  
 500 505 510  
 Tyr Ser Trp Thr Lys Met Leu Glu Gly Pro His Tyr Tyr Thr Ile Leu  
 515 520 525  
 Asp Ser Gly Gly Ile Ile Val Ala Ile Glu His Ser Ser Arg Pro Ile  
 530 535 540  
 Asn Val Ile Lys Phe Ser Thr Asp Glu Gly Gln Cys Trp Gln Thr Tyr  
 545 550 555 560  
 Thr Phe Thr Arg Asp Pro Ile Tyr Phe Thr Gly Leu Ala Ser Glu Pro  
 565 570 575  
 Gly Ala Arg Ser Met Asn Ile Ser Ile Trp Gly Phe Thr Glu Ser Phe  
 580 585 590  
 Leu Thr Ser Gln Trp Val Ser Tyr Thr Ile Asp Phe Lys Asp Ile Leu  
 595 600 605  
 Glu Arg Asn Cys Glu Glu Lys Asp Tyr Thr Ile Trp Leu Ala His Ser  
 610 615 620  
 Thr Asp Pro Glu Asp Tyr Glu Asp Gly Cys Ile Leu Gly Tyr Lys Glu  
 625 630 635 640  
 Gln Phe Leu Arg Leu Arg Lys Ser Ser Met Cys Gln Asn Gly Arg Asp  
 645 650 655  
 Tyr Val Val Thr Lys Gln Pro Ser Ile Cys Leu Cys Ser Leu Glu Asp  
 660 665 670

Phe Leu Cys Asp Phe Gly Tyr Tyr Arg Pro Glu Asn Asp Ser Lys Cys  
 675 680 685

Val Glu Gln Pro Glu Leu Lys Gly His Asp Leu Glu Phe Cys Leu Tyr  
 690 695 700

Gly Arg Glu Glu His Leu Thr Thr Asn Gly Tyr Arg Lys Ile Pro Gly  
 705 710 715 720

Asp Lys Cys Gln Gly Gly Val Asn Pro Val Arg Glu Val Lys Asp Leu  
 725 730 735

Lys Lys Lys Cys Thr Ser Asn Phe Leu Ser Pro Glu Lys Gln Asn Ser  
 740 745 750

Lys Ser Asn Ser Val Pro Ile Ile Leu Ala Ile Val Gly Leu Met Leu  
 755 760 765

Val Thr Val Val Ala Gly Val Leu Ile Val Lys Lys Tyr Val Cys Gly  
 770 775 780

Gly Arg Phe Leu Val His Arg Tyr Ser Val Leu Gln Gln His Ala Glu  
 785 790 795 800

Ala Asn Gly Val Asp Gly Val Asp Ala Leu Asp Thr Ala Ser His Thr  
 805 810 815

Asn Lys Ser Gly Tyr His Asp Asp Ser Asp Glu Asp Leu Leu Glu  
 820 825 830

<210> 2  
 <211> 2214  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5

<400> 2

Met Ala Thr Arg Ser Ser Arg Arg Glu Ser Arg Leu Pro Phe Leu Phe  
 1 5 10 15

Thr Leu Val Ala Leu Leu Pro Pro Gly Ala Leu Cys Glu Val Trp Thr  
 20 25 30

Gln Arg Leu His Gly Gly Ser Ala Pro Leu Pro Gln Asp Arg Gly Phe  
 35 40 45

Leu Val Val Gln Gly Asp Pro Arg Glu Leu Arg Leu Trp Ala Arg Gly  
 50 55 60

10

ES 2 380 055 T3

Asp Ala Arg Gly Ala Ser Arg Ala Asp Glu Lys Pro Leu Arg Arg Lys  
65 70 75 80

Arg Ser Ala Ala Leu Gln Pro Glu Pro Ile Lys Val Tyr Gly Gln Val  
85 90 95

Ser Leu Asn Asp Ser His Asn Gln Met Val Val His Trp Ala Gly Glu  
100 105 110

Lys Ser Asn Val Ile Val Ala Leu Ala Arg Asp Ser Leu Ala Leu Ala  
115 120 125

Arg Pro Lys Ser Ser Asp Val Tyr Val Ser Tyr Asp Tyr Gly Lys Ser  
130 135 140

Phe Lys Lys Ile Ser Asp Lys Leu Asn Phe Gly Leu Gly Asn Arg Ser  
145 150 155 160

Glu Ala Val Ile Ala Gln Phe Tyr His Ser Pro Ala Asp Asn Lys Arg  
165 170 175

Tyr Ile Phe Ala Asp Ala Tyr Ala Gln Tyr Leu Trp Ile Thr Phe Asp  
180 185 190

Phe Cys Asn Thr Leu Gln Gly Phe Ser Ile Pro Phe Arg Ala Ala Asp  
195 200 205

Leu Leu Leu His Ser Lys Ala Ser Asn Leu Leu Leu Gly Phe Asp Arg  
210 215 220

Ser His Pro Asn Lys Gln Leu Trp Lys Ser Asp Asp Phe Gly Gln Thr  
225 230 235 240

Trp Ile Met Ile Gln Glu His Val Lys Ser Phe Ser Trp Gly Ile Asp  
245 250 255

Pro Tyr Asp Lys Pro Asn Thr Ile Tyr Ile Glu Arg His Glu Pro Ser  
260 265 270

Gly Tyr Ser Thr Val Phe Arg Ser Thr Asp Phe Phe Gln Ser Arg Glu  
275 280 285

Asn Gln Glu Val Ile Leu Glu Glu Val Arg Asp Phe Gln Leu Arg Asp  
290 295 300

Lys Tyr Met Phe Ala Thr Lys Val Val His Leu Leu Gly Ser Glu Gln  
305 310 315 320

Gln Ser Ser Val Gln Leu Trp Val Ser Phe Gly Arg Lys Pro Met Arg  
325 330 335

ES 2 380 055 T3

Ala Ala Gln Phe Val Thr Arg His Pro Ile Asn Glu Tyr Tyr Ile Ala  
 340 345 350 355

Asp Ala Ser Glu Asp Gln Val Phe Val Cys Val Ser His Ser Asn Asn  
 355 360 365

Arg Thr Asn Leu Tyr Ile Ser Glu Ala Glu Gly Leu Lys Phe Ser Leu  
 370 375 380

Ser Leu Glu Asn Val Leu Tyr Tyr Ser Pro Gly Gly Ala Gly Ser Asp  
 385 390 395 400

Thr Leu Val Arg Tyr Phe Ala Asn Glu Pro Phe Ala Asp Phe His Arg  
 405 410 415

Val Glu Gly Leu Gln Gly Val Tyr Ile Ala Thr Leu Ile Asn Gly Ser  
 420 425 430 435

Met Asn Glu Glu Asn Met Arg Ser Val Ile Thr Phe Asp Lys Gly Gly  
 435 440 445

Thr Trp Glu Phe Leu Gln Ala Pro Ala Phe Thr Gly Tyr Gly Glu Lys  
 450 455 460

Ile Asn Cys Glu Leu Ser Gln Gly Cys Ser Leu His Leu Ala Gln Arg  
 465 470 475 480

Leu Ser Gln Leu Leu Asn Leu Gln Leu Arg Arg Met Pro Ile Leu Ser  
 485 490 495

Lys Glu Ser Ala Pro Gly Leu Ile Ile Ala Thr Gly Ser Val Gly Lys  
 500 505 510

Asn Leu Ala Ser Lys Thr Asn Val Tyr Ile Ser Ser Ser Ala Gly Ala  
 515 520 525

Arg Trp Arg Glu Ala Leu Pro Gly Pro His Tyr Tyr Thr Trp Gly Asp  
 530 535 540

His Gly Gly Ile Ile Thr Ala Ile Ala Gln Gly Met Glu Thr Asn Glu  
 545 550 555 560

Leu Lys Tyr Ser Thr Asn Glu Gly Glu Thr Trp Lys Thr Phe Ile Phe  
 565 570 575

Ser Glu Lys Pro Val Phe Val Tyr Gly Leu Leu Thr Glu Pro Gly Glu  
 580 585 590

ES 2 380 055 T3

Ser Trp Leu Ile Leu Gln Val Asn Ala Thr Asp Ala Leu Gly Val Pro  
610 615 620

Cys Thr Glu Asn Asp Tyr Lys Leu Trp Ser Pro Ser Asp Glu Arg Gly  
625 630 635 640

Asn Glu Cys Leu Leu Gly His Lys Thr Val Phe Lys Arg Arg Thr Pro  
645 650 655

His Ala Thr Cys Phe Asn Gly Glu Asp Phe Asp Arg Pro Val Val Val  
660 665 670

Ser Asn Cys Ser Cys Thr Arg Glu Asp Tyr Glu Cys Asp Phe Gly Phe  
675 680 685

Lys Met Ser Glu Asp Leu Ser Leu Glu Val Cys Val Pro Asp Pro Glu  
690 695 700

Phe Ser Gly Lys Ser Tyr Ser Pro Pro Val Pro Cys Pro Val Gly Ser  
705 710 715 720

Thr Tyr Arg Arg Thr Arg Gly Tyr Arg Lys Ile Ser Gly Asp Thr Cys  
725 730 735

Ser Gly Gly Asp Val Glu Ala Arg Leu Glu Gly Glu Leu Val Pro Cys  
740 745 750

Pro Leu Ala Glu Glu Asn Glu Phe Ile Leu Tyr Ala Val Arg Lys Ser  
755 760 765

Ile Tyr Arg Tyr Asp Leu Ala Ser Gly Ala Thr Glu Gln Leu Pro Leu  
770 775 780

Thr Gly Leu Arg Ala Ala Val Ala Leu Asp Phe Asp Tyr Glu His Asn  
785 790 795 800

Cys Leu Tyr Trp Ser Asp Leu Ala Leu Asp Val Ile Gln Arg Leu Cys  
805 810 815

Leu Asn Gly Ser Thr Gly Gln Glu Val Ile Ile Asn Ser Gly Leu Glu  
820 825 830

Thr Val Glu Ala Leu Ala Phe Glu Pro Leu Ser Gln Leu Leu Tyr Trp  
835 840 845

Val Asp Ala Gly Phe Lys Lys Ile Glu Val Ala Asn Pro Asp Gly Asp  
850 855 860

Phe Arg Leu Thr Ile Val Asn Ser Ser Val Leu Asp Arg Pro Arg Ala  
865 870 875 880

ES 2 380 055 T3

Leu Val Leu Val Pro Gln Glu Gly Val Met Phe Trp Thr Asp Trp Gly  
 885 890 895  
 Asp Leu Lys Pro Gly Ile Tyr Arg Ser Asn Met Asp Gly Ser Ala Ala  
 900 905 910  
 Tyr His Leu Val Ser Glu Asp Val Lys Trp Pro Asn Gly Ile Ser Val  
 915 920 925  
 Asp Asp Gln Trp Ile Tyr Trp Thr Asp Ala Tyr Leu Glu Cys Ile Glu  
 930 935 940  
 Arg Ile Thr Phe Ser Gly Gln Gln Arg Ser Val Ile Leu Asp Asn Leu  
 945 950 955 960  
 Pro His Pro Tyr Ala Ile Ala Val Phe Lys Asn Glu Ile Tyr Trp Asp  
 965 970 975  
 Asp Trp Ser Gln Leu Ser Ile Phe Arg Ala Ser Lys Tyr Ser Gly Ser  
 980 985 990  
 Gln Met Glu Ile Leu Ala Asn Gln Leu Thr Gly Leu Met Asp Met Lys  
 995 1000 1005  
 Ile Phe Tyr Lys Gly Lys Asn Thr Gly Ser Asn Ala Cys Val Pro  
 1010 1015 1020  
 Arg Pro Cys Ser Leu Leu Cys Leu Pro Lys Ala Asn Asn Ser Arg  
 1025 1030 1035  
 Ser Cys Arg Cys Pro Glu Asp Val Ser Ser Ser Val Leu Pro Ser  
 1040 1045 1050  
 Gly Asp Leu Met Cys Asp Cys Pro Gln Gly Tyr Gln Leu Lys Asn  
 1055 1060 1065  
 Asn Thr Cys Val Lys Glu Glu Asn Thr Cys Leu Arg Asn Gln Tyr  
 1070 1075 1080  
 Arg Cys Ser Asn Gly Asn Cys Ile Asn Ser Ile Trp Trp Cys Asp  
 1085 1090 1095  
 Phe Asp Asn Asp Cys Gly Asp Met Ser Asp Glu Arg Asn Cys Pro  
 1100 1105 1110  
 Thr Thr Ile Cys Asp Leu Asp Thr Gln Phe Arg Cys Gln Glu Ser  
 1115 1120 1125  
 Gly Thr Cys Ile Pro Leu Ser Tyr Lys Cys Asp Leu Glu Asp Asp  
 1130 1135 1140

ES 2 380 055 T3

Cys Gly Asp Asn Ser Asp Glu Ser His Cys Glu Met His Gln Cys  
 1145 1150 1155  
 Arg Ser Asp Glu Tyr Asn Cys Ser Ser Gly Met Cys Ile Arg Ser  
 1160 1165 1170  
 Ser Trp Val Cys Asp Gly Asp Asn Asp Cys Arg Asp Trp Ser Asp  
 1175 1180 1185  
 Glu Ala Asn Cys Thr Ala Ile Tyr His Thr Cys Glu Ala Ser Asn  
 1190 1195 1200  
 Phe Gln Cys Arg Asn Gly His Cys Ile Pro Gln Arg Trp Ala Cys  
 1205 1210 1215  
 Asp Gly Asp Thr Asp Cys Gln Asp Gly Ser Asp Glu Asp Pro Val  
 1220 1225 1230  
 Asn Cys Glu Lys Lys Cys Asn Gly Phe Arg Cys Pro Asn Gly Thr  
 1235 1240 1245  
 Cys Ile Pro Ser Ser Lys His Cys Asp Gly Leu Arg Asp Cys Ser  
 1250 1255 1260  
 Asp Gly Ser Asp Glu Gln His Cys Glu Pro Leu Cys Thr His Phe  
 1265 1270 1275  
 Met Asp Phe Val Cys Lys Asn Arg Gln Gln Cys Leu Phe His Ser  
 1280 1285 1290  
 Met Val Cys Asp Gly Ile Ile Gln Cys Arg Asp Gly Ser Asp Glu  
 1295 1300 1305  
 Asp Ala Ala Phe Ala Gly Cys Ser Gln Asp Pro Glu Phe His Lys  
 1310 1315 1320  
 Val Cys Asp Glu Phe Gly Phe Gln Cys Gln Asn Gly Val Cys Ile  
 1325 1330 1335  
 Ser Leu Ile Trp Lys Cys Asp Gly Met Asp Asp Cys Gly Asp Tyr  
 1340 1345 1350  
 Ser Asp Glu Ala Asn Cys Glu Asn Pro Thr Glu Ala Pro Asn Cys  
 1355 1360 1365  
 Ser Arg Tyr Phe Gln Phe Arg Cys Glu Asn Gly His Cys Ile Pro  
 1370 1375 1380  
 Asn Arg Trp Lys Cys Asp Arg Glu Asn Asp Cys Gly Asp Trp Ser  
 1385 1390 1395

ES 2 380 055 T3

Asp Glu Lys Asp Cys Gly Asp Ser His Ile Leu Pro Phe Ser Thr  
 1400 1405 1410  
 Pro Gly Pro Ser Thr Cys Leu Pro Asn Tyr Tyr Arg Cys Ser Ser  
 1415 1420 1425  
 Gly Thr Cys Val Met Asp Thr Trp Val Cys Asp Gly Tyr Arg Asp  
 1430 1435 1440  
 Cys Ala Asp Gly Ser Asp Glu Glu Ala Cys Pro Leu Leu Ala Asn  
 1445 1450 1455  
 Val Thr Ala Ala Ser Thr Pro Thr Gln Leu Gly Arg Cys Asp Arg  
 1460 1465 1470  
 Phe Glu Phe Glu Cys His Gln Pro Lys Thr Cys Ile Pro Asn Trp  
 1475 1480 1485  
 Lys Arg Cys Asp Gly His Gln Asp Cys Gln Asp Gly Arg Asp Glu  
 1490 1495 1500  
 Ala Asn Cys Pro Thr His Ser Thr Leu Thr Cys Met Ser Arg Glu  
 1505 1510 1515  
 Phe Gln Cys Glu Asp Gly Glu Ala Cys Ile Val Leu Ser Glu Arg  
 1520 1525 1530  
 Cys Asp Gly Phe Leu Asp Cys Ser Asp Glu Ser Asp Glu Lys Ala  
 1535 1540 1545  
 Cys Ser Asp Glu Leu Thr Val Tyr Lys Val Gln Asn Leu Gln Trp  
 1550 1555 1560  
 Thr Ala Asp Phe Ser Gly Asp Val Thr Leu Thr Trp Met Arg Pro  
 1565 1570 1575  
 Lys Lys Met Pro Ser Ala Ser Cys Val Tyr Asn Val Tyr Tyr Arg  
 1580 1585 1590  
 Val Val Gly Glu Ser Ile Trp Lys Thr Leu Glu Thr His Ser Asn  
 1595 1600 1605  
 Lys Thr Asn Thr Val Leu Lys Val Leu Lys Pro Asp Thr Thr Tyr  
 1610 1615 1620  
 Gln Val Lys Val Gln Val Gln Cys Leu Ser Lys Ala His Asn Thr  
 1625 1630 1635  
 Asn Asp Phe Val Thr Leu Arg Thr Pro Glu Gly Leu Pro Asp Ala  
 1640 1645 1650

ES 2 380 055 T3

Pro Arg Asn Leu Gln Leu Ser Leu Pro Arg Glu Ala Glu Gly Val  
 1655 1660 1665

Ile Val Gly His Trp Ala Pro Pro Ile His Thr His Gly Leu Ile  
 1670 1675 1680

Arg Glu Tyr Ile Val Glu Tyr Ser Arg Ser Gly Ser Lys Met Trp  
 1685 1690 1695

Ala Ser Gln Arg Ala Ala Ser Asn Phe Thr Glu Ile Lys Asn Leu  
 1700 1705 1710

Leu Val Asn Thr Leu Tyr Thr Val Arg Val Ala Ala Val Thr Ser  
 1715 1720 1725

Arg Gly Ile Gly Asn Trp Ser Asp Ser Lys Ser Ile Thr Thr Ile  
 1730 1735 1740

Lys Gly Lys Val Ile Pro Pro Pro Asp Ile His Ile Asp Ser Tyr  
 1745 1750 1755

Gly Glu Asn Tyr Leu Ser Phe Thr Leu Thr Met Glu Ser Asp Ile  
 1760 1765 1770

Lys Val Asn Gly Tyr Val Val Asn Leu Phe Trp Ala Phe Asp Thr  
 1775 1780 1785

His Lys Gln Glu Arg Arg Thr Leu Asn Phe Arg Gly Ser Ile Leu  
 1790 1795 1800

Ser His Lys Val Gly Asn Leu Thr Ala His Thr Ser Tyr Glu Ile  
 1805 1810 1815

Ser Ala Trp Ala Lys Thr Asp Leu Gly Asp Ser Pro Leu Ala Phe  
 1820 1825 1830

Glu His Val Met Thr Arg Gly Val Arg Pro Pro Ala Pro Ser Leu  
 1835 1840 1845

Lys Ala Lys Ala Ile Asn Gln Thr Ala Val Glu Cys Thr Trp Thr  
 1850 1855 1860

Gly Pro Arg Asn Val Val Tyr Gly Ile Phe Tyr Ala Thr Ser Phe  
 1865 1870 1875

Leu Asp Leu Tyr Arg Asn Pro Lys Ser Leu Thr Thr Ser Leu His  
 1880 1885 1890

Asn Lys Thr Val Ile Val Ser Lys Asp Glu Gln Tyr Leu Phe Leu  
 1895 1900 1905

ES 2 380 055 T3

Val Arg 1910 Val Val Val Pro Tyr 1915 Gln Gly Pro Ser Ser 1920 Asp Tyr Val  
 Val Val 1925 Lys Met Ile Pro Asp 1930 Ser Arg Leu Pro Pro 1935 Arg His Leu  
 His Val 1940 Val His Thr Gly Lys 1945 Thr Ser Val Val Ile 1950 Lys Trp Glu  
 Ser Pro 1955 Tyr Asp Ser Pro Asp 1960 Gln Asp Leu Leu Tyr 1965 Ala Ile Ala  
 Val Lys 1970 Asp Leu Ile Arg Lys 1975 Thr Asp Arg Ser Tyr 1980 Lys Val Lys  
 Ser Arg 1985 Asn Ser Thr Val Glu 1990 Tyr Thr Leu Asn Lys 1995 Leu Glu Pro  
 Gly Gly 2000 Lys Tyr His Ile Ile 2005 Val Gln Leu Gly Asn 2010 Met Ser Lys  
 Asp Ser 2015 Ser Ile Lys Ile Thr 2020 Thr Val Ser Leu Ser 2025 Ala Pro Asp  
 Ala Leu 2030 Lys Ile Ile Thr Glu 2035 Asn Asp His Val Leu 2040 Leu Phe Trp  
 Lys Ser 2045 Leu Ala Leu Lys Glu 2050 Lys His Phe Asn Glu 2055 Ser Arg Gly  
 Tyr Glu 2060 Ile His Met Phe Asp 2065 Ser Ala Met Asn Ile 2070 Thr Ala Tyr  
 Leu Gly 2075 Asn Thr Thr Asp Asn 2080 Phe Phe Lys Ile Ser 2085 Asn Leu Lys  
 Met Gly 2090 His Asn Tyr Thr Phe 2095 Thr Val Gln Ala Arg 2100 Cys Leu Phe  
 Gly Asn 2105 Gln Ile Cys Gly Glu 2110 Pro Ala Ile Leu Leu 2115 Tyr Asp Glu  
 Leu Gly 2120 Ser Gly Ala Asp Ala 2125 Ser Ala Thr Gln Ala 2130 Ala Arg Ser  
 Thr Asp 2135 Val Ala Ala Val Val 2140 Val Pro Ile Leu Phe 2145 Leu Ile Leu  
 Leu Ser 2150 Leu Gly Val Gly Phe 2155 Ala Ile Leu Tyr Thr 2160 Lys His Arg

Arg Leu Gln Ser Ser Phe Thr Ala Phe Ala Asn Ser His Tyr Ser  
 2165 2170 2175

Ser Arg Leu Gly Ser Ala Ile Phe Ser Ser Gly Asp Asp Leu Gly  
 2180 2185 2190

Glu Asp Asp Glu Asp Ala Pro Met Ile Thr Gly Phe Ser Asp Asp  
 2195 2200 2205

Val Pro Met Val Ile Ala  
 2210

<210> 3  
 <211> 1168  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5

<400> 3

Met Gly Lys Val Gly Ala Gly Gly Gly Ser Gln Ala Arg Leu Ser Ala  
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gly Ala Gly Leu Leu Ile Leu Cys Ala Pro Gly Val Cys  
 20 25 30

Gly Gly Gly Ser Cys Cys Pro Ser Pro His Pro Ser Ser Ala Pro Arg  
 35 40 45

Ser Ala Ser Thr Pro Arg Gly Phe Ser His Gln Gly Arg Pro Gly Arg  
 50 55 60

Ala Pro Ala Thr Pro Leu Pro Leu Val Val Arg Pro Leu Phe Ser Val  
 65 70 75 80

Ala Pro Gly Asp Arg Ala Leu Ser Leu Glu Arg Ala Arg Gly Thr Gly  
 85 90 95

Ala Ser Met Ala Val Ala Ala Arg Ser Gly Arg Arg Arg Arg Ser Gly  
 100 105 110

Ala Asp Gln Glu Lys Ala Glu Arg Gly Glu Gly Ala Ser Arg Ser Pro  
 115 120 125

Arg Gly Val Leu Arg Asp Gly Gly Gln Gln Glu Pro Gly Thr Arg Glu  
 130 135 140

Arg Asp Pro Asp Lys Ala Thr Arg Phe Arg Met Glu Glu Leu Arg Leu  
 145 150 155 160

10

ES 2 380 055 T3

Thr Ser Thr Thr Phe Ala Leu Thr Gly Asp Ser Ala His Asn Gln Ala  
 165 170 175  
 Met Val His Trp Ser Gly His Asn Ser Ser Val Ile Leu Ile Leu Thr  
 180 185 190  
 Lys Leu Tyr Asp Tyr Asn Leu Gly Ser Ile Thr Glu Ser Ser Leu Trp  
 195 200 205  
 Arg Ser Thr Asp Tyr Gly Thr Thr Tyr Glu Lys Leu Asn Asp Lys Val  
 210 215 220  
 Gly Leu Lys Thr Ile Leu Gly Tyr Leu Tyr Val Cys Pro Thr Asn Lys  
 225 230 235 240  
 Arg Lys Ile Met Leu Leu Thr Asp Pro Glu Ile Glu Ser Ser Leu Leu  
 245 250 255  
 Ile Ser Ser Asp Glu Gly Ala Thr Tyr Gln Lys Tyr Arg Leu Asn Phe  
 260 265 270  
 Tyr Ile Gln Ser Leu Leu Phe His Pro Lys Gln Glu Asp Trp Ile Leu  
 275 280 285  
 Ala Tyr Ser Gln Asp Gln Lys Leu Tyr Ser Ser Ala Glu Phe Gly Arg  
 290 295 300  
 Arg Trp Gln Leu Ile Gln Glu Gly Val Val Pro Asn Arg Phe Tyr Trp  
 305 310 315 320  
 Ser Val Met Gly Ser Asn Lys Glu Pro Asp Leu Val His Leu Glu Ala  
 325 330 335  
 Arg Thr Val Asp Gly His Ser His Tyr Leu Thr Cys Arg Met Gln Asn  
 340 345 350  
 Cys Thr Glu Ala Asn Arg Asn Gln Pro Phe Pro Gly Tyr Ile Asp Pro  
 355 360 365  
 Asp Ser Leu Ile Val Gln Asp His Tyr Val Phe Val Gln Leu Thr Ser  
 370 375 380  
 Gly Gly Arg Pro His Tyr Tyr Val Ser Tyr Arg Arg Asn Ala Phe Ala  
 385 390 395 400  
 Gln Met Lys Leu Pro Lys Tyr Ala Leu Pro Lys Asp Met His Val Ile  
 405 410 415  
 Ser Thr Asp Glu Asn Gln Val Phe Ala Ala Val Gln Glu Trp Asn Gln  
 420 425 430

ES 2 380 055 T3

Asn Asp Thr Tyr Asn Leu Tyr Ile Ser Asp Thr Arg Gly Val Tyr Phe  
 435 440 445  
 Thr Leu Ala Leu Glu Asn Val Gln Ser Ser Arg Gly Pro Glu Gly Asn  
 450 455 460  
 Ile Met Ile Asp Leu Tyr Glu Val Ala Gly Ile Lys Gly Met Phe Leu  
 465 470 475 480  
 Ala Asn Lys Lys Ile Asp Tyr Gln Val Lys Thr Phe Ile Thr Tyr Asn  
 485 490 495  
 Lys Gly Arg Asp Trp Arg Leu Leu Gln Ala Pro Asp Thr Asp Leu Arg  
 500 505 510  
 Gly Asp Pro Val His Cys Leu Leu Pro Tyr Cys Ser Leu His Leu His  
 515 520 525  
 Leu Lys Val Ser Glu Asn Pro Tyr Thr Ser Gly Ile Ile Ala Ser Lys  
 530 535 540  
 Asp Thr Ala Pro Ser Ile Ile Val Ala Ser Gly Asn Ile Gly Ser Glu  
 545 550 555 560  
 Leu Ser Asp Thr Asp Ile Ser Met Phe Val Ser Ser Asp Ala Gly Asn  
 565 570 575  
 Thr Trp Arg Gln Ile Phe Glu Glu Glu His Ser Val Leu Tyr Leu Asp  
 580 585 590  
 Gln Gly Gly Val Leu Val Ala Met Lys His Thr Ser Leu Pro Ile Arg  
 595 600 605  
 His Leu Trp Leu Ser Phe Asp Glu Gly Arg Ser Trp Ser Lys Tyr Ser  
 610 615 620  
 Phe Thr Ser Ile Pro Leu Phe Val Asp Gly Val Leu Gly Glu Pro Gly  
 625 630 635 640  
 Glu Glu Thr Leu Ile Met Thr Val Phe Gly His Phe Ser His Arg Ser  
 645 650 655  
 Glu Trp Gln Leu Val Lys Val Asp Tyr Lys Ser Ile Phe Asp Arg Arg  
 660 665 670  
 Cys Ala Glu Glu Asp Tyr Arg Pro Trp Gln Leu His Ser Gln Gly Glu  
 675 680 685  
 Ala Cys Ile Met Gly Ala Lys Arg Ile Tyr Lys Lys Arg Lys Ser Glu  
 690 695 700

ES 2 380 055 T3

Arg Lys Cys Met Gln Gly Lys Tyr Ala Gly Ala Met Glu Ser Glu Pro  
 705 710 715 720  
 Cys Val Cys Thr Glu Ala Asp Phe Asp Cys Asp Tyr Gly Tyr Glu Arg  
 725 730 735  
 His Ser Asn Gly Gln Cys Leu Pro Ala Phe Trp Phe Asn Pro Ser Ser  
 740 745 750  
 Leu Ser Lys Asp Cys Ser Leu Gly Gln Ser Tyr Leu Asn Ser Thr Gly  
 755 760 765  
 Tyr Arg Lys Val Val Ser Asn Asn Cys Thr Asp Gly Val Arg Glu Gln  
 770 775 780  
 Tyr Thr Ala Lys Pro Gln Lys Cys Pro Gly Lys Ala Pro Arg Gly Leu  
 785 790 795 800  
 Arg Ile Val Thr Ala Asp Gly Lys Leu Thr Ala Glu Gln Gly His Asn  
 805 810 815  
 Val Thr Leu Met Val Gln Leu Glu Glu Gly Asp Val Gln Arg Thr Leu  
 820 825 830  
 Ile Gln Val Asp Phe Gly Asp Gly Ile Ala Val Ser Tyr Val Asn Leu  
 835 840 845  
 Ser Ser Met Glu Asp Gly Ile Lys His Val Tyr Gln Asn Val Gly Ile  
 850 855 860  
 Phe Arg Val Thr Val Gln Val Asp Asn Ser Leu Gly Ser Asp Ser Ala  
 865 870 875 880  
 Val Leu Tyr Leu His Val Thr Cys Pro Leu Glu His Val His Leu Ser  
 885 890 895  
 Leu Pro Phe Val Thr Thr Lys Asn Lys Glu Val Asn Ala Thr Ala Val  
 900 905 910  
 Leu Trp Pro Ser Gln Val Gly Thr Leu Thr Tyr Val Trp Trp Tyr Gly  
 915 920 925  
 Asn Asn Thr Glu Pro Leu Ile Thr Leu Glu Gly Ser Ile Ser Phe Arg  
 930 935 940  
 Phe Thr Ser Glu Gly Met Asn Thr Ile Thr Val Gln Val Ser Ala Gly  
 945 950 955 960  
 Asn Ala Ile Leu Gln Asp Thr Lys Thr Ile Ala Val Tyr Glu Glu Phe  
 965 970 975

ES 2 380 055 T3

Arg Ser Leu Arg Leu Ser Phe Ser Pro Asn Leu Asp Asp Tyr Asn Pro  
 980 985 990

Asp Ile Pro Glu Trp Arg Arg Asp Ile Gly Arg Val Ile Lys Lys Ser  
 995 1000 1005

Leu Val Glu Ala Thr Gly Val Pro Gly Gln His Ile Leu Val Ala  
 1010 1015 1020

Val Leu Pro Gly Leu Pro Thr Thr Ala Glu Leu Phe Val Leu Pro  
 1025 1030 1035

Tyr Gln Asp Pro Ala Gly Glu Asn Lys Arg Ser Thr Asp Asp Leu  
 1040 1045 1050

Glu Gln Ile Ser Glu Leu Leu Ile His Thr Leu Asn Gln Asn Ser  
 1055 1060 1065

Val His Phe Glu Leu Lys Pro Gly Val Arg Val Leu Val His Ala  
 1070 1075 1080

Ala His Leu Thr Ala Ala Pro Leu Val Asp Leu Thr Pro Thr His  
 1085 1090 1095

Ser Gly Ser Ala Met Leu Met Leu Leu Ser Val Val Phe Val Gly  
 1100 1105 1110

Leu Ala Val Phe Val Ile Tyr Lys Phe Lys Arg Arg Val Ala Leu  
 1115 1120 1125

Pro Ser Pro Pro Ser Pro Ser Thr Gln Pro Gly Asp Ser Ser Leu  
 1130 1135 1140

Arg Leu Gln Arg Ala Arg His Ala Thr Pro Pro Ser Thr Pro Lys  
 1145 1150 1155

Arg Gly Ser Ala Gly Ala Gln Tyr Ala Ile  
 1160 1165

<210> 4  
 <211> 1222  
 <212> PRT  
 5 <213> Homo sapiens

<400> 4  
 Met Glu Ala Ala Arg Thr Glu Arg Pro Ala Gly Arg Pro Gly Ala Pro  
 1 5 10 15

ES 2 380 055 T3

Leu Val Arg Thr Gly Leu Leu Leu Leu Ser Thr Trp Val Leu Ala Gly  
 20 25 30  
 Ala Glu Ile Thr Trp Asp Ala Thr Gly Gly Pro Gly Arg Pro Ala Ala  
 35 40 45  
 Pro Ala Ser Arg Pro Pro Ala Leu Ser Pro Leu Ser Pro Arg Ala Val  
 50 55 60  
 Ala Ser Gln Trp Pro Glu Glu Leu Ala Ser Ala Arg Arg Ala Ala Val  
 65 70 75 80  
 Leu Gly Arg Arg Ala Gly Pro Glu Leu Leu Pro Gln Gln Gly Gly Gly  
 85 90 95  
 Arg Gly Gly Glu Met Gln Val Glu Ala Gly Gly Thr Ser Pro Ala Gly  
 100 105 110  
 Glu Arg Arg Gly Arg Gly Ile Pro Ala Pro Ala Lys Leu Gly Gly Ala  
 115 120 125  
 Arg Arg Ser Arg Arg Ala Gln Pro Pro Ile Thr Gln Glu Arg Gly Asp  
 130 135 140  
 Ala Trp Ala Thr Ala Pro Ala Asp Gly Ser Arg Gly Ser Arg Pro Leu  
 145 150 155 160  
 Ala Lys Gly Ser Arg Glu Glu Val Lys Ala Pro Arg Ala Gly Gly Ser  
 165 170 175  
 Ala Ala Glu Asp Leu Arg Leu Pro Ser Thr Ser Phe Ala Leu Thr Gly  
 180 185 190  
 Asp Ser Ala His Asn Gln Ala Met Val His Trp Ser Gly His Asn Ser  
 195 200 205  
 Ser Val Ile Leu Ile Leu Thr Lys Leu Tyr Asp Phe Asn Leu Gly Ser  
 210 215 220  
 Val Thr Glu Ser Ser Leu Trp Arg Ser Thr Asp Tyr Gly Thr Thr Tyr  
 225 230 235 240  
 Glu Lys Leu Asn Asp Lys Val Gly Leu Lys Thr Val Leu Ser Tyr Leu  
 245 250 255  
 Tyr Val Asn Pro Thr Asn Lys Arg Lys Ile Met Leu Leu Ser Asp Pro  
 260 265 270  
 Glu Met Glu Ser Ser Ile Leu Ile Ser Ser Asp Glu Gly Ala Thr Tyr  
 275 280 285

ES 2 380 055 T3

Gln Lys Tyr Arg Leu Thr Phe Tyr Ile Gln Ser Leu Leu Phe His Pro  
 290 295 300

Lys Gln Glu Asp Trp Val Leu Ala Tyr Ser Leu Asp Gln Lys Leu Tyr  
 305 310 315 320

Ser Ser Met Asp Phe Gly Arg Arg Trp Gln Leu Met His Glu Arg Ile  
 325 330 335

Thr Pro Asn Arg Phe Tyr Trp Ser Val Ala Gly Leu Asp Lys Glu Ala  
 340 345 350

Asp Leu Val His Met Glu Val Arg Thr Thr Asp Gly Tyr Ala His Tyr  
 355 360 365

Leu Thr Cys Arg Ile Gln Glu Cys Ala Glu Thr Thr Arg Ser Gly Pro  
 370 375 380

Phe Ala Arg Ser Ile Asp Ile Ser Ser Leu Val Val Gln Asp Glu Tyr  
 385 390 395 400

Ile Phe Ile Gln Val Thr Thr Ser Gly Arg Ala Ser Tyr Tyr Val Ser  
 405 410 415

Tyr Arg Arg Glu Ala Phe Ala Gln Ile Lys Leu Pro Lys Tyr Ser Leu  
 420 425 430

Pro Lys Asp Met His Ile Ile Ser Thr Asp Glu Asn Gln Val Phe Ala  
 435 440 445

Ala Val Gln Glu Trp Asn Gln Asn Asp Thr Tyr Asn Leu Tyr Ile Ser  
 450 455 460

Asp Thr Arg Gly Ile Tyr Phe Thr Leu Ala Met Glu Asn Ile Lys Ser  
 465 470 475 480

Ser Arg Gly Leu Met Gly Asn Ile Ile Ile Glu Leu Tyr Glu Val Ala  
 485 490 495

Gly Ile Lys Gly Ile Phe Leu Ala Asn Lys Lys Val Asp Asp Gln Val  
 500 505 510

Lys Thr Tyr Ile Thr Tyr Asn Lys Gly Arg Asp Trp Arg Leu Leu Gln  
 515 520 525

Ala Pro Asp Val Asp Leu Arg Gly Ser Pro Val His Cys Leu Leu Pro  
 530 535 540

Phe Cys Ser Leu His Leu His Leu Gln Leu Ser Glu Asn Pro Tyr Ser  
 545 550 555 560

ES 2 380 055 T3

Ser Gly Arg Ile Ser Ser Lys Glu Thr Ala Pro Gly Leu Val Val Ala  
565 570 575

Thr Gly Asn Ile Gly Pro Glu Leu Ser Tyr Thr Asp Ile Gly Val Phe  
580 585 590

Ile Ser Ser Asp Gly Gly Asn Thr Trp Arg Gln Ile Phe Asp Glu Glu  
595 600 605

Tyr Asn Val Trp Phe Leu Asp Trp Gly Gly Ala Leu Val Ala Met Lys  
610 615 620

His Thr Pro Leu Pro Val Arg His Leu Trp Val Ser Phe Asp Glu Gly  
625 630 635 640

His Ser Trp Asp Lys Tyr Gly Phe Thr Ser Val Pro Leu Phe Val Asp  
645 650 655

Gly Ala Leu Val Glu Ala Gly Met Glu Thr His Ile Met Thr Val Phe  
660 665 670

Gly His Phe Ser Leu Arg Ser Glu Trp Gln Leu Val Lys Val Asp Tyr  
675 680 685

Lys Ser Ile Phe Ser Arg His Cys Thr Lys Glu Asp Tyr Gln Thr Trp  
690 695 700

His Leu Leu Asn Gln Gly Glu Pro Cys Val Met Gly Glu Arg Lys Ile  
705 710 715 720

Phe Lys Lys Arg Lys Pro Gly Ala Gln Cys Ala Leu Gly Arg Asp His  
725 730 735

Ser Gly Ser Val Val Ser Glu Pro Cys Val Cys Ala Asn Trp Asp Phe  
740 745 750

Glu Cys Asp Tyr Gly Tyr Glu Arg His Gly Glu Ser Gln Cys Val Pro  
755 760 765

Ala Phe Trp Tyr Asn Pro Ala Ser Pro Ser Lys Asp Cys Ser Leu Gly  
770 775 780

Gln Ser Tyr Leu Asn Ser Thr Gly Tyr Arg Arg Ile Val Ser Asn Asn  
785 790 795 800

Cys Thr Asp Gly Leu Arg Glu Lys Tyr Thr Ala Lys Ala Gln Met Cys  
805 810 815

Pro Gly Lys Ala Pro Arg Gly Leu His Val Val Thr Thr Asp Gly Arg  
820 825 830

ES 2 380 055 T3

Leu Val Ala Glu Gln Gly His Asn Ala Thr Phe Ile Ile Leu Met Glu  
 835 840 845  
 Glu Gly Asp Leu Gln Arg Thr Asn Ile Gln Leu Asp Phe Gly Asp Gly  
 850 855 860  
 Ile Ala Val Ser Tyr Ala Asn Phe Ser Pro Ile Glu Asp Gly Ile Lys  
 865 870 875 880  
 His Val Tyr Lys Ser Ala Gly Ile Phe Gln Val Thr Ala Tyr Ala Glu  
 885 890 895  
 Asn Asn Leu Gly Ser Asp Thr Ala Val Leu Phe Leu His Val Val Cys  
 900 905 910  
 Pro Val Glu His Val His Leu Arg Val Pro Phe Val Ala Ile Arg Asn  
 915 920 925  
 Lys Glu Val Asn Ile Ser Ala Val Val Trp Pro Ser Gln Leu Gly Thr  
 930 935 940  
 Leu Thr Tyr Phe Trp Trp Phe Gly Asn Ser Thr Lys Pro Leu Ile Thr  
 945 950 955 960  
 Leu Asp Ser Ser Ile Ser Phe Thr Phe Leu Ala Glu Gly Thr Asp Thr  
 965 970 975  
 Ile Thr Val Gln Val Ala Ala Gly Asn Ala Leu Ile Gln Asp Thr Lys  
 980 985 990  
 Glu Ile Ala Val His Glu Tyr Phe Gln Ser Gln Leu Leu Ser Phe Ser  
 995 1000 1005  
 Pro Asn Leu Asp Tyr His Asn Pro Asp Ile Pro Glu Trp Arg Lys  
 1010 1015 1020  
 Asp Ile Gly Asn Val Ile Lys Arg Ala Leu Val Lys Val Thr Ser  
 1025 1030 1035  
 Val Pro Glu Asp Gln Ile Leu Ile Ala Val Phe Pro Gly Leu Pro  
 1040 1045 1050  
 Thr Ser Ala Glu Leu Phe Ile Leu Pro Pro Lys Asn Leu Thr Glu  
 1055 1060 1065  
 Arg Arg Lys Gly Asn Glu Gly Asp Leu Glu Gln Ile Val Glu Thr  
 1070 1075 1080  
 Leu Phe Asn Ala Leu Asn Gln Asn Leu Val Gln Phe Glu Leu Lys  
 1085 1090 1095

Pro Gly Val Gln Val Ile Val Tyr Val Thr Gln Leu Thr Leu Ala  
 1100 1105 1110

Pro Leu Val Asp Ser Ser Ala Gly His Ser Ser Ser Ala Met Leu  
 1115 1120 1125

Met Leu Leu Ser Val Val Phe Val Gly Leu Ala Val Phe Leu Ile  
 1130 1135 1140

Tyr Lys Phe Lys Arg Lys Ile Pro Trp Ile Asn Ile Tyr Ala Gln  
 1145 1150 1155

Val Gln His Asp Lys Glu Gln Glu Met Ile Gly Ser Val Ser Gln  
 1160 1165 1170

Ser Glu Asn Ala Pro Lys Ile Thr Leu Ser Asp Phe Thr Glu Pro  
 1175 1180 1185

Glu Glu Leu Leu Asp Lys Glu Leu Asp Thr Arg Val Ile Gly Gly  
 1190 1195 1200

Ile Ala Thr Ile Ala Asn Ser Glu Ser Thr Lys Glu Ile Pro Asn  
 1205 1210 1215

Cys Thr Ser Val  
 1220

<210> 5

<211> 907

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Leu Ile Phe His Pro Lys Glu Glu Asp Lys Val Leu Ala Tyr Thr Lys  
 1 5 10 15

Glu Ser Lys Leu Tyr Val Ser Ser Asp Leu Gly Lys Lys Trp Thr Leu  
 20 25 30

Leu Gln Glu Arg Val Thr Lys Asp His Val Phe Trp Ser Val Ser Gly  
 35 40 45

Val Asp Ala Asp Pro Asp Leu Val His Val Glu Ala Gln Asp Leu Gly  
 50 55 60

Gly Asp Phe Arg Tyr Val Thr Cys Ala Ile His Asn Cys Ser Glu Lys  
 65 70 75 80

ES 2 380 055 T3

Met Leu Thr Ala Pro Phe Ala Gly Pro Ile Asp His Gly Ser Leu Thr  
85 90 95

Val Gln Asp Asp Tyr Ile Phe Phe Lys Ala Thr Ser Ala Asn Gln Thr  
100 105 110

Lys Tyr Tyr Val Ser Tyr Arg Arg Asn Glu Phe Val Leu Met Lys Leu  
115 120 125

Pro Lys Tyr Ala Leu Pro Lys Asp Leu Gln Ile Ile Ser Thr Asp Glu  
130 135 140

Ser Gln Val Phe Val Ala Val Gln Glu Trp Tyr Gln Met Asp Thr Tyr  
145 150 155 160

Asn Leu Tyr Gln Ser Asp Pro Arg Gly Val Arg Tyr Ala Leu Val Leu  
165 170 175

Gln Asp Val Arg Ser Ser Arg Gln Ala Glu Glu Ser Val Leu Ile Asp  
180 185 190

Ile Leu Glu Val Arg Gly Val Lys Gly Val Phe Leu Ala Asn Gln Lys  
195 200 205

Ile Asp Gly Lys Val Met Thr Leu Ile Thr Tyr Asn Lys Gly Arg Asp  
210 215 220

Trp Asp Tyr Leu Arg Pro Pro Ser Met Asp Met Asn Gly Lys Pro Thr  
225 230 235 240

Asn Cys Lys Pro Pro Asp Cys His Leu His Leu His Leu Arg Trp Ala  
245 250 255

Asp Asn Pro Tyr Val Ser Gly Thr Val His Thr Lys Asp Thr Ala Pro  
260 265 270

Gly Leu Ile Met Gly Ala Gly Asn Leu Gly Ser Gln Leu Val Glu Tyr  
275 280 285

Lys Glu Glu Met Tyr Ile Thr Ser Asp Cys Gly His Thr Trp Arg Gln  
290 295 300

Val Phe Glu Glu Glu His His Ile Leu Tyr Leu Asp His Gly Gly Val  
305 310 315 320

Ile Val Ala Ile Lys Asp Thr Ser Ile Pro Leu Lys Ile Leu Lys Phe  
325 330 335

Ser Val Asp Glu Gly Leu Thr Trp Ser Thr His Asn Phe Thr Ser Thr  
340 345 350

ES 2 380 055 T3

Ser Val Phe Val Asp Gly Leu Leu Ser Glu Pro Gly Asp Glu Thr Leu  
 355 360 365

Val Met Thr Val Phe Gly His Ile Ser Phe Arg Ser Asp Trp Glu Leu  
 370 375 380

Val Lys Val Asp Phe Arg Pro Ser Phe Ser Arg Gln Cys Gly Glu Glu  
 385 390 395 400

Asp Tyr Ser Ser Trp Glu Leu Ser Asn Leu Gln Gly Asp Arg Cys Ile  
 405 410 415

Met Gly Gln Gln Arg Ser Phe Arg Lys Arg Lys Ser Thr Ser Trp Cys  
 420 425 430

Ile Lys Gly Arg Ser Phe Thr Ser Ala Leu Thr Ser Arg Val Cys Glu  
 435 440 445

Cys Arg Asp Ser Asp Phe Leu Cys Asp Tyr Gly Phe Glu Arg Ser Pro  
 450 455 460

Ser Ser Glu Ser Ser Thr Asn Lys Cys Ser Ala Asn Phe Trp Phe Asn  
 465 470 475 480

Pro Leu Ser Pro Pro Asp Asp Cys Ala Leu Gly Gln Thr Tyr Thr Ser  
 485 490 495

Ser Leu Gly Tyr Arg Lys Val Val Ser Asn Val Cys Glu Gly Gly Val  
 500 505 510

Asp Met Gln Gln Ser Gln Val Gln Leu Gln Cys Pro Leu Thr Pro Pro  
 515 520 525

Arg Gly Leu Gln Val Ser Ile Gln Gly Glu Ala Val Ala Val Arg Pro  
 530 535 540

Gly Glu Asp Val Leu Phe Val Val Arg Gln Glu Gln Gly Asp Val Leu  
 545 550 555 560

Thr Thr Lys Tyr Gln Val Asp Leu Gly Asp Gly Phe Lys Ala Met Tyr  
 565 570 575

Val Asn Leu Thr Leu Thr Gly Glu Pro Ile Arg His Arg Tyr Glu Ser  
 580 585 590

Pro Gly Ile Tyr Arg Val Ser Val Arg Ala Glu Asn Thr Ala Gly His  
 595 600 605

Asp Glu Ala Val Leu Phe Val Gln Val Asn Ser Pro Leu Gln Ala Leu  
 610 615 620

ES 2 380 055 T3

Tyr Leu Glu Val Val Pro Val Ile Gly Leu Asn Gln Glu Val Asn Leu  
 625 630 635 640  
 Thr Ala Val Leu Leu Pro Leu Asn Pro Asn Leu Thr Val Phe Tyr Trp  
 645 650 655  
 Trp Ile Gly His Ser Leu Gln Pro Leu Leu Ser Leu Asp Asn Ser Val  
 660 665 670  
 Thr Thr Arg Phe Ser Asp Thr Gly Asp Val Arg Val Thr Val Gln Ala  
 675 680 685  
 Ala Cys Gly Asn Ser Val Leu Gln Asp Ser Arg Val Leu Arg Val Leu  
 690 700  
 Asp Gln Phe Gln Val Met Pro Leu Gln Phe Ser Lys Glu Leu Asp Ala  
 705 710 715 720  
 Tyr Asn Pro Asn Thr Pro Glu Trp Arg Glu Asp Val Gly Leu Val Val  
 725 730 735  
 Thr Arg Leu Leu Ser Lys Glu Thr Ser Val Pro Gln Glu Leu Leu Val  
 740 745 750  
 Thr Val Val Lys Pro Gly Leu Pro Thr Leu Ala Asp Leu Tyr Val Leu  
 755 760 765  
 Leu Pro Pro Pro Arg Pro Thr Arg Lys Arg Ser Leu Ser Ser Asp Lys  
 770 775 780  
 Arg Leu Ala Ala Ile Gln Gln Val Leu Asn Ala Gln Lys Ile Ser Phe  
 785 790 795 800  
 Leu Leu Arg Gly Gly Val Arg Val Leu Val Ala Leu Arg Asp Thr Gly  
 805 810 815  
 Thr Gly Ala Glu Gln Leu Gly Gly Gly Gly Tyr Trp Ala Val Val  
 820 825 830  
 Val Leu Phe Val Ile Gly Leu Phe Ala Ala Gly Ala Phe Ile Leu Tyr  
 835 840 845  
 Lys Phe Lys Arg Lys Arg Pro Gly Arg Thr Val Tyr Ala Gln Met His  
 850 855 860  
 Asn Glu Lys Glu Gln Glu Met Thr Ser Pro Val Ser His Ser Glu Asp  
 865 870 875 880  
 Val Gln Gly Ala Val Gln Gly Asn His Ser Gly Val Val Leu Ser Ile  
 885 890 895

ES 2 380 055 T3

Asn Ser Arg Glu Met His Ser Tyr Leu Val Ser  
 900 905

<210> 6

<211> 241

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 6

Met Ser Met Leu Phe Tyr Thr Leu Ile Thr Ala Phe Leu Ile Gly Ile  
 1 5 10 15

Gln Ala Glu Pro His Ser Glu Ser Asn Val Pro Ala Gly His Thr Ile  
 20 25 30

Pro Gln Val His Trp Thr Lys Leu Gln His Ser Leu Asp Thr Ala Leu  
 35 40 45

Arg Arg Ala Arg Ser Ala Pro Ala Ala Ala Ile Ala Ala Arg Val Ala  
 50 55 60

Gly Gln Thr Arg Asn Ile Thr Val Asp Pro Arg Leu Phe Lys Lys Arg  
 65 70 75 80

Arg Leu Arg Ser Pro Arg Val Leu Phe Ser Thr Gln Pro Pro Arg Glu  
 85 90 95

Ala Ala Asp Thr Gln Asp Leu Asp Phe Glu Val Gly Gly Ala Ala Pro  
 100 105 110

Phe Asn Arg Thr His Arg Ser Lys Arg Ser Ser Ser His Pro Ile Phe  
 115 120 125

His Arg Gly Glu Phe Ser Val Cys Asp Ser Val Ser Val Trp Val Gly  
 130 135 140

Asp Lys Thr Thr Ala Thr Asp Ile Lys Gly Lys Glu Val Met Val Leu  
 145 150 155 160

Gly Glu Val Asn Ile Asn Asn Ser Val Phe Lys Gln Tyr Phe Phe Glu  
 165 170 175

Thr Lys Cys Arg Asp Pro Asn Pro Val Asp Ser Gly Cys Arg Gly Ile  
 180 185 190

Asp Ser Lys His Trp Asn Ser Tyr Cys Thr Thr Thr His Thr Phe Val  
 195 200 205

ES 2 380 055 T3

Lys Ala Leu Thr Met Asp Gly Lys Gln Ala Ala Trp Arg Phe Ile Arg  
 210 215 220

Ile Asp Thr Ala Cys Val Cys Val Leu Ser Arg Lys Ala Val Arg Arg  
 225 230 235 240

Ala

<210> 7

<211> 246

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 7

Met Thr Ile Leu Phe Leu Thr Met Val Ile Ser Tyr Phe Gly Cys Met  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Pro Met Lys Glu Ala Asn Ile Arg Gly Gln Gly Gly Leu  
 20 25 30

Ala Tyr Pro Gly Val Arg Thr His Gly Thr Leu Glu Ser Val Asn Gly  
 35 40 45

Pro Lys Ala Gly Ser Gly Leu Thr Ser Leu Ala Asp Thr Phe Glu His  
 50 55 60

Val Ile Glu Glu Leu Leu Asp Glu Asp Gln Lys Val Arg Pro Asn Glu  
 65 70 75 80

Glu Asn Asn Lys Asp Ala Asp Leu Tyr Thr Ser Arg Val Met Leu Ser  
 85 90 95

Ser Gln Val Pro Leu Glu Pro Pro Leu Leu Phe Leu Leu Glu Glu Tyr  
 100 105 110

Lys Asn Tyr Leu Asp Ala Ala Asn Met Ser Met Arg Val Arg Arg His  
 115 120 125

Ser Asp Pro Ala Arg Arg Gly Glu Leu Ser Val Cys Asp Ser Ile Ser  
 130 135 140

Glu Trp Val Thr Ala Ala Asp Lys Lys Thr Ala Val Asp Met Ser Gly  
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Val Leu Glu Lys Val Pro Val Ser Lys Gly Gln Leu  
 165 170 175

Lys Gln Tyr Phe Tyr Glu Thr Lys Cys Asn Pro Met Gly Tyr Thr Lys  
 180 185 190

Glu Gly Cys Arg Gly Ile Asp Lys Arg His Trp Asn Ser Gln Cys Arg  
 195 200 205

Thr Thr Gln Ser Tyr Val Arg Ala Leu Thr Met Asp Ser Lys Lys Arg  
 210 215 220

Ile Gly Trp Arg Phe Ile Arg Ile Asp Thr Ser Cys Val Cys Thr Leu  
 225 230 235 240

Thr Ile Lys Arg Gly Arg  
 245

<210> 8

<211> 257

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 8

Met Ser Ile Leu Phe Tyr Val Ile Phe Leu Ala Tyr Leu Arg Gly Ile  
 1 5 10 15

Gln Gly Asn Asn Met Asp Gln Arg Ser Leu Pro Glu Asp Ser Leu Asn  
 20 25 30

Ser Leu Ile Ile Lys Leu Ile Gln Ala Asp Ile Leu Lys Asn Lys Leu  
 35 40 45

Ser Lys Gln Met Val Asp Val Lys Glu Asn Tyr Gln Ser Thr Leu Pro  
 50 55 60

Lys Ala Glu Ala Pro Arg Glu Pro Glu Arg Gly Gly Pro Ala Lys Ser  
 65 70 75 80

Ala Phe Gln Pro Val Ile Ala Met Asp Thr Glu Leu Leu Arg Gln Gln  
 85 90 95

Arg Arg Tyr Asn Ser Pro Arg Val Leu Leu Ser Asp Ser Thr Pro Leu  
 100 105 110

Glu Pro Pro Pro Leu Tyr Leu Met Glu Asp Tyr Val Gly Ser Pro Val  
 115 120 125

Val Ala Asn Arg Thr Ser Arg Arg Lys Arg Tyr Ala Glu His Lys Ser  
 130 135 140

His Arg Gly Glu Tyr Ser Val Cys Asp Ser Glu Ser Leu Trp Val Thr  
 145 150 155 160

Asp Lys Ser Ser Ala Ile Asp Ile Arg Gly His Gln Val Thr Val Leu  
 165 170 175

Gly Glu Ile Lys Thr Gly Asn Ser Pro Val Lys Gln Tyr Phe Tyr Glu  
 180 185 190

Thr Arg Cys Lys Glu Ala Arg Pro Val Lys Asn Gly Cys Arg Gly Ile  
 195 200 205

Asp Asp Lys His Trp Asn Ser Gln Cys Lys Thr Ser Gln Thr Tyr Val  
 210 215 220

Arg Ala Leu Thr Ser Glu Asn Asn Lys Leu Val Gly Trp Arg Trp Ile  
 225 230 235 240

Arg Ile Asp Thr Ser Cys Val Cys Ala Leu Ser Arg Lys Ile Gly Arg  
 245 250 255

Thr

<210> 9  
 <211> 210  
 <212> PRT  
 5 <213> Homo sapiens

<400> 9

Met Leu Pro Leu Pro Ser Cys Ser Leu Pro Ile Leu Leu Leu Phe Leu  
 1 5 10 15

Leu Pro Ser Val Pro Ile Glu Ser Gln Pro Pro Pro Ser Thr Leu Pro  
 20 25 30

Pro Phe Leu Ala Pro Glu Trp Asp Leu Leu Ser Pro Arg Val Val Leu  
 35 40 45

Ser Arg Gly Ala Pro Ala Gly Pro Pro Leu Leu Phe Leu Leu Glu Ala  
 50 55 60

Gly Ala Phe Arg Glu Ser Ala Gly Ala Pro Ala Asn Arg Ser Arg Arg  
 65 70 75 80

Gly Val Ser Glu Thr Ala Pro Ala Ser Arg Arg Gly Glu Leu Ala Val  
 85 90 95

Cys Asp Ala Val Ser Gly Trp Val Thr Asp Arg Arg Thr Ala Val Asp  
 100 105 110

Leu Arg Gly Arg Glu Val Glu Val Leu Gly Glu Val Pro Ala Ala Gly  
 115 120 125

Gly Ser Pro Leu Arg Gln Tyr Phe Phe Glu Thr Arg Cys Lys Ala Asp  
 130 135 140

Asn Ala Glu Glu Gly Gly Pro Gly Ala Gly Gly Gly Cys Arg Gly  
 145 150 155 160

Val Asp Arg Arg His Trp Val Ser Glu Cys Lys Ala Lys Gln Ser Tyr  
 165 170 175

Val Arg Ala Leu Thr Ala Asp Ala Gln Gly Arg Val Gly Trp Arg Trp  
 180 185 190

Ile Arg Ile Asp Thr Ala Cys Val Cys Thr Leu Leu Ser Arg Thr Gly  
 195 200 205

Arg Ala  
 210

<210> 10  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5

<400> 10

Gln Leu Tyr Glu Asn Lys Pro Arg Arg Pro Tyr Ile Leu  
 1 5 10

<210> 11  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10

<400> 11

Ile Pro Tyr Ile Leu  
 1 5

<210> 12  
 <211> 357  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

15

<400> 12

20

ES 2 380 055 T3

Met Ala Pro Arg Arg Val Arg Ser Phe Leu Arg Gly Leu Pro Ala Leu  
1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Leu Phe Leu Gly Pro Trp Pro Ala Ala Ser His Gly  
20 25 30

Gly Lys Tyr Ser Arg Glu Lys Asn Gln Pro Lys Pro Ser Pro Lys Arg  
35 40 45

Glu Ser Gly Glu Glu Phe Arg Met Glu Lys Leu Asn Gln Leu Trp Glu  
50 55 60

Lys Ala Gln Arg Leu His Leu Pro Pro Val Arg Leu Ala Glu Leu His  
65 70 75 80

Ala Asp Leu Lys Ile Gln Glu Arg Asp Glu Leu Ala Trp Lys Lys Leu  
85 90 95

Lys Leu Asp Gly Leu Asp Glu Asp Gly Glu Lys Glu Ala Arg Leu Ile  
100 105 110

Arg Asn Leu Asn Val Ile Leu Ala Lys Tyr Gly Leu Asp Gly Lys Lys  
115 120 125

Asp Ala Arg Gln Val Thr Ser Asn Ser Leu Ser Gly Thr Gln Glu Asp  
130 135 140

Gly Leu Asp Asp Pro Arg Leu Glu Lys Leu Trp His Lys Ala Lys Thr  
145 150 155 160

Ser Gly Lys Phe Ser Gly Glu Glu Leu Asp Lys Leu Trp Arg Glu Phe  
165 170 175

Leu His His Lys Glu Lys Val His Glu Tyr Asn Val Leu Leu Glu Thr  
180 185 190

Leu Ser Arg Thr Glu Glu Ile His Glu Asn Val Ile Ser Pro Ser Asp  
195 200 205

Leu Ser Asp Ile Lys Gly Ser Val Leu His Ser Arg His Thr Glu Leu  
210 215 220

Lys Glu Lys Leu Arg Ser Ile Asn Gln Gly Leu Asp Arg Leu Arg Arg  
225 230 235 240

ES 2 380 055 T3

Val Ser His Gln Gly Tyr Ser Thr Glu Ala Glu Phe Glu Glu Pro Arg  
 245 250 255  
 Val Ile Asp Leu Trp Asp Leu Ala Gln Ser Ala Asn Leu Thr Asp Lys  
 260 265 270  
 Glu Leu Glu Ala Phe Arg Glu Glu Leu Lys His Phe Glu Ala Lys Ile  
 275 280 285  
 Glu Lys His Asn His Tyr Gln Lys Gln Leu Glu Ile Ala His Glu Lys  
 290 295 300  
 Leu Arg His Ala Glu Ser Val Gly Asp Gly Glu Arg Val Ser Arg Ser  
 305 310 315 320  
 Arg Glu Lys His Ala Leu Leu Glu Gly Arg Thr Lys Glu Leu Gly Tyr  
 325 330 335  
 Thr Val Lys Lys His Leu Gln Asp Leu Ser Gly Arg Ile Ser Arg Ala  
 340 345 350  
 Arg His Asn Glu Leu  
 355

<210> 13  
 <211> 170  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5

<400> 13

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

10

ES 2 380 055 T3

Ser Leu Glu Ala Met Leu Thr Ile Tyr Gln Leu His Lys Ile Cys His  
100 105 110

Ser Arg Ala Phe Gln His Trp Glu Leu Ile Gln Glu Asp Ile Leu Asp  
115 120 125

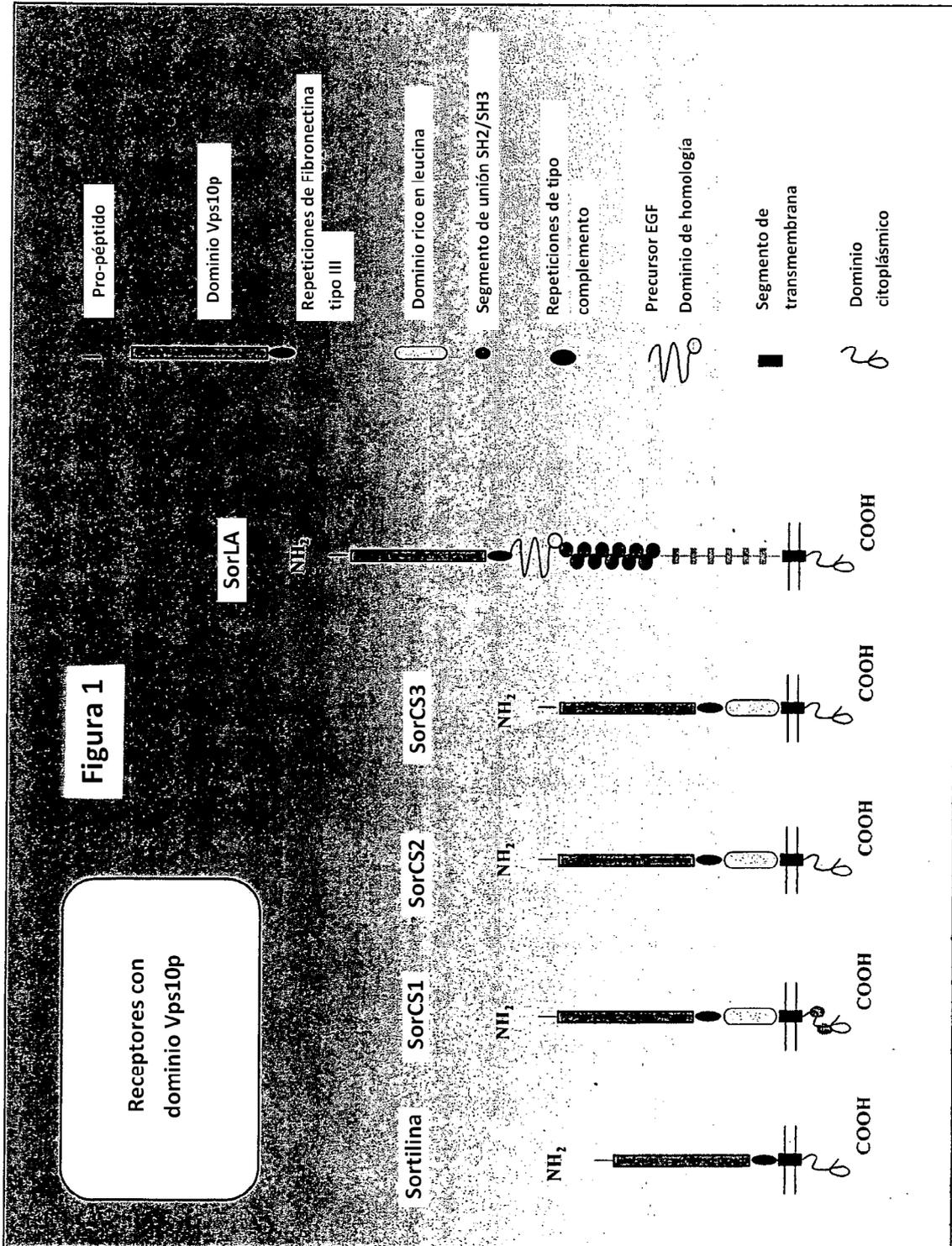
Thr Gly Asn Asp Lys Asn Gly Lys Glu Glu Val Ile Lys Arg Lys Ile  
130 135 140

Pro Tyr Ile Leu Lys Arg Gln Leu Tyr Glu Asn Lys Pro Arg Arg Pro  
145 150 155 160

Tyr Ile Leu Lys Arg Asp Ser Tyr Tyr Tyr  
165 170

**REIVINDICACIONES**

- 1.- Un método *in vitro* para escrutar en búsqueda de un compuesto que altere la unión de al menos una neurotrofina y/o una pro-neurotrofina con un receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p
- 5 a) proporcionar un ensayo para medir la unión de una neurotrofina y/o una pro-neurotrofina a un receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p,
- b) añadir el compuesto que va a ser evaluado al ensayo, y
- c) determinar la cantidad de una neurotrofina y/o una pro-neurotrofina ligada al receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p, y
- 10 d) comparar la cantidad determinada en la etapa c) con una cantidad medida en ausencia del compuesto que va a ser evaluado,
- e) en donde una diferencia entre las dos cantidades identifica un compuesto que altera la unión de neurotrofinas y/o pro-neurotrofinas al receptor de la familia de receptores con dominio Vps10p.
- 15 2.- El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la pro-neurotrofina se selecciona entre pro-NGF o pro-BDNF, pro-NT-3 o pro-NT-4/5.
- 3.- El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en el que el receptor se selecciona entre SorLa, Sortilina, SorCS1, SorCS3 o SorCS2.



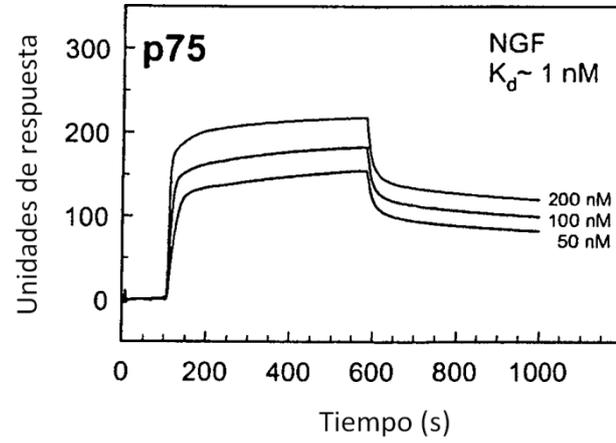
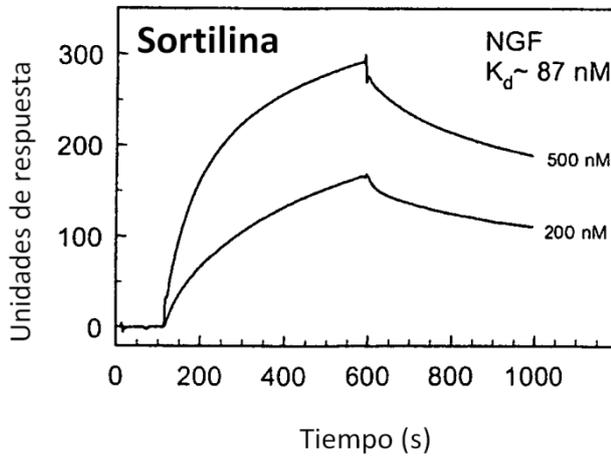
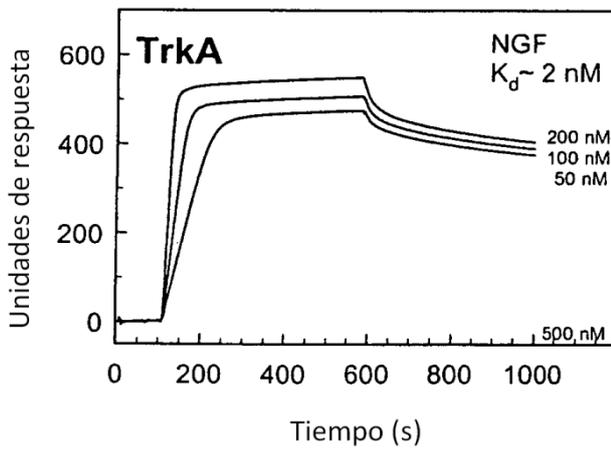


Figura 2



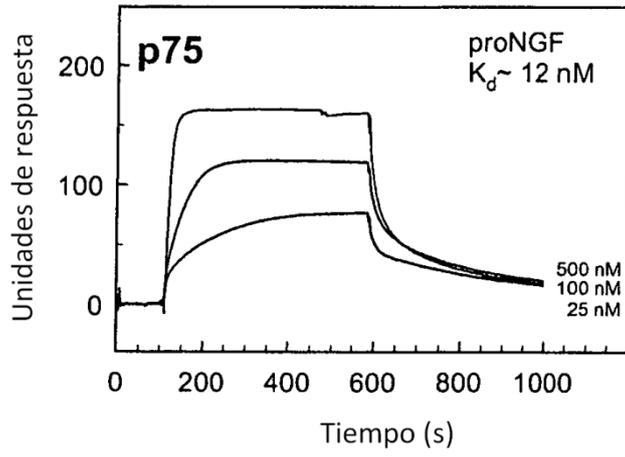
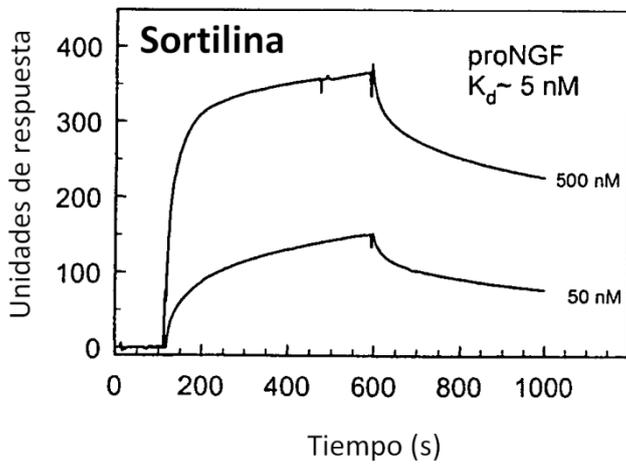
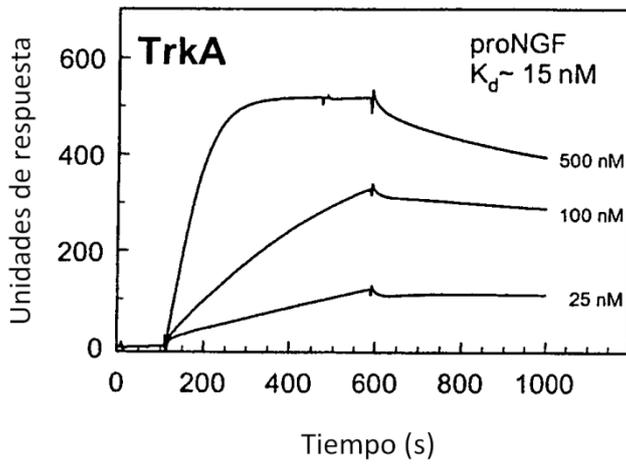


Figura 3



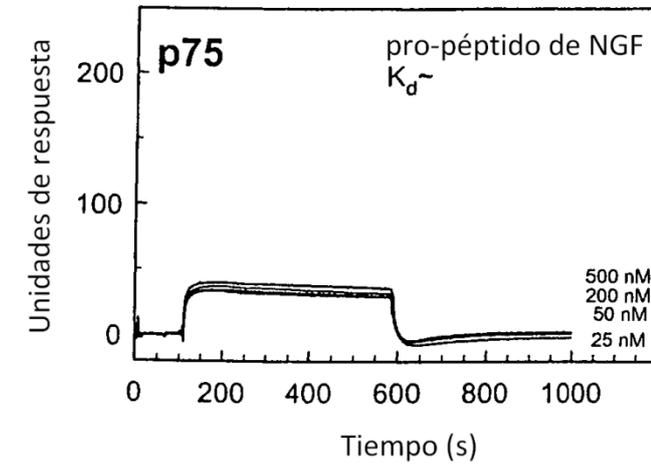


Figura 4

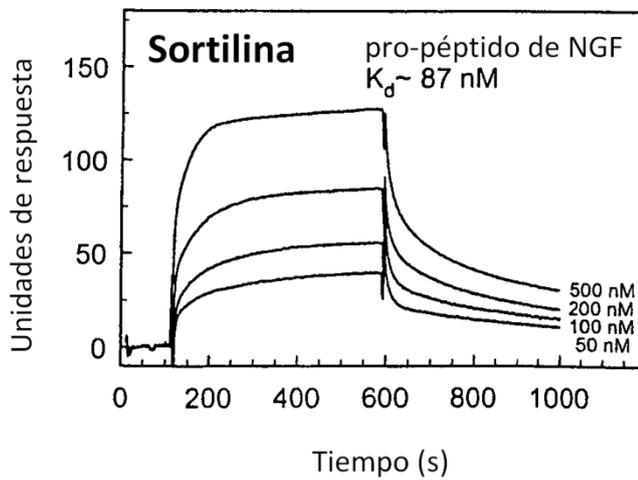
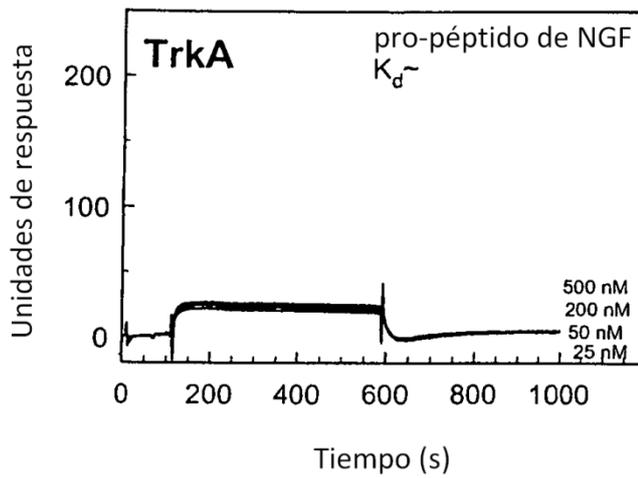


Figura 5

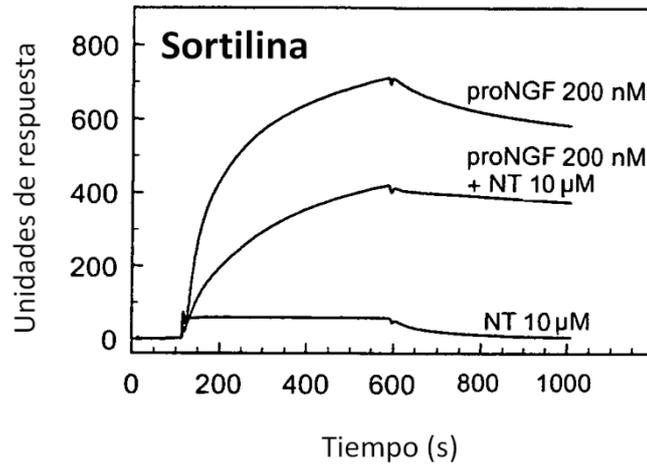


Figura 6

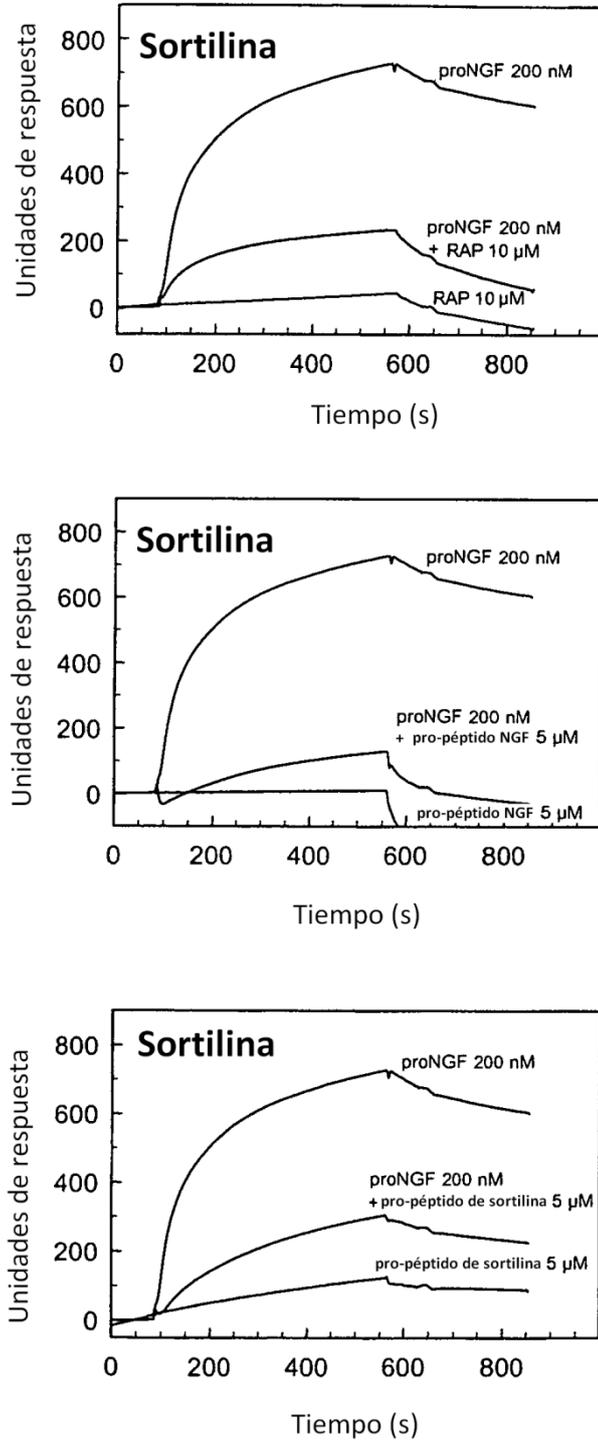


Figura 7

