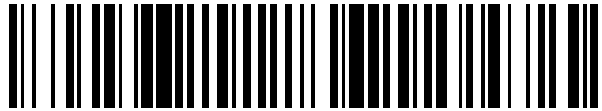


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 400 666**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.12.2006 E 06848586 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.02.2013 EP 1962895**

54 Título: **Uso terapéutico de un antagonista de DII4 y un inhibidor de VEGF para inhibir el crecimiento tumoral**

30 Prioridad:

16.12.2005 US 751173 P
08.02.2006 US 771276 P
31.03.2006 US 788456 P
12.07.2006 US 830543 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.04.2013

73 Titular/es:

REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.
(100.0%)
777 OLD SAW MILL RIVER ROAD
TARRYTOWN, NY 10591, US

72 Inventor/es:

NOGUERA, IRENE;
THURSTON, GAVIN;
GALE, NICHOLAS y
SMITH, ERIC

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 400 666 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

Uso terapéutico de un antagonista de Dll4 y un inhibidor de VEGF para inhibir el crecimiento tumoral

5 Antecedentes de la invención**Campo de la invención**

10 La presente invención se refiere a la inhibición del crecimiento tumoral con antagonistas del ligando de tipo delta 4 (Dll4) e inhibidores de VEGF. Los antagonistas de Dll4 pueden ser particularmente útiles para tratar el crecimiento tumoral en tumores que no son sensibles a otros agentes antitumorales.

Descripción de la técnica relacionada

15 La ruta de señalización de Notch es un sistema para comunicación entre células usado por una amplia serie de eucariotas para muchos procesos biológicos, tales como diferenciación, proliferación y homeostasis. El tipo delta 4 (Dll4) o ligando de tipo delta 4 (Dll4) (en lo sucesivo en este documento "Dll4") es un miembro de la familia delta de los ligandos de Notch que muestra expresión altamente selectiva por el endotelio vascular (Shutter *et al.* (2000) Genes Develop. 14:1313-318). Dll4 es un ligando para receptores Notch, incluyendo Notch 1 y Notch 4. Las secuencias de ácido nucleico y aminoácidos para Dll4 humano y de ratón se muestran en SEC ID N°: 1-2 y SEC ID N°: 3-4, respectivamente. Se han generado ratones con Dll4 dirigido a genes (Duarte *et al.* (2004) Genes & Dev 18: doi: 10.1101/gad.1239004; Krebs *et al.* (2004) Genes & Dev 18: doi: 10.1101/gad.1239204; Gale *et al.* (2004) Proc Natl Acad Sci USA 101:15949-15954).

25 Patel *et al.* (Cancer Research, Vol. 65, páginas 8690-8697 (2005)) describen regulación positiva del ligando de tipo delta 4 en la vasculatura tumoral humana y el papel de la expresión basal en la función celular endotelial. Gale *et al.* (PNAS, Vol. 101, páginas 15949-15954 (2004)) describen que la insuficiencia haploide del ligando de tipo delta 4 da como resultado letalidad embrionaria debido a defectos importantes en el desarrollo arterial y vascular. Noguera *et al.* (Proceedings of the Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, Vol. 46, SuplS., página 1104 (2005)) describen la expresión del ligando de tipo delta 4 (Dll4) en modelos de tumorales de ratón. Mailhos *et al.* (Differentiation, Vol. 69, páginas 135-144 (2001)) describen delta 4, como un ligando de Notch específico endotelial expresado en sitios de angiogénesis fisiológica y tumoral. El documento WO 03/050502 describe posible identificación y caracterización de células madre de cáncer de mama. El documento WO 03/042246 describe un inhibidor de la ruta de señalización de Notch en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de

35 cáncer.

Breve resumen de la invención

40 Los experimentos descritos posteriormente muestran que los antagonistas de Dll4 son eficaces en la inhibición del crecimiento tumoral, particularmente en tumores que no son sensibles a otros agente terapéuticos antitumorales, tales como un antagonista del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF).

45 La invención presenta antagonistas de Dll4 capaces de inhibir Dll4. En una realización, el antagonista de Dll4 es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a Dll4 y bloquea la unión de Dll4 con un receptor Notch, tal como por ejemplo, Notch 1. En otra realización, el antagonista de Dll4 de la invención es una proteína de fusión.

50 La invención proporciona de este modo un antagonista del ligando de tipo delta 4 (Dll4) y un inhibidor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) para su uso en un método para tratar el desarrollo o crecimiento tumoral, en el que dicho antagonista de Dll4 es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a Dll4 y bloquea la unión de Dll4 con un receptor Notch, o una proteína de fusión que comprende un dominio extracelular de Dll4 y un dominio Fc humano de SEC ID N°: 20.

55 El anticuerpo o fragmento de anticuerpo usado en la invención puede ser policlonal o monoclonal, y puede ser humanizado, quimérico o completamente humano. Preferentemente el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo monoclonal completamente humano. El fragmento de anticuerpo puede ser, por ejemplo, un anticuerpo de cadena sencilla, un Fab, un F(ab')₂, un pepticuerpo, etc.

60 Cuando el antagonista de Dll4 es una proteína de fusión, el dominio extracelular de Dll4 o un fragmento o fragmento modificado del mismo se fusiona con un componente de multimerización. El componente de multimerización es un Fc humano de SEC ID N°: 20. La proteína de fusión puede comprender opcionalmente una secuencia señal, que puede ser nativa de la célula, recombinante o sintética.

65 También se describe en este documento una composición farmacéutica útil para inhibición del crecimiento o desarrollo de vasos sanguíneos, que comprende un agente capaz de inhibir la actividad de Dll4 y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización, el agente es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que

bloquea la unión de Dll4 con un receptor Notch. Preferentemente, el antagonista de Dll4 es un anticuerpo completamente humano o fragmento del mismo capaz de inhibir la unión de Dll4 con el receptor Notch 1. En otra realización, el agente es una proteína de Dll4 modificada que es capaz de unirse a su receptor Notch pero dicha unión no da como resultado activación del receptor.

5 Se describe además en este documento un método para tratar una afección mediada por Dll4, que comprende administrar un agente capaz de inhibir la actividad o expresión de Dll4. La afección mediada por Dll4 es una afección en la que es deseable inhibir el crecimiento o desarrollo de vasos sanguíneos. El antagonista de Dll4 de la invención puede ser particularmente útil en el tratamiento de tumores que no son sensibles o son sensibles de forma menor que la óptima a otros agentes terapéuticos. El antagonista de Dll4 puede bloquear la producción de vasos sanguíneos funcionales y suministro de oxígeno a los tumores. En realizaciones específicas, el antagonista es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo anti-Dll4 o una proteína de fusión. El anticuerpo o fragmento de anticuerpo anti-Dll4 preferentemente inhibe la unión de Dll4 con el receptor Notch1. La proteína de fusión de la invención comprende un fragmento de la región extracelular nativa que conserva la capacidad para unirse a receptores Notch y carece de una región transmembrana y la cola citoplasmática de Dll4. En una realización, el antagonista de Dll4 de la invención se usa de forma terapéutica para tratar tumores que no son sensibles al tratamiento con un antagonista de VEGF.

20 También se describe en este documento el uso de un agente capaz de inhibir la actividad del ligando de tipo delta 4 (Dll4) para un sujeto que lo necesite para inhibir el desarrollo o crecimiento tumoral. En una realización, el agente es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo, policlonal o monoclonal. Cuando el agente es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo, puede ser un anticuerpo o fragmento de anticuerpo humanizado, quimérico o completamente humano. En algunas realizaciones, el fragmento de anticuerpo es un anticuerpo de cadena sencilla, un Fab o un F(ab')₂. En una realización, el antagonista de Dll4 es un fragmento de Dll4 fusionado con un componente de multimerización. Se describe adicionalmente en este documento el uso de un agente capaz de inhibir la actividad de Dll4 como se ha definido anteriormente como un primer agente terapéutico, y un agente terapéutico adicional que es un inhibidor de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) en la fabricación de un medicamento para inhibir el desarrollo o crecimiento tumoral. Preferentemente, el inhibidor de VEGF es anticuerpo anti-VEGF o un bloqueador de VEGF. Cuando el inhibidor de VEGF es un bloqueador de VEGF, el agente es la proteína que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEC ID N°: 19.

Otros objetos y ventajas resultarán evidentes a partir de una revisión de la descripción detallada a continuación.

35 Breve resumen de las figuras

La Figura 1 muestra que la sobreexpresión de Dll4-Fc por células tumorales C6 da como resultado tumores C6 más pequeños.

40 La Figura 2 muestra que Dll4-Fc suministrado por vía sistémica es altamente eficaz en la reducción de tumores HT1080 en relación con un antagonista de VEGF basado en receptor. **Panel izquierdo:** Dll4-Fc o proteína bloqueadora de VEGF en un momento del implante tumoral, tumores recogidos el día 25; **Panel derecho:** Dll4-Fc o proteína bloqueadora de VEGF proporcionada el día 15 después del implante, tumores recogidos el día 25.

45 La Figura 3 muestra que los anticuerpos policlonales de Dll4 o proteína Dll4-Fc purificada inhiben el crecimiento tumoral de HT1080.

La Figura 4 muestra la inhibición de la unión de Dll4 con el receptor Notch 1 por los anticuerpos policlonales para Dll4, en un ensayo de resonancia de plasmón superficial (BiaCore®).

50 Descripción detallada

55 Antes de describirse los presentes métodos, debe entenderse que la presente invención no se limita a métodos particulares, y las condiciones experimentales descritas, ya que tales métodos y condiciones pueden variar. También debe entenderse que la terminología usada en este documento es para el fin de describir solamente realizaciones particulares, y no se pretende que sea limitante, puesto que el alcance de la presente invención se limitará solamente por las reivindicaciones adjuntas.

60 Como se usa en la presente memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un” y “el” incluyen referencias plurales a no ser que el contexto claramente indique otra cosa. Por lo tanto, por ejemplo, las referencias a “un método” incluyen uno o más métodos, y/o etapas del tipo descrito en este documento y/o que resultarán evidentes para los expertos en la materia tras leer la presente descripción y así sucesivamente.

65 A no ser que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el mismo significado que se entiende habitualmente por un experto en la materia a la que pertenece la presente invención. Aunque puede usarse cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en este documento en la práctica o ensayo de la presente invención, se describen ahora los métodos y materiales

preferidos.

Definiciones

5 Por la expresión afección o enfermedad “asociada con Dll4” o “mediada por Dll4” se entiende una afección que está afectada directa o indirectamente por la modulación de la actividad de Dll4. Más específicamente, se ha mostrado ahora que Dll4 está implicado en el crecimiento y desarrollo de vasos sanguíneos. En consecuencia, en una realización, una afección asociada con Dll4 que puede tratarse por el método de la invención es una en la que es deseable inhibir o reducir el crecimiento, desarrollo o maduración de vasos sanguíneos mediado por Dll4, por ejemplo, inhibir el desarrollo tumoral.

15 Por el término “inhibidor” o “antagonista” se entiende una sustancia que retarda o evita una reacción o respuesta química o fisiológica. La inhibición de la actividad de Dll4 puede ser directa, a través de la inhibición de la activación de receptores con un anticuerpo de bloqueo, por ejemplo, o indirecta, resultante de la interferencia con la expresión del gen que codifica Dll4. Los inhibidores habituales incluyen pero sin limitación moléculas antisentido, anticuerpos, receptores solubles, antagonistas y sus derivados, y ligandos de Dll4 modificados que se unen a su receptor Notch pero son incapaces de activar la señalización a través de dicha unión.

20 Un anticuerpo “neutralizador” o “de bloqueo”, pretende referirse a un anticuerpo cuya unión con Dll4 da como resultado inhibición de la actividad biológica de Dll4. Esta inhibición de la actividad biológica de Dll4 puede evaluarse midiendo uno o más indicadores de la actividad biológica de Dll4. Estos indicadores de la actividad biológica de Dll4 pueden evaluarse por uno o más de varios ensayos *in vitro* o *in vivo* convencionales conocidos en la técnica. (véanse ejemplos posteriores). Preferentemente, la capacidad de un anticuerpo para neutralizar la actividad de Dll4 se evalúa por la inhibición de la unión de Dll4 con un receptor Notch, tal como Notch 1.

25

Descripción general

La ruta de señalización de tipo delta/Notch es necesaria para establecer una vasculatura organizada y jerárquica durante el desarrollo. Las deleciones dirigidas de diversos genes de tipo delta/Notch, incluyendo Dll4, dan como resultado ratones que mueren durante el desarrollo embrionario debido a defectos vasculares graves. Usando análisis de micromatrices, los inventores descubrieron que el ligando de tipo delta 4 (Dll4) es un gen regulado por VEGF en modelos tumorales de xenoinjerto de ratón. Además, se descubrió que en estos modelos tumorales, la expresión de Dll4 era significativamente mayor en vasos tumorales en comparación con los de piel normal adyacente. Para explorar los efectos de bloquear la señalización de Dll4/Notch en tumores, se realizaron estudios de xenoinjerto en ratones, en los que se suministró una molécula de Dll4-Fc soluble localmente por sobreexpresión mediada por retrovirus en células tumorales o se suministró de forma sistémica usando un enfoque adenoviral o inyectando proteína purificada. Todos los métodos para suministrar Dll4-Fc dieron como resultado crecimiento tumoral reducido en comparación con controles. Adicionalmente, los vasos tumorales tratados con Dll4-Fc fueron más ramificados que los controles, formando finas redes con crecimiento vascular denso, pero estos vasos eran menos eficaces que los de los tumores de control. Como se reveló por análisis de matriz y Taqman™, estos efectos se asociaron con una reducción de la señalización de Notch. También se observaron efectos similares en el crecimiento tumoral usando una solución de anticuerpo policlonal que se inyectó en ratones por vía sistémica. También se descubrió que esta solución de anticuerpos policlonales inhibía la unión de Dll4 con el receptor Notch 1. Adicionalmente, se descubrió que Dll4-Fc es más eficaz en la reducción del crecimiento de ciertos tumores que un bloqueador basado en receptor de VEGF (“bloqueador de VEGF”, Patente de Estados Unidos Nº 7.070.959). Estos hallazgos muestran que Dll4 desempeña un papel clave en el crecimiento tumoral y apoyan el Dll4 como una diana para el desarrollo de terapias antiangiogénicas.

Antagonistas de Dll4

50 Los antagonistas de Dll4 incluyen anticuerpos para Dll4 y fragmentos de los mismos capaces de bloquear la unión de Dll4 con un receptor Notch (tal como Notch 1), proteínas de fusión que comprenden el dominio extracelular de Dll4 fusionado con un componente de multimerización, o fragmentos del mismo, y péptidos y peptidocuerpos (véase por ejemplo, Publicación de Patente de Estados Unidos 2003/0229023 Oliner *et al.*).

55 Anticuerpos de Dll4. La expresión “inmunoglobulina o anticuerpo” como se usa en este documento se refiere a un polipéptido de mamífero, incluyendo humano, que comprende una región marco conservada de un gen de inmunoglobulina o fragmentos de la misma que se une específicamente y reconoce a un antígeno, que, en el caso de la presente invención, es una proteína de Dll4 o parte de la misma. Si el anticuerpo o proteína de tipo de anticuerpo pretendido se usa como un compuesto terapéutico o de mamífero, las regiones de unión a inmunoglobulina deberían derivar de las inmunoglobulinas de mamífero correspondientes. Si se pretende que la molécula sea para uso no terapéutico, tal como para diagnóstico y ELISA, las regiones de unión a inmunoglobulina pueden derivar de mamíferos humanos o no humanos, tales como ratones. Los genes o fragmentos de genes de inmunoglobulina humana incluyen las regiones constantes kappa, lambda, alfa, gamma, delta, épsilon y mu, así como los múltiples genes de región variable de inmunoglobulina. Las cadenas ligeras se clasifican como kappa o lambda. Las cadenas pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta o épsilon, que a su vez definen las clases

65

de inmunoglobulina, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente. Dentro de cada clase de IgG, hay diferentes isotipos (por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄) así como alotipos de los mismos.

Una unidad estructural de inmunoglobulina (anticuerpo) ejemplar de IgG humana, comprende un tetrámero. Cada tetrámero está compuesto de dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas, tendiendo cada par a una cadena ligera (aproximadamente 25 kD) y una cadena pesada (aproximadamente 50-70 kD). El extremo N terminal de cada cadena define una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos principalmente responsables del reconocimiento de antígenos. Las expresiones "cadena ligera variable" (V_L) y cadena pesada variable (V_H) se refieren a estas cadenas ligeras y pesadas respectivamente.

Existen anticuerpos como inmunoglobulinas intactas, o como varios fragmentos bien caracterizados producidos por digestión con diversas peptidasas. Por ejemplo, la pepsina digiere un anticuerpo por debajo de los enlaces de disulfuro en la región bisagra para producir F(ab)₂, un dímero de Fab que es en sí mismo una cadena ligera unida con V_H-C_H por un enlace disulfuro. El F(ab)₂ puede reducirse en condiciones suaves para romper el enlace disulfuro en la región bisagra, convirtiendo de este modo el dímero F(ab)₂ en un monómero Fab'. El monómero Fab' es esencialmente Fab con parte de la región bisagra. Aunque se definen diversos fragmentos de anticuerpo con respecto a la digestión de un anticuerpo intacto, un experto apreciará que tales fragmentos pueden sintetizarse de nuevo de forma química o usando metodología de ADN recombinante. Por lo tanto, el término anticuerpo, como se usa en este documento, también incluye fragmentos de anticuerpo producidos por la modificación de anticuerpos completos o los sintetizados nuevos usando metodologías de ADN recombinante (por ejemplo, dominios variables sencillos (Dab) de Fv de cadena sencilla (scFv)) o los identificados usando bibliotecas de presentación tales como bibliotecas de presentación de fagos, *E. coli* o levadura (véase, por ejemplo, McCafferty *et al.* (1990) Nature 348:552-554).

Se conocen en la técnica métodos para preparar anticuerpos. Véase, por ejemplo, Kohler y Milstein (1975) Nature 256:495-497; Harlow y Lane (1988) Antibodies: a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Lab. Cold Spring Harbor, NY). Los anticuerpos que se aíslan de organismos distintos de seres humanos, tales como ratones, ratas, conejos, vacas, pueden hacerse más de tipo humano a través de quimerización o humanización.

Son formas "humanizadas" o quiméricas de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos) las inmunoglobulinas, cadenas de inmunoglobulina o fragmentos de las mismas (tales como Fv, Fab, Fab', F(ab)₂ u otras subsecuencias de unión a antígenos de anticuerpos) que contienen secuencias mínimas requeridas para unión de antígenos derivadas de inmunoglobulina no humana. Tienen la misma o similar especificidad de unión y afinidad que un anticuerpo de ratón u otro no humano que proporcione el material de partida para construcción de un anticuerpo quimérico o humanizado. Los anticuerpos quiméricos son anticuerpos cuyos genes de cadena ligera y pesada se han construido, típicamente por ingeniería genética, a partir de segmentos génicos de inmunoglobulina que pertenecen a diferentes especies. Por ejemplo, los segmentos variables (V) de los genes de un anticuerpo monoclonal de ratón pueden unirse a segmentos constantes humanos (C), tales como IgG1 e IgG4. Un anticuerpo quimérico típico es por lo tanto una proteína híbrida consistente en el dominio de unión a antígeno o V de un anticuerpo de ratón y el dominio efector o C de un anticuerpo humano. Los anticuerpos humanizados tienen restos marco de región variable sustancialmente de un anticuerpo humano (denominado un anticuerpo aceptor) y regiones determinantes de complementariedad (regiones CDR) sustancialmente de un anticuerpo de ratón (denominado la inmunoglobulina donadora). Véase, Queen *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989) y documento WO 90/07861, Patentes de Estados Unidos 5.693.762, 5.693.761, 5.585.089, 5.530.101 y 5.225.539. La región o las regiones constantes, si están presentes, también son sustancialmente o completamente de una inmunoglobulina humana. Los dominios variables humanos se seleccionan habitualmente de anticuerpos humanos cuyas secuencias marco conservadas muestran un alto grado de identidad de secuencia con los dominios de región variable murinos de los que derivaron las CDR. Los restos marco de región variable de cadena ligera y pesada pueden derivar de la misma o diferentes secuencias de anticuerpos humanos. Las secuencias de anticuerpos humanos pueden ser las secuencias de anticuerpos humanos de origen natural o pueden ser secuencias consenso de varios anticuerpos humanos. Véase documento WO 92/22653. Ciertos aminoácidos de los restos marco de región variable humana se seleccionan para sustitución basándose en su posible influencia en la conformación de CDR y/o unión con antígeno. La investigación de tales posibles influencias es por realización de modelos, examen de las características de los aminoácidos en localizaciones particulares, u observación empírica de los efectos de sustitución o mutagénesis de aminoácidos particulares. Por ejemplo, cuando un aminoácido difiere entre un resto marco de región variable murina y un resto marco de región variable humana seleccionado, el aminoácido marco humano debería sustituirse habitualmente por el aminoácido marco equivalente del anticuerpo de ratón cuando se espera razonablemente que el aminoácido: (1) se una de forma no covalente directamente al antígeno; (2) sea adyacente a una región CDR; (3) interactúe de otro modo con una región CDR (por ejemplo esté a una distancia de aproximadamente 6 Å de una región CDR), o (4) participe en la interfaz V_L-V_H. Otros candidatos para sustitución son aminoácidos marco humanos aceptores que son poco habituales para una inmunoglobulina humana en esa posición. Estos aminoácidos pueden sustituirse con aminoácidos de la posición equivalente del anticuerpo donador de ratón o de las posiciones equivalentes de inmunoglobulinas humanas más típicas. Otros candidatos para sustitución son aminoácidos marco humanos aceptores que son poco habituales para una inmunoglobulina humana en esa posición. Los armazones de región variable de inmunoglobulinas humanizadas habitualmente muestran al menos 85% de identidad de secuencia con una secuencia marco conservada de región variable humana o consenso de tales secuencias.

Los métodos para generar anticuerpos humanos incluyen, por ejemplo, VelocImmune™ (Regeneron Pharmaceuticals), tecnología Xenomouse™ (Abgenix), el enfoque de "minilocus", y presentación de fagos. La tecnología VelocImmune™ (documento US 6.596.541) abarca un método para generar un anticuerpo completamente humano de alta especificidad para un antígeno seleccionado. Esta tecnología implica la generación de un ratón transgénico que tenga un genoma que comprenda regiones variables de cadena pesada y ligera humanas unidas operativamente con loci de región constante de ratón endógenos de modo que el ratón produzca un anticuerpo que comprenda una región variable humana y una región constante de ratón en respuesta a estimulación antigénica. El ADN que codifica las regiones variables de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo se aísla y se une operativamente al ADN que codifica las regiones constantes de cadena pesada y ligera humanas. El ADN se expresa después en una célula capaz de expresar el anticuerpo completamente humano. En realizaciones específicas, la célula es una célula CHO.

La tecnología de Xenomouse™ (Green *et al.* (1994) Nature Genetics 7: 13-21) genera un ratón que tiene regiones tanto variables como constantes humanas de los loci tanto de la cadena pesada como de la cadena ligera kappa. En un enfoque alternativo, otros han utilizado un enfoque de "minilocus" en el que se imita un locus de Ig exógeno a través de la inclusión de genes individuales del locus de Ig (véase, por ejemplo, documento US 5.545.807). El ADN que codifica las regiones variables puede aislarse estando unido o no operativamente con el ADN que codifica la región constante de cadena pesada y ligera humana.

Como alternativa, puede usarse presentación de fagos o tecnologías de presentación relacionadas para identificar anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, tales como dominios variables, y fragmentos Fab heteroméricos que se unen específicamente a DII4. (Véase, por ejemplo, Publicación de Patente de Estados Unidos 2003/0229023).

La exploración y selección de inmunoglobulinas (anticuerpos) preferidas puede realizarse por una diversidad de métodos conocidos en la técnica. Puede realizarse exploración inicial con respecto a la presencia de anticuerpos monoclonales específicos para DII4 a través del uso de métodos basados en ELISA o presentación de fagos, por ejemplo. Se realiza preferentemente una exploración secundaria para identificar y seleccionar un anticuerpo monoclonal deseado. Puede realizarse exploración secundaria con cualquier método adecuado conocido en la técnica. Un método preferido, denominado "Realización de Perfiles Asistida por Modificación de Biosensores" ("BiaMAP") se describe en la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos 2004/101920. BiaMAP permite la identificación rápida de clones de hibridoma que producen anticuerpos monoclonales con características deseadas. Más específicamente, los anticuerpos monoclonales se clasifican en grupos relacionados con epítomos definidos basándose en la evaluación de las interacciones anticuerpo:antígeno. Como alternativa, pueden usarse ensayos de competición basados en ELISA; basados en perlas o basados en Biacore® para identificar pares de unión que se unen a diferentes epítomos de DII4 y por lo tanto es probable que cooperen en la unión del ligando con alta afinidad.

Proteínas de fusión de DII4. Cuando el antagonista de DII4 es una proteína de fusión, el componente de multimerización puede seleccionarse del grupo que consiste en (i) un dominio de inmunoglobulina, (ii) un componente de multimerización truncado, (iii) una secuencia de aminoácidos de entre 1 y aproximadamente 500 aminoácidos de longitud, que comprende opcionalmente al menos un resto de cisteína, (iv) una cremallera de leucina, (v) un motivo de hélice bucle y (vi) un motivo de superenrollamiento. De acuerdo con la invención, el componente de multimerización es un Fc humano de SEC ID N°: 20. La proteína de fusión puede comprender opcionalmente una secuencia señal, que puede comprender cualquier secuencia conocida por un experto en la materia para dirigir la secreción de un polipéptido o proteína de una célula, incluyendo secuencias naturales o sintéticas. Generalmente, se sitúa una secuencia señal al comienzo o en el extremo amino terminal de la proteína de fusión de la invención. Dicha secuencia señal puede ser nativa de la célula, recombinante o sintética. Los componentes de la proteína de fusión de la invención pueden conectarse directamente entre sí o conectarse mediante una o más secuencias espaciadoras. En una realización preferida, los componentes se fusionan directamente entre sí. En otra realización preferida, los componentes se conectan con una secuencia de ácido nucleico que codifica un espaciador de 1-200 aminoácidos. Puede usarse cualquier espaciador conocido en la técnica para conectar los componentes proteicos. Una secuencia espaciadora también puede incluir una secuencia usada para potenciar la expresión de la proteína de fusión, proporcionar sitios de restricción y permitir que los dominios componentes formen estructuras terciarias y cuaternarias óptimas y/o potencien la interacción de un componente con su receptor. En una realización, la proteína de fusión comprende una o más secuencias peptídicas entre uno o más componentes que es o son de entre 1 y 25 aminoácidos.

El dominio extracelular de DII4 está compuesto de un dominio Delta/Serrado/Lag-2 (DSL) y un tándem de ocho repeticiones de tipo factor de crecimiento epidérmico (EGF). En general, se reconoce que los dominios EGF aparecen aproximadamente en la posición 218-251 (dominio 1), 252-282 (dominio 2), 284-322 (dominio 3), 324-360 (dominio 4) y 362-400 (dominio 5), con el dominio DSL aproximadamente en la posición 173-217 y el dominio N-terminal aproximadamente en la posición 27-172 de hDII4 (SEC ID N°: 2). En realizaciones específicas, el antagonista de hDII4 capaz de inhibir la actividad de DII4 es DSL-hFc que comprende de aproximadamente el aminoácido 27 a aproximadamente 172 de SEC ID N°: 2 fusionado con hFc (SEC ID N°: 20) (SEC ID N°: 21), dominio N-terminal-DSL-hFc que comprende aproximadamente 27-217 de SEC ID N°: 2 fusionado con hFc (SEC ID N°: 22), dominios EGF 1-5-hFc que comprenden aproximadamente 218-400 fusionado con hFc (SEC ID N°: 23),

dominios EGF 1-4hFc que comprende aproximadamente 218-360 fusionado con hFc (SEC ID N°: 24), dominios EGF 1-3-hFc que comprende aproximadamente 218-322 fusionado con hFc (SEC ID N°: 25), dominios EGF 1-2-hFc que comprenden aproximadamente 218-282 fusionado con hFc (SEC ID N°: 26) o variantes de los mismos que comprenden opcionalmente engarces entre los componentes de dominio. Los componentes de la proteína de fusión también pueden disponerse en una diversidad de configuraciones conservando a la vez la capacidad para actuar como antagonistas de DII4.

Métodos de administración

Se describen en este documento métodos de tratamiento que comprenden administrar a un sujeto una cantidad eficaz de un agente de la presente descripción. En un aspecto preferido, el agente está sustancialmente purificado (por ejemplo, sustancialmente sin sustancias que limiten su efecto o produzcan efectos secundarios no deseados). El sujeto es preferentemente un animal, por ejemplo, tal como vacas, cerdos, caballos, pollos, gatos, perros, etc., y es preferentemente un mamífero, y más preferentemente ser humano. Se conocen diversos sistemas de suministro y pueden usarse para administrar un agente de la presente descripción, por ejemplo, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes capaces de expresar el compuesto, endocitosis mediada por receptor (véase, por ejemplo, Wu y Wu, 1987, J. Biol. Chem. 262: 4429.4432), construcción de un ácido nucleico como parte de un vector retroviral u otro, etc. Los métodos de introducción pueden ser entéricos o parenterales e incluyen pero sin limitación las vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y oral. Los compuestos pueden administrarse por cualquier vía conveniente, por ejemplo por infusión o inyección de embolada, por absorción a través de revestimientos epitelial o mucocutáneo (por ejemplo, mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, etc.) y pueden administrarse junto con otros agentes biológicamente activos. La administración puede ser sistémica o local. Además, puede ser deseable introducir composiciones farmacéuticas descritas en este documento en el sistema nervioso central por cualquier vía adecuada, incluyendo inyección intraventricular o intratecal; la inyección intraventricular puede facilitarse por un catéter intraventricular, por ejemplo, unido a un depósito, tal como un depósito Ommaya. También puede emplearse administración pulmonar, por ejemplo, mediante el uso de un inhalador o un nebulizador, y formulación con un agente de aerosolización.

En una realización específica, puede ser deseable administrar las composiciones farmacéuticas descritas en este documento por vía local al área que necesite tratamiento; esto puede conseguirse, por ejemplo, y sin limitación, por infusión local durante la cirugía, aplicación tópica, por ejemplo, por inyección, por medio de un catéter, o por medio de un implante, siendo dicho implante de un material poroso, no poroso o gelatinoso, incluyendo membranas, tales como membranas de sialastic, fibras o sustitutos cutáneos comerciales.

En otra realización, el agente activo puede suministrarse en una vesícula, en particular un liposoma (véase Langer (1990) Science 249: 1527-1533). En otra realización más, el agente activo puede suministrarse en un sistema de liberación controlada. En una realización, puede usarse una bomba (véase Langer (1990) mencionado anteriormente). En otra realización, pueden usarse materiales poliméricos (véase Howard *et al.* (1989) J. Neurosurg. 71: 105). En otra realización en la que el agente activo de la presente descripción es un ácido nucleico que codifica una proteína, el ácido nucleico puede administrarse *in vivo* para promover la expresión de su proteína codificada, construyéndolo como parte de un vector de expresión de ácido nucleico apropiado y administrándolo de modo que se haga intracelular, por ejemplo, mediante el uso de un vector retroviral (véase, por ejemplo, Patente de Estados Unidos N° 4.980.286), o mediante inyección directa, o mediante el uso de bombardeo de micropartículas (por ejemplo, una pistola génica; Biolistic, Dupont) o recubriendo con lípidos o receptores de superficie celular o agentes de transfección, o administrándolo en enlace con un péptido de tipo caja homeótica que se sabe que entra en el núcleo (véase por ejemplo, Joliot *et al.*, 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 1864-1868), etc. Como alternativa, puede introducirse un ácido nucleico por vía intracelular e incorporarse dentro del ADN de la célula hospedadora para expresión, por recombinación homóloga.

50 Composiciones farmacéuticas

Se describen en este documento composiciones farmacéuticas. Dichas composiciones comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente activo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La expresión "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno Federal o uno estatal o enumerada en la Farmacopea de Estados Unidos u otra farmacopea reconocida generalmente para su uso en animales, y más particularmente en seres humanos. El término "vehículo" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el compuesto terapéutico. Tales vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites, incluyendo los de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Los excipientes farmacéuticos adecuados incluyen almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, tiza, gel de sílice, estearato sódico, monoestearato de glicerol, talco, cloruro sódico, leche desnatada en polvo, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. La composición, si se desea, también puede contener cantidades menores de agentes humectantes o emulsionantes, o agentes tamponantes de pH. Estas composiciones pueden tomar la forma de soluciones, suspensiones, emulsión, comprimidos, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación sostenida y similares. La composición puede formularse como un supositorio, con aglutinantes y vehículos tradicionales tales como triglicéridos. La formulación oral puede incluir vehículos convencionales tales como usos

farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, celulosa, carbonato de magnesio, etc. Se describen ejemplos de vehículos farmacéuticos adecuados en "Remington's Pharmaceutical Sciences" por E.W. Martin.

- 5 En una realización preferida, la composición se formula de acuerdo con procedimientos rutinarios como una composición farmacéutica adaptada para administración intravenosa a seres humanos. Cuando sea necesario, la composición puede incluir también un agente solubilizador y un anestésico local tal como lidocaína para aliviar el dolor en el sitio de la inyección. Cuando la composición debe administrarse por infusión, esta puede distribuirse con un frasco de infusión que contenga agua o solución salina de uso farmacéutico estéril. Cuando la composición se administra por inyección, puede proporcionarse una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina de modo que los ingredientes puedan mezclarse antes de la administración.

15 Los agentes activos de la presente descripción pueden formularse como formas neutras o salinas. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las formadas con grupos amino libres tales como las derivadas de ácidos clorhídrico, fosfórico, acético, oxálico, tartárico, etc., y las formadas con grupos carboxilo libres tales como las derivadas de sodio, potasio, amonio, calcio, hidróxidos férricos, isopropilamina, trietilamina, 2-etilamino etanol, histidina, procaína, etc.

20 La cantidad del agente activo en la presente descripción que será eficaz en el tratamiento de una afección mediada por DII4 puede determinarse por técnicas clínicas convencionales basándose en la presente descripción. Además, pueden emplearse opcionalmente ensayos *in vitro* para ayudar a identificar los intervalos de dosificación óptimos. La dosis precisa para emplear en la formulación también dependerá de la vía de administración, y la gravedad de la afección, y debería decidirse de acuerdo con el criterio del facultativo y las circunstancias de cada sujeto. Sin embargo, los intervalos de dosificación adecuados para administración intravenosa son generalmente de aproximadamente 0,5 a 20 mg de compuesto activo por kilogramo de peso corporal. Los intervalos de dosificación adecuada para administración intranasal son generalmente de aproximadamente 0,01 pg/kg de peso corporal a 1 mg/kg de peso corporal. Las dosis eficaces pueden extrapolarse a partir de curvas de respuesta a dosis derivadas de sistemas de ensayo *in vitro* o de modelo animal.

30 Terapias de combinación

La presente invención proporciona un antagonista de DII4 y un inhibidor de VEGF para su uso en un método para tratar el desarrollo o crecimiento tumoral. En numerosas realizaciones, los antagonistas de DII4 para su uso de acuerdo con la presente invención pueden administrarse en combinación con uno o más compuestos o terapias adicionales. Por ejemplo, pueden co-administrarse múltiples proteínas de fusión o anticuerpos anti-DII4, o administrarse junto con uno o más compuestos terapéuticos. En una realización preferida, el inhibidor de DII4 de la invención se administra con un antagonista de VEGF, tal como un anticuerpo anti-VEGF o un bloqueador de VEGF de SEC ID N°: 19. Un bloqueador de VEGF (como se describe en el documento WO 00/75319) es VEGFR1R2FcΔC1(a).

40 La expresión "agente citotóxico" como se usa en este documento se refiere a una sustancia que inhibe o previene la función de células y/o provoca destrucción de células. La expresión pretende incluir isótopos radioactivos (por ejemplo I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰ y Re¹⁸⁶), agentes quimioterapéuticos y toxinas tales como toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, o fragmentos de las mismas.

45 La terapia de combinación incluye administración de una formulación de dosificación farmacéutica única que contiene un antagonista de DII4 y uno o más antagonistas de VEGF; así como administración de un antagonista de DII4 y uno o más agentes adicionales en su propia formulación de dosificación farmacéutica separada. Por ejemplo, un antagonista de DII4 y un agente citotóxico, un agente quimioterapéutico o un agente inhibidor del crecimiento pueden administrarse al paciente juntos en una composición de dosificación sencilla tal como una formulación combinada, o cada agente puede administrarse en una formulación de dosificación separada. Cuando se usan formulaciones de dosificación separadas, puede administrarse una proteína de fusión para su uso de acuerdo con la invención y uno o más agentes adicionales simultáneamente, o en momentos escalonados por separado, es decir secuencialmente.

55 Un "agente quimioterapéutico" es un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclofosfamida (CYTOXAN®); alquil sulfonatos tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas tales como benzodopa, carbocuoona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolomelamina; mostazas de nitrógeno tales como clorambucilo, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosoureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina; antibióticos tales como aclacinomisinas, actinomomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomomicina, calicheamicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina, epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcelomicina, mitomicinas, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, aplomicina,

- potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; anti-metabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos de ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptapurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestanol, mepitioestano, testolactona; anti-adrenales tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; suministrador de ácido fólico tal como ácido folínico; aceglatona; glicósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; elfornitina; acetato de eliptinio; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxiiurea; lentinano; lonidamina; mitoguazona; mitoxantrona; mopidamol; nitracrina; pentostatina; fenamet; pirarrubicina; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; PSK®; razoxano; sizofirano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-triclorotrietilamina; uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxanos, por ejemplo paclitaxel (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.) y docetaxel (TAXOTERE®; Aventis Antony, Francia); clorambucilo; gemcitabina; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitomicina C; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina; navelbina; novantrona; tenipósido; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); ácido retinoico; esperamicinas; capecitabina; y sales, ácidos y derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores. También se incluyen en esta definición agentes anti-hormonales que actúan para regular o inhibir la acción hormonal en tumores tales como anti-estrógenos incluyendo por ejemplo tamoxifeno, raloxifeno, 4(5)-imidazoles inhibidores de aromatasa, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY 117018, onapristona y toremifeno (Fareston); y anti-andrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolide, y goserelina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.
- Un "agente inhibidor del crecimiento" cuando se usa en este documento se refiere a un compuesto o composición que inhibe el crecimiento de una célula, especialmente una célula cancerosa *in vitro* o *in vivo*. Los ejemplos de agentes inhibidores de crecimiento incluyen agentes que bloquean la progresión del ciclo celular (en un lugar distinto de la fase S), tales como agentes que inducen detención de G1 y detención de la fase M. Los bloqueadores de fase M clásicos incluyen las vincas (vincristina y vinblastina), TAXOL® e inhibidores de topo II tales como doxorubicina, epirubicina, daunorubicina, etopósido y bleomicina. Los agentes que detienen G1 también se extienden a detención de fase S, por ejemplo, agentes alquilantes de ADN tales como tamoxifeno, prednisona, dacarbazina, mecloretamina, cisplatino, metotrexato, 5-fluorouracilo y ara-C.

Ejemplos

- Los siguientes ejemplos se exponen para proporcionar a los expertos habituales en la materia una descripción y divulgación completa de cómo preparar y usar los métodos y composiciones de la invención, y no se pretende que limiten el alcance de lo que los inventores consideran su invención. Se han realizado intentos de asegurar la precisión con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero deberían tenerse en cuenta ciertos errores y desviaciones experimentales. A no ser que se indique de otro modo, las partes son partes en peso, el peso molecular es peso molecular medio, la temperatura está en grados centígrados y la presión es atmosférica o cercana.

Ejemplo 1: Dirección al gen DII4 en ratones.

- Dirección génica. Se usó tecnología Velocigene™ (Valenzuela *et al.* (2003) Nat. Biotechnol. 21: 652-9) para generar una delección precisa e intercambio de la región codificante de DII4, que se extiende desde el codón de inicio hasta el de terminación (correspondiente a una región de 8,1 kB que comprende todo los exones codificantes e intrones intermedios), con el gen indicador de β-galactosidasa así como un casete de selección de neomicina. Brevemente, se modificó un cromosoma artificial de bacteria (BAC) que contenía la región codificante de DII4 de 8,1 kb y 140 Kb de secuencias flanqueantes (clon 475d4 de una biblioteca de BAC 129/SvJ obtenida de Incyte Genomics) para generar un vector de dirección basado en BAC que después se linealizó y se usó como un vector de dirección para reemplazar el gen de DII4 en células madre embrionarias de ratón (ES) F1H4 (híbrido C57BU6:129). Las células madre embrionarias correctamente dirigidas se identificaron usando el ensayo de pérdida de alelo nativo (LONA) (Valenzuela *et al.* (2003) mencionado anteriormente). Se usaron dos líneas de ES dirigidas correctamente independientes para generar ratones macho quiméricos que eran transmisores completos de esperma derivado de ES. Después las quimeras se reprodujeron con hembras C57BU6 y/o ICR para generar ratones o embriones F1, que se genotiparon por ensayos de LONA y ensayos histoquímicos de β-galactosidasa. Los ratones derivados de ambas líneas de ES se comportaron de forma idéntica, y se usaron datos agrupados de ambos clones para estadística.

- Resultados. La dirección del gen DII4 en ratones dio como resultado letalidad embrionaria y graves defectos vasculares, incluso en ratones marcados en un único alelo (véase Gale *et al.* (2004) Proc Natl Acad Sci USA 101: 15949-15954).

- Implantaciones tumorales. Se implantaron por vía subcutánea células de carcinoma de pulmón de Lewis (ATCC) en el flanco de ratones quiméricos para DII4, se recogieron después de 16 días, se cortaron en secciones de 80

micrómetros y se tiñeron con respecto a CD31/PECAM o β -galactosidasa como se ha descrito (Holash *et al.* (2002) Proc Natl. Acad. Sci. USA 99: 11393-8).

5 Tinción de PECAM e indicadora. Se realizó tinción de embriones montados completos, así como secciones tisulares de embriones y adultos como se ha descrito previamente para CD31/PECAM para definir el endotelio vascular y para β -galactosidasa para visualizar el producto del gen indicador de Dll4 (Gale *et al.* (2004) PNAS 101: 15949-54).

Ejemplo 2. Construcción de Dll4-Fc y estudios de xenoinjerto de ratón.

10 Construcción de Dll4-Fc (-TM). Se construyó una secuencia de ácido nucleico que tenía 2297 nucleótidos correspondiente al dominio extracelular de Dll4 de ratón (SEC ID N°: 3) sin el dominio transmembrana (-TM), con un dominio Fc humano. La secuencia de aminoácidos codificada tenía 765 aminoácidos incluyendo la proteína de Dll4 (SEC ID N°: 18) y un peso molecular de aproximadamente 85 kDa.

15 La Figura 1 muestra que la sobreexpresión de Dll4-Fc por células tumorales C6 dio como resultado tumores C6 más pequeños (media \pm DT).

20 Ingeniería retroviral de células tumorales para sobreexpresar Dll4-Fc. Se infectaron células tumorales de glioma de rata C6 (ATCC) con retrovirus para sobreexpresar la proteína verde fluorescente (GFP) y Dll4-Fc soluble; las células infectadas solamente con GFP se usaron como controles. Las células se separaron por FACS con respecto a fluorescencia de GFP dos veces.

25 Dll4-Fc suministrado por retrovirus. Se implantaron 10^6 células/ratón por vía subcutánea en el flanco derecho afeitado de ratones SCID/CB17 macho (8-10 semanas de edad) con células C6 modificadas por ingeniería retroviral con GFP o Dll4-Fc.

30 Mediciones del volumen tumoral: Después de que los tumores se hicieran palpables, se registraron las mediciones de tamaño cada tres días usando un calibrador (tamaño = $(\text{longitud} \times \text{anchura}^2)/2$). Una vez que se habían sacrificado los animales, se obtuvieron mediciones *ex vivo* con calibradores y se calculó el volumen usando la fórmula longitud x anchura x altura).

35 Histología tumoral. De doce a dieciséis días después de la implantación de células tumorales, los tumores se recogieron y se procesaron para análisis histológico o de expresión. Los tumores se cortaron en secciones de 80 μm , se tiñeron con anticuerpos para CD31/Pecam-1 seguido de reacción de peroxidasa-DAB, y se contratiñeron con pironina Y. Se realizó análisis morfométrico de los vasos usando el programa de análisis de imágenes NIH 1.62.

40 Transferencia de Northern y PCR en tiempo real. Se preparó ARN total de tejido tumoral usando el reactivo Trizol (Life Technologies, Grand Island, NY). El ARN (10 mg) se separó en geles de agarosa al 1,2%, se transfirió a una membrana de nylon y se inmovilizó por reticulación de UV. Después de prehibridación, se añadieron sondas específicas para gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) o Dll4 marcado con ^{32}P , y los filtros se hibridaron a 42 °C durante una noche. Se realizaron lavados rigurosos por protocolos convencionales (un lavado de tampón SSPE 0,5 X seguido de dos lavados con tampón SSPE 0,2 X realizado a 55 °C durante 30 minutos cada uno). Se obtuvo una autorradiografía después de 48 horas de exposición a película de rayos x con pantallas intensificadoras. Además, se analizó la expresión específica de tejido en reacciones separadas usando la química de PCR en tiempo real Taqman® (Applied Biosystems, Foster City, California) y sistema de detección con los pares de cebadores y sondas marcadas específicas para Dll4, los receptores Notch 1 y 4 y dianas cadena abajo de Notch, Hes1, Hey2, HeyL y Nrarp. Se obtuvo el número de ciclos necesario para alcanzar el umbral para amplificación del ADNc (o valores de CT), y se normalizó a una referencia constitutiva (GAPDH) (= 2-DCT). Los resultados se normalizaron a una línea basal, el control de vehículo para el experimento, que proporciona el cambio de abundancia de ARNm relativo (= 2DDCT) y se expresa como la media \pm E.T.M. para al menos 4 muestras separadas procesadas por triplicado (Livak y Schmittgen (2001) Methods. Dic; 4:402-8).

55 Análisis de RT-PCR cuantitativa para Dll4, HeyL, Nrarp y Hes1. El análisis de RT-PCR se realizó como se ha descrito (Livak *et al.* (2001) Methods 24:402-8). Los resultados se expresan como la relación de la cantidad del ARN de interés y la cantidad de ARN de control (GAPDH) como se ha descrito (Daly *et al.* (2004) Genes Dev. 18:1060-71) en un 7900HT de Applied Biosystems usando cebadores y sondas específicos como sigue: cebadores de Dll4: Dll4-1574F (SEC ID N°: 9) y Dll4-1644R (SEC ID N°: 10) y sonda de Dll4: Dll4-1594T (SEC ID N°: 11); cebadores de HeyL: mHeyL-135F (SEC ID N°: 12) y mHeyL-216R (SEC ID N°: 13) y sonda HeyL: mHeyL-154T (SEC ID N°: 14); cebadores de Nrarp: mNrarp-350F (SEC ID N°: 15) y mNrarp-418R (SEC ID N°: 16) y sonda de Nrarp: mNrarp-373T: (SEC ID N°: 17) y mHes1 (ID Mm00468601 m1, Hes1) (ABI, servicios de ensayo a petición). Los ADNc derivaron de tumores de C6-Dll4 y Dll4-Fc.

65 Ensayo *in vitro* para determinar si el Dll4-Fc secretado expresado en células C6 puede activar señalización de Notch en HUVEC. Se sembraron 4×10^5 células HUVEC en una placa de 60 mm para obtener cultivos confluyentes a ~ 50% al día siguiente. Al día siguiente, se sembraron 8×10^5 células C6 sobre las HUVEC. Después de 24 horas de cultivo conjunto, las células se pasaron por raspado a 1 ml de reactivo Tri y se preparó ARN total como se ha

descrito previamente. Se analizaron las muestras por Taqman® usando sondas de Hes1, HeyL y Nrarp específicas humanas.

Ejemplo 3. Efecto de la administración sistémica de Dll4-Fc.

5 Proteína de Dll4-Fc. Se transfectó un plásmido que codificaba la construcción de ADNc de Dll4-Fc descrita anteriormente en células CHO, y se purificó la proteína secretada del sobrenadante. Se purificó proteína Dll4-Fc y se usó para tratar ratones portadores de tumores mediante inyección subcutánea (10 mg/kg, 3 por cada semana).

10 Resultados. Se realizaron experimentos en los que se implantaron tumores HT1080 en ratones como se ha descrito anteriormente el día 0. Comenzando el día 0 o día 15 (a 100 mm³ de tamaño), los ratones se trataron con proteína Dll4-Fc purificada (10 mg/kg, 3 por cada semana) o proteína de control. Otros grupos se trataron con antagonista de VEGF (bloqueador de VEGF, SEC ID N°: 19) a una dosis de 25 mg/kg, tres veces por semana. Los resultados se muestran en la Figura 2. En tumores tratados desde el día 0 (lado izquierdo), tanto el antagonista de VEGF como
15 Dll4-Fc fueron eficaces en el control del crecimiento tumoral. En tumores tratados a partir de 100 mm³ de tamaño (lado derecho), Dll4-Fc fue eficaz de nuevo en el control del crecimiento tumoral, y fue de hecho más eficaz que el antagonista de VEGF.

20 Quantificación de Dll4-Fc y hFc en circulación. Se analizaron muestras de suero obtenidas de ratones tratados con GFP o Dll4-Fc portadores de tumores por ensayo de ELISA. Se realizó ELISA recubriendo placas con hFc como el anticuerpo de captura, bloqueado con solución de bloqueo 1 0,2% (Tropix) y usando hFc conjugado con peroxidasa como un anticuerpo indicador. Se incluyeron proteínas hFc y Dll4-Fc purificadas como curvas patrón.

25 Tratamiento con inhibidor de VEGF. Se administró bloqueador de VEGF (R1 R2) (Regeneron Pharmaceuticals) (SEC ID N°: 19) o placebo (PBS/glicerol 5% v/v) por vía subcutánea a ratones que portaban tumores de 100 mm³ a una dosis de 25 mg/kg cada tres días hasta el final del estudio.

30 Suministro de Dll4-Fc por adenovirus. Otros experimentos no mostrados han usado adenovirus para suministrar Dll4-Fc por vía sistémica. Se implantaron células tumorales C6, HT1080 o MMT por vía subcutánea en el flanco derecho afeitado de ratones SCID/CB17 macho (8-10 semanas de edad). Después de 24 horas, se inyectaron 1 x 10⁹ UFP de adeno-hFc o adeno-Dll4-Fc en la vena yugular de los ratones. Se vieron resultados similares en el crecimiento tumoral con adeno-Dll4-Fc que con el tratamiento sistémico con proteína Dll4-Fc.

Ejemplo 4. Efecto de los anticuerpos policlonales para Dll4-Fc en tumores HT1080.

35 Se realizaron experimentos en los que se implantaron tumores HT1080 en ratones el día 0 como se ha descrito anteriormente. Cuando los tumores alcanzaron 100 mm³ (aproximadamente el día 15), los ratones se trataron tres veces por semana con Dll4-Fc solamente (25 mg/kg), anticuerpo de control (Ig de conejo) o anticuerpos policlonales anti-Dll4 empobrecidos con respecto a unión con Fc humano (10 mg/kg). Los resultados muestran el tamaño tumoral
40 en cada grupo de tratamiento ± D.T. (Figura 3) Los anticuerpos de Dll4 fueron altamente eficaces contra crecimiento tumoral de HT1080 y tuvieron una eficacia similar a la vista con Dll4-Fc. Estos resultados muestran que un bloqueador específico de Dll4 es un agente antitumoral potente.

45 Se realizaron ensayos de resonancia de plasmón superficial (BiaCore®) que confirmaban que los anticuerpos de Dll4 eran capaces de bloquear la unión de Dll4 con receptor Notch. Se recubrió la superficie de la microplaca con Notch 1 y se incubó Dll4-Fc con cantidades crecientes de anticuerpo anti-Dll4 policlonal de conejo (descrito anteriormente). Los resultados en la Figura 4 muestran que la cantidad creciente de anticuerpo de Dll4 bloqueó de forma creciente la unión de Dll4-Fc con Notch1 (control = Dll4-Fc + anticuerpo policlonal de conejo no específico).

50 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc

<120> Métodos terapéuticos para inhibir el crecimiento tumoral con antagonistas de DLL4

55

<130> 2071A-WO

<140> A asignar

<141> 15-12-2006

60

<150> 60/751.176

<151> 16-12-2005

<150> 60/771.276

65 <151 > 08-02-2006

ES 2 400 666 T3

<150> 60/788.456
<151> 31-03-2006

5 <150> 60/830.543
<151> 12-07-2006

<160> 26

10 <170> FastSEQ para windows versión 4.0

<210> 1
<211> 2058
<212> ADN
<213> Homo sapiens

15 <400> 1

```

atggcggcag cgteccggag cgcctctggc tgggcgctac tgctgctggg ggcactttgg 60
cagcagcgcg cggccgggct cggcgtcttc cagctgcagc tgcaggagtt catcaacgag 120
cgcgcgctac tggccagtgg gcggccttgc gagcccggtt gccggacttt ctteccggtc 180
tgcttaagc acttccaggc ggtcgtctcg cccggacctt gcaccttcgg gaccgtcttc 240
acgcccgtat tgggcaccaa ctccctcgct gtccgggacg acagttagcg cggggggcgc 300
aacctctctc aactgcccct caatttcaac tggccgggta ccttctcgct catcatcgaa 360
gcttggcacg cggcaggaga cgacctgggg ccagaggcct tggcaccaga tgcactcacc 420
agcaagatcg ccatccaggg ctccctagct gtgggtcaga actggttatt ggatgagcaa 480
accagcacc cacaaggct gcgctactct táccgggtca tctgcagtga caactactat 540
ggagacaact gctcccgcct gtgcaagaag cgcaatgacc acttcggcca ctatgtgtgc 600
cagccagatg gcaacttgtc ctgcctgccc ggttggactg gggaatattg ccaacagcct 660
atctgtcttt cgggctgtca tgaacagaat ggctactgca gcaagccagc agagtgcctc 720
tgccgcccag gctggcaggg ccggctgtgt aacgaatgca tccccacaa tggctgtctc 780
cagggcacc gcagcactcc ctggcaatgt acttgtgat agggctgggg aggcctggtt 840
tgtgaccaag atctcaacta ctgcaccac cactcccat gcaagaatgg ggcaacgtgc 900
tccaacagtg ggcagcgaag ctacacctgc acctgtcgc caggctacac tgggtgtggac 960
tgtgagctgg agctcagcga gtgtgacagc aaccctcttc gcaatggagg cagctgtaag 1020
gaccaggagg atggotacca ctgcctgtgt cctccgggct actatggcct gcattgtgaa 1080
cacagcacc tgagctgcgc cgactcccc tgcttcaatg ggggctcctg ccgggagcgc 1140
aacagggggg ccaactatgc ttgtgaatgt ccccccaact tcaccggctc caactgagag 1200
aagaaagtgg aaaggtgca cagcaacccc tgtgcaaac ggggacagtg cctgaaccga 1260
ggtcacaagc gcatgtgccg ctgcccctct ggattcacgg gcacctactg tgaactccac 1320
gtcagctact gtgcccgtaa ccttgcgc cccgggtggc cttgccatga cctggagaat 1380
gggctcact gcacctgccc tgccggcttc tctggccgac gctgtgaggt gcggacatcc 1440
atcgatgect gtgcctcgag tccctgcttc aacagggcca cctgctacac cgacctctcc 1500
acagacacct ttgtgtgcaa ctgcccttat ggccttctgt gcagccgctc cgagttcccc 1560
gtgggcttgc cggccagctt cccctgggtg gccgtctcgc tgggtgtggg gctggcagtg 1620

```

```

ctgctggctac tgctgggcat ggtggcagtg gctgtgctggc agctgcggct tcgacggcgc 1680
gacgacggca gcaggggaagc catgaacaac ttgcccggact tcagaaagga caacctgatt 1740
cctgcccgcc agcttaaaaa cacaaccag aagaaggagc tggaaagtga ctgtggcctg 1800
gacaagtcca actgtggcaa acagcaaac cacacattgg actataatct ggcccaggg 1860
cccctggggc gggggaccat gccaggaaag tttccccaca gtgacaagag cttaggagag 1920
aaggcggccac tgcggttaca cagtgaaaag ccagagtgct ggatatcagc gatatgctcc 1980
cccagggact ccatgtacca gtctgtgtgt ttgatatacag aggagaggaa tgaatgtgtc 2040
attgccacgg aggtataa 2058

```

20 <210> 2
<211> 685
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Ala Ala Ala Ser Arg Ser Ala Ser Gly Trp Ala Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15
Val Ala Leu Trp Gln Gln Arg Ala Ala Gly Ser Gly Val Phe Gln Leu
20 25 30
Gln Leu Gln Glu Phe Ile Asn Glu Arg Gly Val Leu Ala Ser Gly Arg
35 40 45
Pro Cys Glu Pro Gly Cys Arg Thr Phe Phe Arg Val Cys Leu Lys His
50 55 60
Phe Gln Ala Val Val Ser Pro Gly Pro Cys Thr Phe Gly Thr Val Ser
65 70 75 80
Thr Pro Val Leu Gly Thr Asn Ser Phe Ala Val Arg Asp Asp Ser Ser
85 90 95
Gly Gly Gly Arg Asn Pro Leu Gln Leu Pro Phe Asn Phe Thr Trp Pro
100 105 110
Gly Thr Phe Ser Leu Ile Ile Glu Ala Trp His Ala Pro Gly Asp Asp
115 120 125
Leu Arg Pro Glu Ala Leu Pro Pro Asp Ala Leu Ile Ser Lys Ile Ala
130 135 140
Ile Gln Gly Ser Leu Ala Val Gly Gln Asn Trp Leu Leu Asp Glu Gln
145 150 155 160
Thr Ser Thr Leu Thr Arg Leu Arg Tyr Ser Tyr Arg Val Ile Cys Ser
165 170 175
Asp Asn Tyr Tyr Gly Asp Asn Cys Ser Arg Leu Cys Lys Lys Arg Asn
180 185 190
Asp His Phe Gly His Tyr Val Cys Gln Pro Asp Gly Asn Leu Ser Cys
195 200 205
Leu Pro Gly Trp Thr Gly Glu Tyr Cys Gln Gln Pro Ile Cys Leu Ser
210 215 220
Gly Cys His Glu Gln Asn Gly Tyr Cys Ser Lys Pro Ala Glu Cys Leu
225 230 235 240
Cys Arg Pro Gly Trp Gln Gly Arg Leu Cys Asn Glu Cys Ile Pro His
245 250 255
Asn Gly Cys Arg His Gly Thr Cys Ser Thr Pro Trp Gln Cys Thr Cys
260 265 270
Asp Glu Gly Trp Gly Gly Leu Phe Cys Asp Gln Asp Leu Asn Tyr Cys
275 280 285
Thr His His Ser Pro Cys Lys Asn Gly Ala Thr Cys Ser Asn Ser Gly
290 295 300
Gln Arg Ser Tyr Thr Cys Thr Cys Arg Pro Gly Tyr Thr Gly Val Asp
305 310 315 320
Cys Glu Leu Glu Leu Ser Glu Cys Asp Ser Asn Pro Cys Arg Asn Gly
325 330 335
Gly Ser Cys Lys Asp Gln Glu Asp Gly Tyr His Cys Leu Cys Pro Pro
340 345 350
Gly Tyr Tyr Gly Leu His Cys Glu His Ser Thr Leu Ser Cys Ala Asp
355 360 365

Ser Pro Cys Phe Asn Gly Gly Ser Cys Arg Glu Arg Asn Gln Gly Ala
 370 375 380
 Asn Tyr Ala Cys Glu Cys Pro Pro Asn Phe Thr Gly Ser Asn Cys Glu
 385 390 395 400
 Lys Lys Val Asp Arg Cys Thr Ser Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Gln
 405 410 415
 Cys Leu Asn Arg Gly Pro Ser Arg Met Cys Arg Cys Arg Pro Gly Phe
 420 425 430
 Thr Gly Thr Tyr Cys Glu Leu His Val Ser Asp Cys Ala Arg Asn Pro
 435 440 445
 Cys Ala His Gly Gly Thr Cys His Asp Leu Glu Asn Gly Leu Met Cys
 450 455 460
 Thr Cys Pro Ala Gly Phe Ser Gly Arg Arg Cys Glu Val Arg Thr Ser
 465 470 475 480
 Ile Asp Ala Cys Ala Ser Ser Pro Cys Phe Asn Arg Ala Thr Cys Tyr
 485 490 495
 Thr Asp Leu Ser Thr Asp Thr Phe Val Cys Asn Cys Pro Tyr Gly Phe
 500 505 510
 Val Gly Ser Arg Cys Glu Phe Pro Val Gly Leu Pro Pro Ser Phe Pro
 515 520 525
 Trp Val Ala Val Ser Leu Gly Val Gly Leu Ala Val Leu Leu Val Leu
 530 535 540
 Leu Gly Met Val Ala Val Ala Val Arg Gln Leu Arg Leu Arg Arg Pro
 545 550 555 560
 Asp Asp Gly Ser Arg Glu Ala Met Asn Asn Leu Ser Asp Phe Gln Lys
 565 570 575
 Asp Asn Leu Ile Pro Ala Ala Gln Leu Lys Asn Thr Asn Gln Lys Lys
 580 585 590
 Glu Leu Glu Val Asp Cys Gly Leu Asp Lys Ser Asn Cys Gly Lys Gln
 595 600 605
 Gln Asn His Thr Leu Asp Tyr Asn Leu Ala Pro Gly Pro Leu Gly Arg
 610 615 620
 Gly Thr Met Pro Gly Lys Phe Pro His Ser Asp Lys Ser Leu Gly Glu
 625 630 635 640
 Lys Ala Pro Leu Arg Leu His Ser Glu Lys Pro Glu Cys Arg Ile Ser
 645 650 655
 Ala Ile Cys Ser Pro Arg Asp Ser Met Tyr Gln Ser Val Cys Leu Ile
 660 665 670
 Ser Glu Glu Arg Asn Glu Cys Val Ile Ala Thr Glu Val
 675 680 685

<210> 3
 <211> 3427
 5 <212> ADN
 <213> Mus musculus
 <400> 3

ctcgcaggct aggaaccgga ggccaagagc tgcagccaaa gtcacttggg tgcagtgac 60
 tccctcacta gcccgcetga gaccctagga tttgctccag gacacgtact tagagcagcc 120
 accgcccagt cgcctcacc tggattacct accgagcat cgagcagcgg agtttttgag 180
 aaggcgacaa gggagcagcg tcccaggggg aatcagcttt tcaggaactc ggctggcaga 240
 cgggacttgc gggagagcga catccctaac aagcagattc ggagtcctcg agtggagagg 300
 acacccaag ggatgacgcc tgcgtcccgg agcgcctgic gctgggcgct actgctgctg 360
 ggggtactgt ggccgcagca gcgcgctgcg ggtcccggca tcttccagct gcggctgcag 420
 gagttcgtca accagcgcgg tatgctggcc aatgggcagt cctgcgaacc gggctgcccg 480
 actttcttcc scattttgct taagcacttc caggcaacct tctccgagg accctgcacc 540
 tttggcaatg totccacgcs ggtattgggc accaactcct tcgtcgtcag ggacaagaat 600
 agcggcagtg gtcgcaacce tctgcagttg cccctcaatt tcacctggcc gggaaacctc 660
 tcaactcaaca tccaagcttg gcacacaccg ggagatgacc tgcggccaga gacttcgcca 720
 ggaaactctc tcatacgcca aatcatcate caaggtcttc ttgctgtggg taagatttgg 780

10

```

cgaacagacg agcaaaatga cacccctcacc agactgagct actottaaccg ggtcatctgc 840
agtgacaact actatggaga gagctgttct cgectatgca agaagcgcca tgaccacttc 900
ggacattatg agtgccagcc agatggcagc ctgtectgcc tgccgggctg gactgggaag 960
tactgtgacc agcctatatg tctttctggc tgtcatgagc agaatgggta ctgcagcaag 1020
ccagatgagt gcatctgccc tccagggttg cagggtcgcc tgtgcaatga atgtatcccc 1080
cacaatggct gtcgtcatgg cacctgcagc atccccctgg agtgtgcctg cgtatgagga 1140
tggggaggtc tgttttgtga ccaagatctc aactactgta ctaccactc tccgtgcaag 1200
aatggatcaa cgtgttccaa cagtgggcca aagggttata cctgcacctg tctcccaggc 1260
tacactggtg agcactgtga gctgggactc agcaagtgtg ccagcaaccc ctgtcgaat 1320
gggtggcagct gtaaggacca ggagaatagc taccactgcc tgtgtcccc aggctactat 1380
ggccagcact gtgagcatag taccttgacc tgtgcccact caccctgott caatgggggc 1440
tcttgcccgg agcgaacca ggggtccagt tatgcccctg aatgcccccc caactttacc 1500
ggctctaact gtgagaagaa agtagacagg tgtaccagca acccgtgtgc caatggaggc 1560
cagtgcctga acagaggtcc aagccgaacc tggccctgcc ggccctggatt cacagacc 1620
cactgtgaac tgcacatcag cgattgtgcc cgaagtccct gtgcccacgg gggcacttgc 1680
cacgatctgg ayaatgggccc tgtgtgcacc tgccccctg gcttctctgg cagycctgc 1740
gaggtgcgga taacccacga tgcctgtgcc tccggacct gcttcaatgg gggccactgc 1800
tacactggcc tctccccaaa caacttcgct tgcactgtc tctatggctt tgtggcagc 1860
cgctgagagt ttcccgtggg cttgccaccc agcttcccc gggtagctgt ctctgctggc 1920
gtggggctag tggtagctg ggtgtctgtg gtcatggtgg tagtggctgt gggccagctg 1980
cggcttcgga ggcccgatga ccagagcagg gaagccatga acaatctgtc agacttccag 2040
aaggacaacc taatccctgc ccccagctc aaaaacacaa accagaagaa gtagctgaa 2100
gtggactgtg gtctggacaa gtccaattgt ggcaaacctg agaaccacac attggaetac 2160
aatctagccc cgggactcct aggaacggggc agcatgctg ggaagtatcc tcacagtga 2220
aagagcttag gagagaaggt gccacttcgg ttacacagtg agaagccaga gtgtcgaata 2280
tcagccattt gctctcccag ggactctatg taccaatcag tgtgtttgat atcagaagag 2340
aggaaccagc gtgtgatgct cacagaggtc taaggcagga gectactcag acaccagct 2400
ccggcccagc agctgggccc tccctctgca ttgrttacat tgcatoctgt atgggacac 2460
tttagtatgc acagtgtgc tctgcccagg aggagggaaat ggcatgaact gaacagactg 2520
tgaaccccgc aagagtgc caagctctgc acactccag gagtctgctt ggcttcagat 2580
ggcagcccc gccaaaggaa cagagttagg gagttagagg agcatcagtt gagctgatat 2640
ctaaggtgccc tctcgaactt ggacttgctc tgccaacagt ggtcatcatg gagctcttga 2700
ctgttctcca gagagtggca gtggcccctg tgggtcttgg cgctgctgta gctcctgtg 2760
gcctctgtat ttccaaagt cctttgcccc gactccatcc tcacagctgg gccccaatga 2820
gaaagcagag agggagcttg caaaggatag gctccccga ggcagaacag ccttggagtt 2880
tggcattaag caggagctac tctgcaggtg aggaaagccc gaggggggga cacgtgtgac 2940
tctgcccctc aaccccagca ggtgggggtc cacctgcagc etctaggcaa gacttggctc 3000
ttcccctggc cctggtgccc ctgggctcat tggaaacagat gggcttaggg cagcggcctt 3060
ttgcccagca ggggtacagg cctcactggg gagctcaggg ccttcatgct aaaotoccaa 3120
taagggagat ggggggaagg gggctgtggc ctaggccctt cctcctcctc caccatttt 3180
tgggcccctg agcctgggct ccaccagtgc ccactgttgc cccgagacca accttgaagc 3240
cgattttcaa aatcaataa tatgaggttc tgtttgtag tttattttgg satctagat 3300
cttgataatt taagaatcag aagcaactgc cttctacat tttataacat tattttgtat 3360
ataatgtgta tttataatat gaaacagatg tgtacataaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3420
aaaaaa 3427

```

<210> 4
 <211> 686
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 4

```

Met Thr Pro Ala Ser Arg Ser Ala Cys Arg Trp Ala Leu Leu Leu Leu
 1                    5                    10                    15
Ala Val Leu Trp Pro Gln Gln Arg Ala Ala Gly Ser Gly Ile Phe Gln
 20                    25                    30
Leu Arg Leu Gln Glu Phe Val Asn Gln Arg Gly Met Leu Ala Asn Gly
 35                    40                    45
Gln Ser Cys Glu Pro Gly Cys Arg Thr Phe Phe Arg Ile Cys Leu Lys
 50                    55                    60
His Phe Gln Ala Thr Phe Ser Glu Gly Pro Cys Thr Phe Gly Asn Val

```

10

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

Pro Asp Asp Glu Ser Arg Glu Ala Met Asn Asn Leu Ser Asp Phe Gln
 565 570 575
 Lys Asp Asn Leu Ile Pro Ala Ala Gln Leu Lys Asn Thr Asn Gln Lys
 580 585 590
 Lys Glu Leu Glu Val Asp Cys Gly Leu Asp Lys Ser Asn Cys Gly Lys
 595 600 605
 Leu Gln Asn His Thr Leu Asp Tyr Asn Leu Ala Pro Gly Leu Leu Gly
 610 615 620
 Arg Gly Ser Met Pro Gly Lys Tyr Pro His Ser Asp Lys Ser Leu Gly
 625 630 635 640
 Glu Lys Val Pro Leu Arg Leu His Ser Glu Lys Pro Glu Cys Arg Ile
 645 650 655
 Ser Ala Ile Cys Ser Pro Arg Asp Ser Met Tyr Gln Ser Val Cys Leu
 660 665 670
 Ile Ser Glu Glu Arg Asn Glu Cys Val Ile Ala Thr Glu Val
 675 680 685

<210> 5
 <211> 9312
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 <400> 5

atgccgccgc tcctggcgcc cctgctctgc ctggcgctgc tgccccgctt egccgcacga 60
 ggccccgat gctcccagcc cggtagagcc tgccctgaatg gcgggaagtg tgaagcggcc 120
 aatggcacgg aggcctgctg ctgtggcggg gcccttcgtgg gcccgcgatg ccaggacccc 180
 aaccctgccc tcagcacccc ctgcaagaac gccgggacat gccacgtggt ggaccgcaga 240
 ggcgtggcag actatgcctg cagctgtgcc ctgggtttct ctgggcccct ctgcctgaca 300
 cccctggaca atgcctgcct caccaacccc tgccgcaacg ggggcacctg cgaacctgtc 360
 acgctgacgg agtacaagtg ccgctgcccg cccggctggt cagggaaatc gtgccagcag 420
 getgacccgt gcgectcaa cccctgccc aacggtgccc agtgccctgcc cttogagccc 480
 tctacatct gccactgccc acccagcttc catggcccga cctgccggca ggatgtcaac 540
 gagtggggcc agaagcccgg gctttgccc cagggaggca cctgccaca cgaggtcggc 600
 tctaccgct gcgtctgccg cgcaccccac actggcccga actgcgagcg gccctacgtg 660
 cctgcagcc cctgcctctg ccagaacggg ggcacctgce gccccacggg cgacgtcac 720
 cagagtgctg cctgcctgce aggettcaac ggcagaact gtgaggaaaa tatcgacgat 780
 tgtccaggaa acaactgcaa gaacgggggt gccctgtgtgg acggcgtgaa cacctacaac 840
 tgccgctgce cgcacagatg gacaggtcag tactgtaccg aggatgtgga cgagtgcag 900
 ctgatgccaa atgcctgcca gaacggcggg acctgccaca acacccaagg cggctacaac 960
 tgctgtgtg tcaacgctg gactggtag gactgcagcg agaacattga tgactgtgce 1020
 agcgcgcct gcttccacgg cgcacactgc catgaccgtg tggcctcctt ctactgcgag 1080
 tgtccccatg gccgcacag tctgctgtgc cacctcaacg acgcatgcat cagcaacccc 1140
 tgtaacgagg gctccaactg cgacaccaac cctgtcaatg gcaaggccat ctgcacctgc 1200
 cctcgggggt acacgggccc ggcctgcage caggacgtgg atgagtgtc gctgggtgcc 1260
 aaccctgcg agcatgcgg caagtgcctc aacacgctgg gctccttcga gtgccagtgt 1320
 ctgcagggct acacgggccc ccgatgagag atcgacgtca acgagtgcgt ctgaaacccc 1380
 tgccagaacc cgcaccctg cctggaccag attggggagt tccagtgcct ctgcctgccc 1440
 ggtacgagg gtgtgcactg cgaggteaac acagacgagt gtgccagcag cccctgctctg 1500
 cacaatggcc gctgcctgga caagatcaat gaggttccagt gcgagtgcce cacgggcttc 1560
 actgggcaatc tgtgccaagta cgatgtggac gagggtgcca gcaccccctg caagaatggt 1620
 gccaaagtgc tggacggacc caacacttac acctgtgtgt gcacgggaag gtacacgggg 1680
 acgcaactgc aggtggacat cgatgagtg gaccccagcc cctgccaacta cggctcctgc 1740
 aaggacggcg tcgccacctt cacctgcttc tgccgcccag gctacacggg ccaccactgc 1800
 gagaccaaca tcaacgagtg ctccagccag cctgcccgc accgggggca cctgccaggac 1860
 cgcgacaacg cctacctctg cttctgcctg aaggggacca caggacccaa ctgcgagatc 1920
 aacctggatg actgtgccag cagcccctgc actcgggca cctgtctgga caagatcgat 1980
 ggctacgagt gtgcctgtga gccgggctac acagggagca tgtgtaacat caacatcgat 2040
 gagggtgccc gcaaccctg ccacaacggg ggcacctgcg aggacggcat caatggcttc 2100
 acctgcccgt gcccccaggg ctaccacgac cccacctgccc tgtctgaggt caatgagtg 2160
 aacagcaacc cctgcgtcca cggggcctgc cgggacagcc tcaacgggta caagtgcgac 2220

tgtgacctg	ggtggagtgg	gaccaactgt	gacatcaaca	acaatgagtg	tgaatccaac	2280
ccttgtgtca	acggcggcac	ctgcaaagac	atgaccagtg	gctacgtgtg	cacctgccgg	2340
gagggcttca	gcygtcccaa	ctgccagacc	aacatcaacg	agtgtgcgtc	caaccatgtc	2400
ctgaaccagg	gcacgtgtat	tgacgacgtt	gcccgggtaca	agtgaacttg	cctgctgccc	2460
tacacaggtg	ccacgtgtga	ggtgggtgtg	gccccgtgtg	ccccagccc	ctgcagaaac	2520
ggcggggagt	gcaggcaatc	cgaggactat	gagagcttct	cctgtgtctg	ccccacgggc	2580
tggcaagcag	ggcagacctg	tgaggtcgac	atcaacgagt	gcgttctgag	cccgtgccgg	2640
cacggcgcac	cctgccagaa	cacccacggc	ggctaccgct	gccactgccca	ggcggctac	2700
agtggggcga	actgcgagac	cgacatcgac	gactgceggc	ccaaccctgt	tcacaacggg	2760
ggctcctgca	cagacggcat	caacacggcc	ttctgcgact	gcttgcccgg	cttccggggc	2820
actttctgtg	aggaggacat	caacgagtgt	gccagtgacc	cctgccgcaa	cggggccaac	2880
tgcacggact	gcgtggacag	ctacacgtgc	acctgcccgg	caggettcag	cgggatccac	2940
tgtgagaaca	acacgctcga	ctgcacagag	agctccctgt	tcaacgggtg	cacctgcgtg	3000
gacggcatca	actcgttcac	ctgcctgtgt	ccacccggct	tcacgggcag	ctactgccag	3060
cacgatgtca	atgagtgcga	ctcacagccc	tgcttgcctg	gcggcacc tg	tcaggacggc	3120
tgcggctcct	acaggtgcac	ctgccccag	ggctacactg	gcccacactg	ccagaacctt	3180
gtgcactggg	gtgactcctc	gccctgcaag	aacggcggca	aatgctggca	gaccacacc	3240
cagtaccgct	gcgagtgcgc	cagcggctgg	accggccttt	actgcgacgt	gcccagcgtg	3300
tcctgtgagg	tggctgcgca	gcgacaaggt	gttgacgttg	cccgcctgtg	ccagcatgga	3360
gggctctgtg	tggacgcggg	caacacggcc	cactgcccgt	gccaggcggg	ctacacaggc	3420
agctactgtg	aggacctggg	ggacgagtgc	tcaccagccc	cctgccagaa	cggggccacc	3480
tgcacggact	acctgggcgg	ctactcctgc	aaagtgcgtg	ccggctacca	cgggggtaac	3540
tgctctgagg	agatcgacga	gtgctcctcc	caacccctgc	agaacggggg	cacctgcctc	3600
gacctcccca	acacctacaa	gtgctcctgc	ccacggggca	ctcaggggtg	gactgtgag	3660
atcaacgtgg	acgactgcaa	tccccctgt	gaccccgtgt	cccggagccc	caagtgcctt	3720
aacaacggca	cctgcgtgga	ccaggtgggc	ggctacagct	gcacctgcc	gccgggcttc	3780
gtgggtgagc	gctgtgaggg	ggatgtcaac	gagtgcctgt	ccaatccc tg	cgacgccctg	3840
ggcaccaccga	actgcgtgca	gogcgtcaat	gacttccact	gcgagtgcct	tgctggtcac	3900
accgggcgcc	gctgcgagtc	cgatcatcaat	ggctgcaaa	gcaagccc tg	caagaatggg	3960
ggcaccctgg	ccgtggcctc	caacacggcc	cgcgggttca	cttgcaagtg	ctcggggg	4020
ttcgaggggc	ccacgtgtga	gaatgacgct	cgtacctgcg	gcagcctgcg	ctgcctcaac	4080
ggcggcacat	gcatctccgg	cccgcgcagc	cccacctgcc	tgtgcctggg	ccccttcacg	4140
ggccccgaat	gccagtcccc	ggccagcagc	ccctgcctgg	gcygcaacc	ctgctacaac	4200
caggggacct	gtgagcccac	atccgagagc	cccttctacc	gttgccctgtg	cccggccaaa	4260
ttcaacggcc	tcttgtgcca	catcctggac	tacagcttcg	ggggtggggc	cgggcgcgac	4320
atccccccgc	cgctgacoga	ggagggcgtc	gagctgcccg	agtgccagga	ggacgcgggc	4380
aaacaaggtct	gcagcctgca	gtgcaacaac	cacgcgtgcg	gctgggacgg	cgggtgactgc	4440
tcctcacaact	tcaatgaccc	ctggaagaac	tgcacgcagt	ctctgcagtg	ctggaagtac	4500
ttcagtgcag	gccactgtga	cagccagctgc	aaotcagccg	getgcctctt	cgacggcttt	4560
gactgcccag	gtgcggaagg	ccagtgcaac	cccctgtacg	accagtagtg	caaggaccac	4620
ttcagggcag	ggcactgcga	ccagggctgc	aacagcgcgg	agtgcgagtg	ggacgggctg	4680
gactgtgcgg	agcatgtacc	cgagagggctg	gcyggccggca	cgctgggtgg	gggtggtgctg	4740
atgcccggcg	agcagctgog	caacagctcc	ttccacttcc	tgccgggagct	cagcccggctg	4800
ctgeaacacca	acgtgggttt	caagcgtgac	gcacacggcc	agcagatgat	cttcccctac	4860
tacggcccgcg	aggaggagct	gcgcaagcac	ccatcaagc	gtgcccgcga	gggctgggac	4920
gcacctgacg	ccctgctggg	ccaggtgaag	gcctcgtgct	tcctgggtgg	cagcgagggt	4980
ggcggggcgg	ggagggagct	ggaccccatg	gacgtcccg	gctccatcgt	ctacctggag	5040
attgacaacc	ggcagtgtgt	gcagggcctcc	tcgcaagtgt	tcagagtgct	caccgacgtg	5100
gcccatttcc	tgggagcgt	cgctcgtgtg	ggcagcctca	acatcccc ta	caagatcgag	5160
gcogtgcaga	gtgagaccgt	ggagccgccc	cgccgggcgc	agctgcactt	catgtactgt	5220
gcccggggccg	cccttctgtc	tcctgtcttc	gtgggctgcg	gggtgctgct	gtcccgcaag	5280
cgccggggccg	agcatggcca	gctctgggtc	cctgagggct	tcaaagtgtc	tgaggccagc	5340
agaagaagc	ggcgggagcc	cctcggcgag	gactccgtgg	gctcaagcc	cctgaagaac	5400
gcttcagacg	gtgcccctcat	ggacgacaac	cagaatgagt	ggggggacga	ggacctggag	5460
accaagaagt	tcgggttcga	ggagcccgtg	gttctgctg	acctggacga	ccgacagac	5520
caccggcagc	ggactcagca	gcacctggat	gccgctgacc	tgcyatgtc	tgcatggcc	5580
cccacaccgc	cccaggggtga	ggttgacgcc	gactgcattg	acgtcaatgt	ccggggcct	5640
gatggcttca	ccccgctcat	gatccgctcc	tgacgggggg	gcygctggga	gacgggcaac	5700
agcyaggaag	aggaggacgc	gcccggcgtc	atctccgact	tcactacca	ggggccagc	5760
ctgcacaacc	agacagaccg	caggggcgag	accgcttgc	acctggccgc	ccgctactca	5820
cgctctgagc	ccgccaagcg	cctgctggag	gccagcgcag	atgccaacat	ccaggacaac	5880

```

atgggcccga ccccgtgca tgcggctgtg tctgcccagc cacaagggtg cttccagatc 5940
ctgatccgga accgagccac agacctggat gcccgcatgc atgatggcac gacgccactg 6000
atcctggctg cccgectggc cgtggagggc atgctggagg acctcatcaa ctcacacgcc 6060
gacgtcaacg ccgtagatga cctgggcaag tccgccctgc actgggcccg cgccgtgaac 6120
aatgtggatg ccgcagttgt gctcctgaag aacggggcta acaaagatat gcagaacaac 6180
agggagggaga caccctgtt tctggccgcc cgggagggca gctacgagac cgccaaggtg 6240
ctgctggacc actttgccaa cggggacatc acggatcata tggaccgctt gccgcgcgac 6300
atcgcacagg agcgcattga tcacgacatc gtgagggctg tggacgagta caacctgggtg 6360
cgcagcccgc agctgcacgg agccccgctg gggggcacgc ccacctgtc gcccccgtc 6420
tgctcggcca acggttacct gggcagcctc aegcccggcg tgcagggcaa gaaggtccgc 6480
aagcccagca gcaaaggcct ggcctgtgga agcaaggagg ccaaggacct caaggcacgg 6540
aggaagaagt cccaggacgg caagggtgtc ctgctggaca gctccggcat gctctcgccc 6600
gtgactccc tggagtccc ccattggctac ctgtcagacg tggcctcgcc gccactgctg 6660
ccctcccgt tccagcagtc tccgtccgtg cccctcaacc acctgcctgg gatgccgac 6720
accacactgg gcatcgggca cctgaactgt gggccaagc cegagatggc ggcgctgggt 6780
ggggggggcc ggctggcctt tgagactggc ccacactgtc totcccactt gectgtggcc 6840
tctggcacca gcaaccgtct gggctccagc agcggagggg cectgaattt cactgtgggc 6900
gggtccacca gtttgaatgg tcaatgctgag tggctgtccc gctgcagagc cggcatggtg 6960
cogaaccaat acaacctct cggggggagt gtggcaccag gcccccctgag cacacaggcc 7020
ccctcccgtc agcatggcat ggtaggcccc ctgcacagta gecttgetgc cagcgcctg 7080
tcccagatga tgagctacca gggcctgccc agcaccccgc tggccaacca gcctcacctg 7140
gtcagacccc agcaggtgca gccacaaaac tcacagatgc agcagcagaa ectgcagcca 7200
gcaaacatcc agcagcagca aagcctgcag ccgccaccac caccaccaca gccgcacct 7260
ggcgtgagct cagcagccag cggccaactg ggcggagct tectgagtg agagccgagc 7320
caggcagacg tgcagccact gggccccagc agcctggcgg tgcacactat tctgccccag 7380
gagagccccg ccctgcccac gtctgtgcca tctctgctgg tcccaccctg gaccgcagcc 7440
cagttcctga cggccccctc gcagcacagc tactctctgc ctgtggacaa cccccagc 7500
caccagctac aggtgcccga gcaccccctc ctcaacctg cccctgagtc cctgaccag 7560
tggcccagct cgtccccgca tccaacctc tccgactggt cegagggcgt tcccagccc 7620
cccaccagca tgcagctcca gatgcccgc attccggagg ccttcaagta aacggcgcgc 7680
cccaccagac cccggcttcc ttcccacagc cttcggcgt ctgtgtgccc tctgtggaatg 7740
ccaggcccga ccagaggagc ctttttaaaa cacatgtttt tatacaaaa aagaacgag 7800
attttaattt ttttagtat ttatttatgt acctttattt tacacagaaa cactgccttt 7860
ttatttatat tctactgttt atctggcccc aggtagaaac ttttatctat tctgagaaaa 7920
caagcaagtt ctgagagcca gggtttctct acgtaggatg aaaagattct tctgtgttta 7980
taaaatataa acaaagatbc atgatttata aatgccattt atttattgat tctctttttc 8040
aaaatccaaa aagaaatgat gttggagaag ggaagttgaa cgagcatagt ccaaaaagct 8100
cctggggcgt ccaggccgcg ccctttcccc gacgcccacc caaceccaag ccagcccgcc 8160
cgctccacca gcatcacctg cctgttagga gaagctgcat ccagaggcaa acggaggcaa 8220
agctggctca cctccgcac gggattaat ttgcatctga aataggaaac aagtgaagc 8280
ataggggtta gatgttgcca tgtgttttag atggtttctt gcaagcatgc ttgtgaaaat 8340
gtgttctcgg agtgtgtatg ccaagagtgc acctatggtt ccaatcatga atctttgttt 8400
caggttcagt attatgtagt tgttcgttgg ttatacaagt tcttggctcc tccagaaacca 8460
ccccggcccc ctgcccgttc ttgaaatgta ggcattcatgc atgtcaaaaa tgagatgtgt 8520
ggactgtggc acttgccctg gtcacacacg gaggcatcct acccttttct ggggaaagac 8580
actgcctggg ctgacccccg tggcggcccc agcacctcag cctgcacagt gtccccagc 8640
ttccgaagaa gatgctccag caacacagcc tgggccccag ctccggggac ccgaccccc 8700
gtgggctccc gtgttttga gggagcttgc cagagccggg cacattgagc tgtgcaacgc 8760
cgtgggctgc gtcctttggt cctgtccccg cagccctggc agggggcatg cggtcgggca 8820
ggggctggag ggaggcggg gctgcccttg gggcaccctt cctagttttg gaggagcaga 8880
tttttgcaat accaagtata gcctatggca gaaaaaatgt ctgtaaatat gtttttaag 8940
gtggattttg tttaaaaaat cttaatgaat gagtctgttg tgtgtcatgc cagtgagggg 9000
cgtcagactt ggcctagctc ggggagcctt agccgcccac gcactgggga cgtcccgtg 9060
ccgtgcccgc tgcactctc agggcagcct ccccggctc tacgggggccc gcgtgggtgcc 9120
atcccagggg ggcattgacca gatgcgtccc aagatgttga tttttactgt gttttataaa 9180
atagagtgtg gtttacagaa aaagactcta aaagtgatct acatgaggaa ctgtagatga 9240
tgtattttt tcatctttt tgttaactga tttgcaataa aaatgatact gatggtgaaa 9300
aaaaaaaaaa aa 9312

```

- <210> 6
- <211> 2556
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 6

5

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

		435					440					445			
Cys	Glu	Ile	Asp	Val	Asn	Glu	Cys	Val	Ser	Asn	Pro	Cys	Gln	Asn	Asp
	450					455					460				
Ala	Thr	Cys	Leu	Asp	Gln	Ile	Gly	Glu	Phe	Gln	Cys	Ile	Cys	Met	Pro
465					470					475					480
Gly	Tyr	Glu	Gly	Val	His	Cys	Glu	Val	Asn	Thr	Asp	Glu	Cys	Ala	Ser
				485					490					495	
Ser	Pro	Cys	Leu	His	Asn	Gly	Arg	Cys	Leu	Asp	Lys	Ile	Asn	Glu	Phe
			500					505					510		
Gln	Cys	Glu	Cys	Pro	Thr	Gly	Phe	Thr	Gly	His	Leu	Cys	Gln	Tyr	Asp
		515					520					525			
Val	Asp	Glu	Cys	Ala	Ser	Thr	Pro	Cys	Lys	Asn	Gly	Ala	Lys	Cys	Leu
	530					535					540				
Asp	Gly	Pro	Asn	Thr	Tyr	Thr	Cys	Val	Cys	Thr	Glu	Gly	Tyr	Thr	Gly
545					550					555					560
Thr	His	Cys	Glu	Val	Asp	Ile	Asp	Glu	Cys	Asp	Pro	Asp	Pro	Cys	His
			565					570						575	
Tyr	Gly	Ser	Cys	Lys	Asp	Gly	Val	Ala	Thr	Phe	Thr	Cys	Leu	Cys	Arg
			580					585					590		
Pro	Gly	Tyr	Thr	Gly	His	His	Cys	Glu	Thr	Asn	Ile	Asn	Glu	Cys	Ser
		595					600					605			
Ser	Gln	Pro	Cys	Arg	His	Gly	Gly	Thr	Cys	Gln	Asp	Arg	Asp	Asn	Ala
	610					615					620				
Tyr	Leu	Cys	Phe	Cys	Leu	Lys	Gly	Thr	Thr	Gly	Pro	Asn	Cys	Glu	Ile
625					630					635					640
Asn	Leu	Asp	Asp	Cys	Ala	Ser	Ser	Pro	Cys	Asp	Ser	Gly	Thr	Cys	Leu
			645					650						655	
Asp	Lys	Ile	Asp	Gly	Tyr	Glu	Cys	Ala	Cys	Glu	Pro	Gly	Tyr	Thr	Gly
			660					665					670		
Ser	Met	Cys	Asn	Ile	Asn	Ile	Asp	Glu	Cys	Ala	Gly	Asn	Pro	Cys	His
	675						680					685			
Asn	Gly	Gly	Thr	Cys	Glu	Asp	Gly	Ile	Asn	Gly	Phe	Thr	Cys	Arg	Cys
	690					695					700				
Pro	Glu	Gly	Tyr	His	Asp	Pro	Thr	Cys	Leu	Ser	Glu	Val	Asn	Glu	Cys
705					710					715					720
Asn	Ser	Asn	Pro	Cys	Val	His	Gly	Ala	Cys	Arg	Asp	Ser	Leu	Asn	Gly
			725					730						735	
Tyr	Lys	Cys	Asp	Cys	Asp	Pro	Gly	Trp	Ser	Gly	Thr	Asn	Cys	Asp	Ile
			740				745						750		
Asn	Asn	Asn	Glu	Cys	Glu	Ser	Asn	Pro	Cys	Val	Asn	Gly	Gly	Thr	Cys
	755						760					765			
Lys	Asp	Met	Thr	Ser	Gly	Tyr	Val	Cys	Thr	Cys	Arg	Glu	Gly	Phe	Ser
	770				775						780				
Gly	Pro	Asn	Cys	Gln	Thr	Asn	Ile	Asn	Glu	Cys	Ala	Ser	Asn	Pro	Cys
785					790					795					800
Leu	Asn	Gln	Gly	Thr	Cys	Ile	Asp	Asp	Val	Ala	Gly	Tyr	Lys	Cys	Asn
			805					810						815	
Cys	Leu	Leu	Pro	Tyr	Thr	Gly	Ala	Thr	Cys	Glu	Val	Val	Leu	Ala	Pro
			820					825					830		
Cys	Ala	Pro	Ser	Pro	Cys	Arg	Asn	Gly	Gly	Glu	Cys	Arg	Gln	Ser	Glu
	835						840					845			
Asp	Tyr	Glu	Ser	Phe	Ser	Cys	Val	Cys	Pro	Thr	Gly	Trp	Gln	Ala	Gly
	850					855					860				
Gln	Thr	Cys	Glu	Val	Asp	Ile	Asn	Glu	Cys	Val	Leu	Ser	Pro	Cys	Arg
865					870					875					880
His	Gly	Ala	Ser	Cys	Gln	Asn	Thr	His	Gly	Gly	Tyr	Arg	Cys	His	Cys
			885					890						895	
Gln	Ala	Gly	Tyr	Ser	Gly	Arg	Asn	Cys	Glu	Thr	Asp	Ile	Asp	Asp	Cys
			900					905					910		
Arg	Pro	Asn	Pro	Cys	His	Asn	Gly	Ser	Cys	Thr	Asp	Gly	Ile	Asn	
			915				920						925		

Thr Ala Phe Cys Asp Cys Leu Pro Gly Phe Arg Gly Thr Phe Cys Glu
 930 935 940
 Glu Asp Ile Asn Glu Cys Ala Ser Asp Pro Cys Arg Asn Gly Ala Asn
 945 950 955
 Cys Thr Asp Cys Val Asp Ser Tyr Thr Cys Thr Cys Pro Ala Gly Phe
 965 970 975
 Ser Gly Ile His Cys Glu Asn Asn Thr Pro Asp Cys Thr Glu Ser Ser
 980 985 990
 Cys Phe Asn Gly Gly Thr Cys Val Asp Gly Ile Asn Ser Phe Thr Cys
 995 1000 1005
 Leu Cys Pro Pro Gly Phe Thr Gly Ser Tyr Cys Gln His Asp Val Asn
 1010 1015 1020
 Glu Cys Asp Ser Gln Pro Cys Leu His Gly Gly Thr Cys Gln Asp Gly
 1025 1030 1035 1040
 Cys Gly Ser Tyr Arg Cys Thr Cys Pro Gln Gly Tyr Thr Gly Pro Asn
 1045 1050 1055
 Cys Gln Asn Leu Val His Trp Cys Asp Ser Ser Pro Cys Lys Asn Gly
 1060 1065 1070
 Gly Lys Cys Trp Gln Thr His Thr Gln Tyr Arg Cys Glu Cys Pro Ser
 1075 1080 1085
 Gly Trp Thr Gly Leu Tyr Cys Asp Val Pro Ser Val Ser Cys Glu Val
 1090 1095 1100
 Ala Ala Gln Arg Gln Gly Val Asp Val Ala Arg Leu Cys Gln His Gly
 1105 1110 1115 1120
 Gly Leu Cys Val Asp Ala Gly Asn Thr His His Cys Arg Cys Gln Ala
 1125 1130 1135
 Gly Tyr Thr Gly Ser Tyr Cys Glu Asp Leu Val Asp Glu Cys Ser Pro
 1140 1145 1150
 Ser Pro Cys Gln Asn Gly Ala Thr Cys Thr Asp Tyr Leu Gly Gly Tyr
 1155 1160 1165
 Ser Cys Lys Cys Val Ala Gly Tyr His Gly Val Asn Cys Ser Glu Glu
 1170 1175 1180
 Ile Asp Glu Cys Leu Ser His Pro Cys Gln Asn Gly Gly Thr Cys Leu
 1185 1190 1195 1200
 Asp Leu Pro Asn Thr Tyr Lys Cys Ser Cys Pro Arg Gly Thr Gln Gly
 1205 1210 1215
 Val His Cys Glu Ile Asn Val Asp Asp Cys Asn Pro Pro Val Asp Pro
 1220 1225 1230
 Val Ser Arg Ser Pro Lys Cys Phe Asn Asn Gly Thr Cys Val Asp Gln
 1235 1240 1245
 Val Gly Gly Tyr Ser Cys Thr Cys Pro Pro Gly Phe Val Gly Glu Arg
 1250 1255 1260
 Cys Glu Gly Asp Val Asn Glu Cys Leu Ser Asn Pro Cys Asp Ala Arg
 1265 1270 1275 1280
 Gly Thr Gln Asn Cys Val Gln Arg Val Asn Asp Phe His Cys Glu Cys
 1285 1290 1295
 Arg Ala Gly His Thr Gly Arg Arg Cys Glu Ser Val Ile Asn Gly Cys
 1300 1305 1310
 Lys Gly Lys Pro Cys Lys Asn Gly Gly Thr Cys Ala Val Ala Ser Asn
 1315 1320 1325
 Thr Ala Arg Gly Phe Ile Cys Lys Cys Pro Ala Gly Phe Glu Gly Ala
 1330 1335 1340
 Thr Cys Glu Asn Asp Ala Arg Thr Cys Gly Ser Leu Arg Cys Leu Asn
 1345 1350 1355 1360
 Gly Gly Thr Cys Ile Ser Gly Pro Arg Ser Pro Thr Cys Leu Cys Leu
 1365 1370 1375
 Gly Pro Phe Thr Gly Pro Glu Cys Gln Phe Pro Ala Ser Ser Pro Cys
 1380 1385 1390
 Leu Gly Gly Asn Pro Cys Tyr Asn Gln Gly Thr Cys Glu Pro Thr Ser
 1395 1400 1405
 Glu Ser Pro Phe Tyr Arg Cys Leu Cys Pro Ala Lys Phe Asn Gly Leu

1410						1415							1420						
Leu	Cys	His	Ile	Leu	Asp	Tyr	Ser	Phe	Gly	Gly	Gly	Ala	Gly	Arg	Asp				
1425						1430							1435		1440				
Ile	Pro	Pro	Pro	Leu	Ile	Glu	Glu	Ala	Cys	Glu	Leu	Pro	Glu	Cys	Gln				
						1445							1450		1455				
Glu	Asp	Ala	Gly	Asn	Lys	Val	Cys	Ser	Leu	Gln	Cys	Asn	Asn	His	Ala				
						1460							1465		1470				
Cys	Gly	Trp	Asp	Gly	Gly	Asp	Cys	Ser	Leu	Asn	Phe	Asn	Asp	Pro	Trp				
						1475							1480		1485				
Lys	Asn	Cys	Thr	Gln	Ser	Leu	Gln	Cys	Trp	Lys	Tyr	Phe	Ser	Asp	Gly				
						1490							1495		1500				
His	Cys	Asp	Ser	Gln	Cys	Asn	Ser	Ala	Gly	Cys	Leu	Phe	Asp	Gly	Phe				
1505						1510							1515		1520				
Asp	Cys	Gln	Arg	Ala	Glu	Gly	Gln	Cys	Asn	Pro	Leu	Tyr	Asp	Gln	Tyr				
						1525							1530		1535				
Cys	Lys	Asp	His	Phe	Ser	Asp	Gly	His	Cys	Asp	Gln	Gly	Cys	Asn	Ser				
						1540							1545		1550				
Ala	Glu	Cys	Glu	Trp	Asp	Gly	Leu	Asp	Cys	Ala	Glu	His	Val	Pro	Glu				
						1555							1560		1565				
Arg	Leu	Ala	Ala	Gly	Thr	Leu	Val	Val	Val	Val	Leu	Met	Pro	Pro	Glu				
						1570							1575		1580				
Gln	Leu	Arg	Asn	Ser	Ser	Phe	His	Phe	Leu	Arg	Glu	Leu	Ser	Arg	Val				
1585						1590							1595		1600				
Leu	His	Thr	Asn	Val	Val	Phe	Lys	Arg	Asp	Ala	His	Gly	Gln	Gln	Met				
						1605							1610		1615				
Ile	Phe	Pro	Tyr	Tyr	Gly	Arg	Glu	Glu	Glu	Leu	Arg	Lys	His	Pro	Ile				
						1620							1625		1630				
Lys	Arg	Ala	Ala	Glu	Gly	Trp	Ala	Ala	Pro	Asp	Ala	Leu	Leu	Gly	Gln				
						1635							1640		1645				
Val	Lys	Ala	Ser	Leu	Leu	Pro	Gly	Gly	Ser	Glu	Gly	Gly	Arg	Arg	Arg				
						1650							1655		1660				
Arg	Glu	Leu	Asp	Pro	Met	Asp	Val	Arg	Gly	Ser	Ile	Val	Tyr	Leu	Glu				
1665						1670							1675		1680				
Ile	Asp	Asn	Arg	Gln	Cys	Val	Gln	Ala	Ser	Ser	Gln	Cys	Phe	Gln	Ser				
						1685							1690		1695				
Ala	Thr	Asp	Val	Ala	Ala	Phe	Leu	Gly	Ala	Leu	Ala	Ser	Leu	Gly	Ser				
						1700							1705		1710				
Leu	Asn	Ile	Pro	Tyr	Lys	Ile	Glu	Ala	Val	Gln	Ser	Glu	Thr	Val	Glu				
						1715							1720		1725				
Pro	Pro	Pro	Pro	Ala	Gln	Leu	His	Phe	Met	Tyr	Val	Ala	Ala	Ala	Ala				
						1730							1735		1740				
Phe	Val	Leu	Leu	Phe	Phe	Val	Gly	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Ser	Arg	Lys				
1745						1750							1755		1760				
Arg	Arg	Arg	Gln	His	Gly	Gln	Leu	Trp	Phe	Pro	Glu	Gly	Phe	Lys	Val				
						1765							1770		1775				
Ser	Glu	Ala	Ser	Lys	Lys	Lys	Arg	Arg	Glu	Pro	Leu	Gly	Glu	Asp	Ser				
						1780							1785		1790				
Val	Gly	Leu	Lys	Pro	Leu	Lys	Asn	Ala	Ser	Asp	Gly	Ala	Leu	Met	Asp				
						1795							1800		1805				
Asp	Asn	Gln	Asn	Glu	Trp	Gly	Asp	Glu	Asp	Leu	Glu	Thr	Lys	Lys	Phe				
						1810							1815		1820				
Arg	Phe	Glu	Glu	Pro	Val	Leu	Pro	Asp	Leu	Asp	Asp	Gln	Thr	Asp					
1825						1830							1835		1840				
His	Arg	Gln	Trp	Thr	Gln	Gln	His	Leu	Asp	Ala	Ala	Asp	Leu	Arg	Met				
						1845							1850		1855				
Ser	Ala	Met	Ala	Pro	Thr	Pro	Pro	Gln	Gly	Glu	Val	Asp	Ala	Asp	Cys				
						1860							1865		1870				
Met	Asp	Val	Asn	Val	Arg	Gly	Pro	Asp	Gly	Phe	Thr	Pro	Leu	Met	Ile				
						1875							1880		1885				
Ala	Ser	Cys	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Glu	Thr	Gly	Asn	Ser	Glu	Glu	Glu				
						1890							1895		1900				

Glu Asp Ala Pro Ala Val Ile Ser Asp Phe Ile Tyr Gln Gly Ala Ser
 1905 1910 1915 1920
 Leu His Asn Gln Thr Asp Arg Thr Gly Glu Thr Ala Leu His Leu Ala
 1925 1930 1935
 Ala Arg Tyr Ser Arg Ser Asp Ala Ala Lys Arg Leu Leu Glu Ala Ser
 1940 1945 1950
 Ala Asp Ala Asn Ile Gln Asp Asn Met Gly Arg Thr Pro Leu His Ala
 1955 1960 1965
 Ala Val Ser Ala Asp Ala Gln Gly Val Phe Gln Ile Leu Ile Arg Asn
 1970 1975 1980
 Arg Ala Thr Asp Leu Asp Ala Arg Met His Asp Gly Thr Thr Pro Leu
 1985 1990 1995 2000
 Ile Leu Ala Ala Arg Leu Ala Val Glu Gly Met Leu Glu Asp Leu Ile
 2005 2010 2015
 Asn Ser His Ala Asp Val Asn Ala Val Asp Asp Leu Gly Lys Ser Ala
 2020 2025 2030
 Leu His Trp Ala Ala Ala Val Asn Asn Val Asp Ala Ala Val Val Leu
 2035 2040 2045
 Leu Lys Asn Gly Ala Asn Lys Asp Met Gln Asn Asn Arg Glu Glu Thr
 2050 2055 2060
 Pro Leu Phe Leu Ala Ala Arg Glu Gly Ser Tyr Glu Thr Ala Lys Val
 2065 2070 2075 2080
 Leu Leu Asp His Phe Ala Asn Arg Asp Ile Thr Asp His Met Asp Arg
 2085 2090 2095
 Leu Pro Arg Asp Ile Ala Gln Glu Arg Met His His Asp Ile Val Arg
 2100 2105 2110
 Leu Leu Asp Glu Tyr Asn Leu Val Arg Ser Pro Gln Leu His Gly Ala
 2115 2120 2125
 Pro Leu Gly Gly Thr Pro Thr Leu Ser Pro Pro Leu Cys Ser Pro Asn
 2130 2135 2140
 Gly Tyr Leu Gly Ser Leu Lys Pro Gly Val Gln Gly Lys Lys Val Arg
 2145 2150 2155 2160
 Lys Pro Ser Ser Lys Gly Leu Ala Cys Gly Ser Lys Glu Ala Lys Asp
 2165 2170 2175
 Leu Lys Ala Arg Arg Lys Lys Ser Gln Asp Gly Lys Gly Cys Leu Leu
 2180 2185 2190
 Asp Ser Ser Gly Met Leu Ser Pro Val Asp Ser Leu Glu Ser Pro His
 2195 2200 2205
 Gly Tyr Leu Ser Asp Val Ala Ser Pro Pro Leu Leu Pro Ser Pro Phe
 2210 2215 2220
 Gln Gln Ser Pro Ser Val Pro Leu Asn His Leu Pro Gly Met Pro Asp
 2225 2230 2235 2240
 Thr His Leu Gly Ile Gly His Leu Asn Val Ala Ala Lys Pro Glu Met
 2245 2250 2255
 Ala Ala Leu Gly Gly Gly Gly Arg Leu Ala Phe Glu Thr Gly Pro Pro
 2260 2265 2270
 Arg Leu Ser His Leu Pro Val Ala Ser Gly Thr Ser Thr Val Leu Gly
 2275 2280 2285
 Ser Ser Ser Gly Gly Ala Leu Asn Phe Thr Val Gly Gly Ser Thr Ser
 2290 2295 2300
 Leu Asn Gly Gln Cys Glu Trp Leu Ser Arg Leu Gln Ser Gly Met Val
 2305 2310 2315 2320
 Pro Asn Gln Tyr Asn Pro Leu Arg Gly Ser Val Ala Pro Gly Pro Leu
 2325 2330 2335
 Ser Thr Gln Ala Pro Ser Leu Gln His Gly Met Val Gly Pro Leu His
 2340 2345 2350
 Ser Ser Leu Ala Ala Ser Ala Leu Ser Gln Met Met Ser Tyr Gln Gly
 2355 2360 2365
 Leu Pro Ser Thr Arg Leu Ala Thr Gln Pro His Leu Val Gln Thr Gln
 2370 2375 2380
 Gln Val Gln Pro Gln Asn Leu Gln Met Gln Gln Gln Asn Leu Gln Pro

2385		2390		2395		2400
Ala Asn Ile Gln Gln Gln Gln Ser Leu Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro						
		2405		2410		2415
Gln Pro His Leu Gly Val Ser Ser Ala Ala Ser Gly His Leu Gly Arg						
		2420		2425		2430
Ser Phe Leu Ser Gly Glu Pro Ser Gln Ala Asp Val Gln Pro Leu Gly						
		2435		2440		2445
Pro Ser Ser Leu Ala Val His Thr Ile Leu Pro Gln Glu Ser Pro Ala						
		2450		2455		2460
Leu Pro Thr Ser Leu Pro Ser Ser Leu Val Pro Pro Val Thr Ala Ala						
		2465		2470		2475
Gln Phe Leu Thr Pro Pro Ser Gln His Ser Tyr Ser Ser Pro Val Asp						
		2485		2490		2495
Asn Thr Pro Ser His Gln Leu Gln Val Pro Glu His Pro Phe Leu Thr						
		2500		2505		2510
Pro Ser Pro Glu Ser Pro Asp Gln Trp Ser Ser Ser Ser Pro His Ser						
		2515		2520		2525
Asn Val Ser Asp Trp Ser Glu Gly Val Ser Ser Pro Pro Thr Ser Met						
		2530		2535		2540
Gln Ser Gln Ile Ala Arg Ile Pro Glu Ala Phe Lys						
		2545		2550		2555

<210> 7
 <211> 6009
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 7

atgcagcccc	cttcaactgct	gctgctgctg	ctgctgctgc	tgctatgtgt	ctcagtggtc	60
agaccagag	ggctgctgtg	tgggagtttc	ccagaaccct	gtgccaatgg	aggcacctgc	120
ctgagcctgt	ctctgggaca	agggacctgc	cagtggtccc	ctggcttcc	gggtgagacy	180
tgccagtttc	ctgacccttg	ccagaacgcc	cagctctgcc	aaaatggagg	cagctgcca	240
gccctgcttc	ccgctcccct	agggctcccc	agctctccct	ctccattgac	accagcttc	300
ttgtgcactt	gcctccctgg	cttcaactgg	gagagatgcc	aggccaagct	tgaagacct	360
tgctctcct	ccttctgttc	caaaagggg	cgctgccc	tcaggcctc	gggcccgeca	420
cagtgetcct	gcattgctgg	atggacaggt	gagcagtgcc	agcttcggga	cttctgttca	480
gccaacccat	gtgttaatgg	aggggtgtgt	ctggccacgt	acccccagat	ccagtgccac	540
tgccaccgg	gcttcgaggg	ccatgctctg	gaacgtgatg	tcaacgagtg	ctccaggac	600
ccaggaccct	gccccaaagg	cacctcctgc	cataacacc	tgggctcctt	ccagtgctc	660
tgccctgttg	ggcaggaggg	tcacgttgtg	gagctgegg	caggacctg	ccctctaggt	720
ggctgttcga	atgggggac	ctgccagctg	atgccagaga	aagactccac	cttccacctc	780
tgcctctgtc	ccccaggttt	cataggcccc	ggctgtgagg	tgaatccaga	caactgtgtc	840
agccaccaat	gtcagaatgg	gggcacttgc	caggatgggc	tggacacctc	caactgctc	900
tgcccagaaa	cctggacaggg	ctgggactgc	tccgaagatg	tggatgagtg	tgaggccag	960
ggtccccctc	actgcagaaa	ggggggcacc	tgccagaact	ctgctggtag	cttcaactgc	1020
gtgtgtgtga	gtggctgggg	gggcacaagc	tgtgaggaga	acctggatga	ctgtattgct	1080
gccacctgtg	ccccgggatc	cacctgcatt	gaccgggtgg	gctctttctc	ctgctctgct	1140
ccacctggac	gcacaggact	cctgtgccac	ttggaagaca	tgtgtctgag	ccagccgtgc	1200
catggggatg	cccaatgcag	caccaacccc	ctcacaggct	ccacactctg	cctgtgtcag	1260
cctggctatt	cggggcccac	ctgccaccag	gacctggacg	agtgtctgat	ggcccagcaa	1320
ggccccagtc	cctgtgaaca	tggcggttcc	tgccctcaaca	ctcctggetc	cttcaactgc	1380
ctctgtccac	ctggctacac	aggtcccctg	tgtgaggctg	atcacaatga	gtgctctctc	1440
cagccctgce	accaggaag	caactgtctg	gacctacttg	ccaccttcca	ctgctctgct	1500
ccgccaggct	tagaagggca	gctctgtgag	gtggagacca	acgagtggtc	ctcagctccc	1560
tgctgaacc	acgcggattg	ccatgacctg	ctcaacggct	tccagtgcat	ctgctgctcc	1620
ggattctccg	gcaccgatg	tgaggaggtg	atcgatgagt	gcagaagctc	tcccgtgccc	1680
aatgggtggc	agtgccagga	ccagcctgga	gccttccact	gcaagtgtct	cccaggcttt	1740
gaagggccac	gctgtcaaac	agaggtggat	gagtgcttga	gtgacctatg	tcccgttggg	1800
gccagctgce	ttgatcttcc	aggagccttc	ttttgctctc	gcccctctgg	tttcaagggc	1860
cagctctgtg	aggttcccct	gtgtgctccc	aacctgtgoc	agcccagca	gatattgtaa	1920

10

gaccagaaag	acaaggccaa	ctgectctgt	cctgatggaa	gccctggctg	tgcccacact	1980
gaggacaact	gcacctgcca	ccacggggcac	tgccagagat	cctcatgtgt	gtgtgacgtg	2040
ggttggacgg	ggccagagtg	tgaggcagag	ctagggggct	gcattctctg	accctgtgce	2100
catgggggga	cctgctaccc	ccagccctct	ggctacaact	gcacctgcc	tacaggctac	2160
acaggacca	cctgtagtga	ggagatgaca	gcttgtcact	cagggccatg	tctcaatggc	2220
ggctcctgca	accctagccc	tgaggctac	tactgcacct	gccctccaag	ccacacaggg	2280
ccccagtgc	aaaccagcac	tgactactgt	gtgtctgccc	cgtgcttcaa	tgggggtacc	2340
tgtgtgaaca	ggcctggcac	cttctcctgc	ctctgtgcca	tgggcttcca	gggcccgcgc	2400
tgtgagggaa	agctccgccc	agctgtgca	gacagccctt	gtaggaatag	ggcaacctgc	2460
caggacagcc	ctcagggtec	ceyctgeetc	tgcccactg	gctacaaccg	aggcagctgc	2520
cagactctga	tggacttatg	tgcccagaag	ccctgcccac	gcaattccca	ctgcctccag	2580
actgggccc	ccttccaactg	cttgtgcect	cagggatgga	ccgggctct	ctgcaacctt	2640
ccactgtcct	cctgccagaa	ggtgtcactg	agccaaggca	tagacgtctc	ttccctttgc	2700
cacaatggag	gcctctgtgt	cgacagcggc	ccctctatt	tctgccactg	ccccctgga	2760
ttccaaggca	gcctgtgcca	ggatcacgtg	aaacctgtg	agtccaggcc	ttgccagaac	2820
ggggccacct	gcatggccca	gcccagtggg	tatctctgcc	agtgtgccc	aggctacgat	2880
ggacagaact	gctcaaagga	actcgatgct	tgtcagtccc	aacctgtca	caacctgga	2940
acctgtactc	ccaaaccttg	aggctccac	tgtgctgccc	ctccaggctt	tgtggggcta	3000
cgctgtgagg	gagacgtgga	cgagtgtctg	gaccagccct	gccaccccac	aggcactgca	3060
ccctgcccact	ctctggccaa	tgcttctac	tgccagtgtc	tgccctggaca	cacaggccag	3120
tggtgtgagg	tggagataga	ccctgcccac	agccaacct	gettctatgg	agggaacctgt	3180
gaggccacag	caggatcacc	cctgggttct	atctgocact	gccccagggg	tttgaagggc	3240
cccacctgca	gccacagggc	cccttctctg	ggttccatc	actgccacca	cggaggcctg	3300
tgtctgccc	cccctaagcc	aggcttccca	ccagctgtg	cctgcctcag	tggctatggg	3360
ggctctgact	gctgacccc	accagctcct	aaaggctgtg	gccctccctc	cccatagcta	3420
tacaatggca	gctgtcaga	gaccacgggc	ttggggggcc	caggcttctg	atgtcctg	3480
cctcacagct	ctccagggcc	ccggtgtcag	aaacccggag	ccaaggggtg	tgagggcaga	3540
agtggagatg	gggcccgcga	tgctggctgc	agtggcccgg	gaggaactg	ggtatggagg	3600
gactgctctc	tgggagtccc	agaccccctg	aagggctgcc	cctcccactc	tgggtgtgtg	3660
cttctcttcc	gggacgggca	gtgccaccca	cagtgtgact	ctgaagatg	tctgtttgat	3720
ggctacgact	gtgagacccc	tccagcctgc	actccagcct	atgaccagta	ctgccatgat	3780
cacttccaca	acgggcaactg	tgagaaaggc	tgcaacactg	cagagtgtgg	ctgggatgga	3840
ggtgactgca	ggcctgaaga	tggggaccca	gagtgggggc	cctccctggc	cctgctgggtg	3900
gtaactgagcc	ccccagccct	agaccagcag	ctgtttgccc	tggcccgggt	gctgtccctg	3960
actctagagg	taggactctg	ggtaaaggaag	gatcgtgatg	gcagggacat	ggtatcccc	4020
tatcctgggg	cccgggctga	agaaaagcta	ggaggaaactc	gggaccccac	ctatcaggag	4080
agagcagccc	ctcaaacaca	gcccctgggc	aaggagaccg	actccctcag	tgctgggttt	4140
gtgggtggta	tgggtgtgga	tttgtcccgc	tgtggccctg	accacccggc	atcccgtgt	4200
ccctgggacc	ctgggcttet	actccgcttc	cttgcctgca	tggctgcagt	gggagcccctg	4260
gagcccttgc	tgctggacc	actgctggct	atgcacccctc	atgcagggac	cgaccccct	4320
gccaaccagc	ttccctggcc	tgtgctgtgc	tccccagtgg	ccgggggtgat	tctcctggcc	4380
ctaggggctc	ttctgctcct	ccagctcctc	cggtctgac	gccgagagca	tggagctctc	4440
tggetgcccc	ctggtttcac	tccaagggct	cggactcagt	cagctcccga	ccgacggccg	4500
ccccactag	gcgaggacag	cattggtctc	aaggcactga	agccaaaggc	agaagtgtat	4560
gaggatggag	ttgtgatgtg	ctcagggcct	gaggaggagg	aggaggtggg	ccaggctgaa	4620
gaaacaggcc	cacctccac	gtgccagctc	tggctctga	gtgggtggctg	tggggcgctc	4680
cctcagggcag	ccatgctaac	tcttcccag	gaatctgaga	tggaaagccc	tgacctggac	4740
accctgggac	ctgatgggg	gacacccctg	atgtcagcag	tttgcctgtg	ggaagtacag	4800
tccgggacct	tccaaggggc	atggttggga	tgtcctgagc	cctgggaacc	tctgctggat	4860
ggaggggccc	gtcccagggc	tcacaccgtg	ggcactgggg	agaccccct	gcacctggct	4920
gcccgatctc	cccggccaac	cctgcccgc	cgctccttg	aggctggagc	caaccccac	4980
cagccagacc	gggcagggcg	cacacccctt	catgctgctg	tggctgctga	tgctcgggag	5040
gtctgccagc	ttctgctccg	tagcagacaa	actgcagtgg	acgctcgcac	agaggacggg	5100
accacaccct	tgatgctggc	tgccaggtg	gcggtggaag	acctggttga	gaaactgatt	5160
gcagcccagag	cagacgtggg	ggccagagat	aaatggggga	aaactgcct	gcactgggt	5220
gctgcccgtga	acaacgccc	agccgcccgc	tcgcttctcc	aggccggagc	cgataaagat	5280
gcccaggaca	acagggagca	gacgccccta	ttcctggcgg	cgccgggaag	agcgggtgaa	5340
gtagcccagc	tactgctggg	gctgggggca	gcccagagac	tgccgggacca	ggctgggcta	5400
gcgcccggcg	acgtcgtcca	ccaacgtaac	cactgggatc	tgctgacgct	gctggaaggg	5460
gctgggcccac	cagaggccc	tcacaaagcc	acgcggggcc	gcgaggctgg	gcccttccc	5520
cgcgcacggga	cgggtgcagt	aagcgtgccc	ccgcatgggg	cggggctct	gcccgcctgc	5580

ES 2 400 666 T3

```

cggacgctgt cagcgggagc aggcctctgt gggggcggag cttgtctgca ggctcggact 5640
tggiccgtag acttggctgc gggggggggc ggggcctatt ctcattgccg ggcctctcgc 5700
ggagtaggag caggaggagg cccgaccctc cgcggccgta ggttttctgc aggcattcgc 5760
gggcctcggc ccaaccctgc gataatgcga ggaagatacg gagtggtcgc cgggcgcgga 5820
ggcaggtctc caacggatga ctggcctctg gattgggtgg cctcgggagc ttgcggttct 5880
gcctccaaca ttccgatccc gcctccttgc cttactccgt ccccgagagc gggatcacct 5940
caacttgact gtggtccecc agcctcccaa gaatgcccga taaccaagg aggagagggc 6000
aaaaaatag
    
```

<210> 8
 <211> 2003
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 8

```

Met Gln Pro Pro Ser Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu
 1      5      10      15
Cys Val Ser Val Val Arg Pro Arg Gly Leu Leu Cys Gly Ser Phe Pro
 20      25      30
Glu Pro Cys Ala Asn Gly Gly Thr Cys Leu Ser Leu Ser Leu Gly Gln
 35      40      45
Gly Thr Cys Gln Cys Ala Pro Gly Phe Leu Gly Glu Thr Cys Gln Phe
 50      55      60
Pro Asp Pro Cys Gln Asn Ala Gln Leu Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys
 65      70      75      80
Gln Ala Leu Leu Pro Ala Pro Leu Gly Leu Pro Ser Ser Pro Ser Pro
 85      90      95
Leu Thr Pro Ser Phe Leu Cys Thr Cys Leu Pro Gly Phe Thr Gly Glu
100     105     110
Arg Cys Gln Ala Lys Leu Glu Asp Pro Cys Pro Pro Ser Phe Cys Ser
115     120     125
Lys Arg Gly Arg Cys His Ile Gln Ala Ser Gly Arg Pro Gln Cys Ser
130     135     140
Cys Met Pro Gly Trp Thr Gly Glu Gln Cys Gln Leu Arg Asp Phe Cys
145     150     155     160
Ser Ala Asn Pro Cys Val Asn Gly Gly Val Cys Leu Ala Thr Tyr Pro
165     170     175
Gln Ile Gln Cys His Cys Pro Pro Gly Phe Glu Gly His Ala Cys Glu
180     185     190
Arg Asp Val Asn Glu Cys Phe Gln Asp Pro Gly Pro Cys Pro Lys Gly
195     200     205
Thr Ser Cys His Asn Thr Leu Gly Ser Phe Gln Cys Leu Cys Pro Val
210     215     220
Gly Gln Glu Gly Pro Arg Cys Glu Leu Arg Ala Gly Pro Cys Pro Pro
225     230     235     240
Arg Gly Cys Ser Asn Gly Gly Thr Cys Gln Leu Met Pro Glu Lys Asp
245     250     255
Ser Thr Phe His Leu Cys Leu Cys Pro Pro Gly Phe Ile Gly Pro Asp
260     265     270
Cys Glu Val Asn Pro Asp Asn Cys Val Ser His Gln Cys Gln Asn Gly
275     280     285
Gly Thr Cys Gln Asp Gly Leu Asp Thr Tyr Thr Cys Leu Cys Pro Glu
290     295     300
Thr Trp Thr Gly Trp Asp Cys Ser Glu Asp Val Asp Glu Cys Glu Thr
305     310     315     320
Gln Gly Pro Pro His Cys Arg Asn Gly Gly Thr Cys Gln Asn Ser Ala
325     330     335
Gly Ser Phe His Cys Val Cys Val Ser Gly Trp Gly Gly Thr Ser Cys
340     345     350
    
```

Glu Glu Asn Leu Asp Asp Cys Ile Ala Ala Thr Cys Ala Pro Gly Ser
 355 360 365
 Thr Cys Ile Asp Arg Val Gly Ser Phe Ser Cys Leu Cys Pro Pro Gly
 370 375 380
 Arg Thr Gly Leu Leu Cys His Leu Glu Asp Met Cys Leu Ser Gln Pro
 385 390 395 400
 Cys His Gly Asp Ala Gln Cys Ser Thr Asn Pro Leu Thr Gly Ser Thr
 405 410 415
 Leu Cys Leu Cys Gln Pro Gly Tyr Ser Gly Pro Thr Cys His Gln Asp
 420 425 430
 Leu Asp Glu Cys Leu Met Ala Gln Gln Gly Pro Ser Pro Cys Glu His
 435 440 445
 Gly Gly Ser Cys Leu Asn Thr Pro Gly Ser Phe Asn Cys Leu Cys Pro
 450 455 460
 Pro Gly Tyr Thr Gly Ser Arg Cys Glu Ala Asp His Asn Glu Cys Leu
 465 470 475 480
 Ser Gln Pro Cys His Pro Gly Ser Thr Cys Leu Asp Leu Leu Ala Thr
 485 490 495
 Phe His Cys Leu Cys Pro Pro Gly Leu Glu Gly Gln Leu Cys Glu Val
 500 505 510
 Glu Thr Asn Glu Cys Ala Ser Ala Pro Cys Leu Asn His Ala Asp Cys
 515 520 525
 His Asp Leu Leu Asn Gly Phe Gln Cys Ile Cys Leu Pro Gly Phe Ser
 530 535 540
 Gly Thr Arg Cys Glu Glu Asp Ile Asp Glu Cys Arg Ser Ser Pro Cys
 545 550 555 560
 Ala Asn Gly Gly Gln Cys Gln Asp Gln Pro Gly Ala Phe His Cys Lys
 565 570 575
 Cys Leu Pro Gly Phe Glu Gly Pro Arg Cys Gln Thr Glu Val Asp Glu
 580 585 590
 Cys Leu Ser Asp Pro Cys Pro Val Gly Ala Ser Cys Leu Asp Leu Pro
 595 600 605
 Gly Ala Phe Phe Cys Leu Cys Pro Ser Gly Phe Thr Gly Gln Leu Cys
 610 615 620
 Glu Val Pro Leu Cys Ala Pro Asn Leu Cys Gln Pro Lys Gln Ile Cys
 625 630 635 640
 Lys Asp Gln Lys Asp Lys Ala Asn Cys Leu Cys Pro Asp Gly Ser Pro
 645 650 655
 Gly Cys Ala Pro Pro Glu Asp Asn Cys Thr Cys His His Gly His Cys
 660 665 670
 Gln Arg Ser Ser Cys Val Cys Asp Val Gly Trp Thr Gly Pro Glu Cys
 675 680 685
 Glu Ala Glu Leu Gly Gly Cys Ile Ser Ala Pro Cys Ala His Gly Gly
 690 695 700
 Thr Cys Tyr Pro Gln Pro Ser Gly Tyr Asn Cys Thr Cys Pro Thr Gly
 705 710 715 720
 Tyr Thr Gly Pro Thr Cys Ser Glu Glu Met Thr Ala Cys His Ser Gly
 725 730 735
 Pro Cys Leu Asn Gly Gly Ser Cys Asn Pro Ser Pro Gly Gly Tyr Tyr
 740 745 750
 Cys Thr Cys Pro Pro Ser His Thr Gly Pro Gln Cys Gln Thr Ser Thr
 755 760 765
 Asp Tyr Cys Val Ser Ala Pro Cys Phe Asn Gly Gly Thr Cys Val Asn
 770 775 780
 Arg Pro Gly Thr Phe Ser Cys Leu Cys Ala Met Gly Phe Gln Gly Pro
 785 790 795 800
 Arg Cys Glu Gly Lys Leu Arg Pro Ser Cys Ala Asp Ser Pro Cys Arg
 805 810 815
 Asn Arg Ala Thr Cys Gln Asp Ser Pro Gln Gly Pro Arg Cys Leu Cys
 820 825 830
 Pro Thr Gly Tyr Thr Gly Gly Ser Cys Gln Thr Leu Met Asp Leu Cys

		835					840					845			
Ala	Gln	Lys	Pro	Cys	Pro	Arg	Asn	Ser	His	Cys	Leu	Gln	Thr	Gly	Pro
		850					855					860			
Ser	Phe	His	Cys	Leu	Cys	Leu	Gln	Gly	Trp	Thr	Gly	Pro	Leu	Cys	Asn
865						870					875				880
Leu	Pro	Leu	Ser	Ser	Cys	Gln	Lys	Ala	Ala	Leu	Ser	Gln	Gly	Ile	Asp
					885					890				895	
Val	Ser	Ser	Leu	Cys	His	Asn	Gly	Gly	Leu	Cys	Val	Asp	Ser	Gly	Pro
			900					905					910		
Ser	Tyr	Phe	Cys	His	Cys	Pro	Pro	Gly	Phe	Gln	Gly	Ser	Leu	Cys	Gln
		915						920					925		
Asp	His	Val	Asn	Pro	Cys	Glu	Ser	Arg	Pro	Cys	Gln	Asn	Gly	Ala	Thr
930						935							940		
Cys	Met	Ala	Gln	Pro	Ser	Gly	Tyr	Leu	Cys	Gln	Cys	Ala	Pro	Gly	Tyr
945						950					955				960
Asp	Gly	Gln	Asn	Cys	Ser	Lys	Glu	Leu	Asp	Ala	Cys	Gln	Ser	Gln	Pro
					965						970				975
Cys	His	Asn	His	Gly	Thr	Cys	Thr	Pro	Lys	Pro	Gly	Gly	Phe	His	Cys
			980						985				990		
Ala	Cys	Pro	Pro	Gly	Phe	Val	Gly	Leu	Arg	Cys	Glu	Gly	Asp	Val	Asp
		995					1000						1005		
Glu	Cys	Leu	Asp	Gln	Pro	Cys	His	Pro	Thr	Gly	Thr	Ala	Ala	Cys	His
1010						1015						1020			
Ser	Leu	Ala	Asn	Ala	Phe	Tyr	Cys	Gln	Cys	Leu	Pro	Gly	His	Thr	Gly
1025						1030						1035			1040
Gln	Trp	Cys	Glu	Val	Glu	Ile	Asp	Pro	Cys	His	Ser	Gln	Pro	Cys	Phe
					1045					1050					1055
His	Gly	Gly	Thr	Cys	Glu	Ala	Thr	Ala	Gly	Ser	Pro	Leu	Gly	Phe	Ile
			1060						1065					1070	
Cys	His	Cys	Pro	Lys	Gly	Phe	Glu	Gly	Pro	Thr	Cys	Ser	His	Arg	Ala
		1075					1080						1085		
Pro	Ser	Cys	Gly	Phe	His	His	Cys	His	His	Gly	Gly	Leu	Cys	Leu	Pro
1090						1095							1100		
Ser	Pro	Lys	Pro	Gly	Phe	Pro	Pro	Arg	Cys	Ala	Cys	Leu	Ser	Gly	Tyr
1105						1110					1115				1120
Gly	Gly	Pro	Asp	Cys	Leu	Thr	Pro	Pro	Ala	Pro	Lys	Gly	Cys	Gly	Pro
					1125					1130					1135
Pro	Ser	Pro	Cys	Leu	Tyr	Asn	Gly	Ser	Cys	Ser	Glu	Thr	Thr	Gly	Leu
			1140					1145						1150	
Gly	Gly	Pro	Gly	Phe	Arg	Cys	Ser	Cys	Pro	His	Ser	Ser	Pro	Gly	Pro
		1155					1160						1165		
Arg	Cys	Gln	Lys	Pro	Gly	Ala	Lys	Gly	Cys	Glu	Gly	Arg	Ser	Gly	Asp
1170						1175						1180			
Gly	Ala	Cys	Asp	Ala	Gly	Cys	Ser	Gly	Pro	Gly	Gly	Asn	Trp	Asp	Gly
1185					1190					1195					1200
Gly	Asp	Cys	Ser	Leu	Gly	Val	Pro	Asp	Pro	Trp	Lys	Gly	Cys	Pro	Ser
					1205					1210					1215
His	Ser	Arg	Cys	Trp	Leu	Leu	Phe	Arg	Asp	Gly	Gln	Cys	His	Pro	Gln
			1220						1225					1230	
Cys	Asp	Ser	Glu	Glu	Cys	Leu	Phe	Asp	Gly	Tyr	Asp	Cys	Glu	Thr	Pro
		1235					1240						1245		
Pro	Ala	Cys	Thr	Pro	Ala	Tyr	Asp	Gln	Tyr	Cys	His	Asp	His	Phe	His
1250						1255						1260			
Asn	Gly	His	Cys	Glu	Lys	Gly	Cys	Asn	Thr	Ala	Glu	Cys	Gly	Trp	Asp
1265					1270						1275				1280
Gly	Gly	Asp	Cys	Arg	Pro	Glu	Asp	Gly	Asp	Pro	Glu	Trp	Gly	Pro	Ser
					1285					1290					1295
Leu	Ala	Leu	Leu	Val	Val	Leu	Ser	Pro	Pro	Ala	Leu	Asp	Gln	Gln	Leu
			1300					1305					1310		
Phe	Ala	Leu	Ala	Arg	Val	Leu	Ser	Leu	Thr	Leu	Arg	Val	Gly	Leu	Trp
			1315					1320					1325		

Val Arg Lys Asp Arg Asp Gly Arg Asp Met Val Tyr Pro Tyr Pro Gly
 1330 1335 1340
 Ala Arg Ala Glu Glu Lys Leu Gly Gly Thr Arg Asp Pro Thr Tyr Gln
 1345 1350 1355 1360
 Glu Arg Ala Ala Pro Gln Thr Gln Pro Leu Gly Lys Glu Thr Asp Ser
 1365 1370 1375
 Leu Ser Ala Gly Phe Val Val Val Met Gly Val Asp Leu Ser Arg Cys
 1380 1385 1390
 Gly Pro Asp His Pro Ala Ser Arg Cys Pro Trp Asp Pro Gly Leu Leu
 1395 1400 1405
 Leu Arg Phe Leu Ala Ala Met Ala Ala Val Gly Ala Leu Glu Pro Leu
 1410 1415 1420
 Leu Pro Gly Pro Leu Leu Ala Val His Pro His Ala Gly Thr Ala Pro
 1425 1430 1435 1440
 Pro Ala Asn Gln Leu Pro Trp Pro Val Leu Cys Ser Pro Val Ala Gly
 1445 1450 1455
 Val Ile Leu Leu Ala Leu Gly Ala Leu Leu Val Leu Gln Leu Ile Arg
 1460 1465 1470
 Arg Arg Arg Arg Glu His Gly Ala Leu Trp Leu Pro Pro Gly Phe Thr
 1475 1480 1485
 Arg Arg Pro Arg Thr Gln Ser Ala Pro His Arg Arg Arg Pro Pro Leu
 1490 1495 1500
 Gly Glu Asp Ser Ile Gly Leu Lys Ala Leu Lys Pro Lys Ala Glu Val
 1505 1510 1515 1520
 Asp Glu Asp Gly Val Val Met Cys Ser Gly Pro Glu Glu Gly Glu Glu
 1525 1530 1535
 Val Gly Gln Ala Glu Glu Thr Gly Pro Pro Ser Thr Cys Gln Leu Trp
 1540 1545 1550
 Ser Leu Ser Gly Gly Cys Gly Ala Leu Pro Gln Ala Ala Met Leu Thr
 1555 1560 1565
 Pro Pro Gln Glu Ser Glu Met Glu Ala Pro Asp Leu Asp Thr Arg Gly
 1570 1575 1580
 Pro Asp Gly Val Thr Pro Leu Met Ser Ala Val Cys Cys Gly Glu Val
 1585 1590 1595 1600
 Gln Ser Gly Thr Phe Gln Gly Ala Trp Leu Gly Cys Pro Glu Pro Trp
 1605 1610 1615
 Glu Pro Leu Leu Asp Gly Gly Ala Cys Pro Gln Ala His Thr Val Gly
 1620 1625 1630
 Thr Gly Glu Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Phe Ser Arg Pro Thr
 1635 1640 1645
 Ala Ala Arg Arg Leu Leu Glu Ala Gly Ala Asn Pro Asn Gln Pro Asp
 1650 1655 1660
 Arg Ala Gly Arg Thr Pro Leu His Ala Ala Val Ala Ala Asp Ala Arg
 1665 1670 1675 1680
 Glu Val Cys Gln Leu Leu Arg Ser Arg Gln Thr Ala Val Asp Ala
 1685 1690 1695
 Arg Thr Glu Asp Gly Thr Thr Pro Leu Met Leu Ala Ala Arg Leu Ala
 1700 1705 1710
 Val Glu Asp Leu Val Glu Glu Leu Ile Ala Ala Gln Ala Asp Val Gly
 1715 1720 1725
 Ala Arg Asp Lys Trp Gly Lys Thr Ala Leu His Trp Ala Ala Val
 1730 1735 1740
 Asn Asn Ala Arg Ala Ala Arg Ser Leu Leu Gln Ala Gly Ala Asp Lys
 1745 1750 1755 1760
 Asp Ala Gln Asp Asn Arg Glu Gln Thr Pro Leu Phe Leu Ala Ala Arg
 1765 1770 1775
 Glu Gly Ala Val Glu Val Ala Gln Leu Leu Leu Gly Leu Gly Ala Ala
 1780 1785 1790
 Arg Glu Leu Arg Asp Gln Ala Gly Leu Ala Pro Ala Asp Val Ala His
 1795 1800 1805
 Gln Arg Asn His Trp Asp Leu Leu Thr Leu Leu Glu Gly Ala Gly Pro

	1810		1815		1820
	Pro Glu Ala Arg His Lys Ala Thr Pro Gly Arg Glu Ala Gly Pro Phe				
	1825		1830		1835
	Pro Arg Ala Arg Thr Val Ser Val Ser Val Pro Pro His Gly Gly Gly				1840
			1845		1850
	Ala Leu Pro Arg Cys Arg Thr Leu Ser Ala Gly Ala Gly Pro Arg Gly				1855
			1860		1865
	Gly Gly Ala Cys Leu Gln Ala Arg Thr Trp Ser Val Asp Leu Ala Ala				1870
			1875		1880
	Arg Gly Gly Gly Ala Tyr Ser His Cys Arg Ser Leu Ser Gly Val Gly				1885
			1890		1895
	Ala Gly Gly Gly Pro Thr Pro Arg Gly Arg Arg Phe Ser Ala Gly Met				1900
			1905		1910
	Arg Gly Pro Arg Pro Asn Pro Ala Ile Met Arg Gly Arg Tyr Gly Val				1915
			1925		1930
	Ala Ala Gly Arg Gly Gly Arg Val Ser Thr Asp Asp Trp Pro Cys Asp				1935
			1940		1945
	Trp Val Ala Leu Gly Ala Cys Gly Ser Ala Ser Asn Ile Pro Ile Pro				1950
			1955		1960
	Pro Pro Cys Leu Thr Pro Ser Pro Glu Arg Gly Ser Pro Gln Leu Asp				1965
			1970		1975
	Cys Gly Pro Pro Ala Leu Gln Glu Met Pro Ile Asn Gln Gly Gly Glu				1980
			1985		1990
	Gly Lys Lys				1995
					2000

	<210> 9	
	<211> 19	
5	<212> ADN	
	<213> Mus musculus	
	<400> 9	
10	gaggccaag ccgaacctg	19
	<210> 10	
	<211> 21	
	<212> ADN	
15	<213> mus musculus	
	<400> 10	
	atcgtgatg tgcagttcac a	21
	<210> 11	
20	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Mus musculus	
	<400> 11	
25	cgctgccggc ctgattcac	20
	<210> 12	
	<211> 18	
30	<212> ADN	
	<213> Mus musculus	
	<400> 12	
	gatgcaagcc cggaagaa	18
35	<210> 13	
	<211> 22	
	<212> ADN	
	<213> Mus musculus	
40	<400> 13	
	tcgcaattca gaaaggctac tg	22
	<210> 14	

ES 2 400 666 T3

<211> 17
 <212> ADN
 <213> Mus musculus
 5 <400> 14
 cgcgagagga tcataga 17
 <210> 15
 <211> 19
 10 <212> ADN
 <213> Mus musculus
 <400> 15
 15 ctacacatcg ccgcttcg 19
 <210> 16
 <211> 18
 <212> ADN
 20 <213> Mus musculus
 <400> 16
 cgcgctactg gccttggt 18
 <210> 17
 <211> 15
 <212> ADN
 25 <213> Mus musculus
 <400> 17
 30 ccaccaggac atcgt 15
 <210> 18
 <211> 530
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Sintético
 40 <400> 18

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

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

<210> 19
 <211> 458
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 19

5

10

```

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

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 435     440     445
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450     455

```

<210> 20
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 20

```

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1      5      10      15
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20      25      30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35      40      45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50      55      60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65      70      75      80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85      90      95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100     105     110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115     120     125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130     135     140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145     150     155     160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165     170     175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180     185     190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195     200     205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210     215     220
Pro Gly Lys
 225

```

<210> 21
 <211> 272
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 21

```

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

```

```

65      70      75      80
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
      85      90      95
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
      100     105     110
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
      115     120     125
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
      130     135     140
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
      145     150     155
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
      165     170     175
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
      180     185     190
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
      195     200     205
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
      210     215     220
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
      225     230     235
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
      245     250     255
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
      260     265     270

```

<210> 22
 <211> 418
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Sintético

10

<400> 22

```

Ser Gly Val Phe Gln Leu Gln Leu Gln Glu Phe Ile Asn Glu Arg Gly
  1      5      10
Val Leu Ala Ser Gly Arg Pro Cys Glu Pro Gly Cys Arg Thr Phe Phe
  20     25     30
Arg Val Cys Leu Lys His Phe Gln Ala Val Val Ser Pro Gly Pro Cys
  35     40     45
Thr Phe Gly Thr Val Ser Thr Pro Val Leu Gly Thr Asn Ser Phe Ala
  50     55     60
Val Arg Asp Asp Ser Ser Gly Gly Gly Arg Asn Pro Leu Gln Leu Pro
  65     70     75     80
Phe Asn Phe Thr Trp Pro Gly Thr Phe Ser Leu Ile Ile Glu Ala Trp
  85     90     95
His Ala Pro Gly Asp Asp Leu Arg Pro Glu Ala Leu Pro Pro Asp Ala
  100    105    110
Leu Ile Ser Lys Ile Ala Ile Gln Gly Ser Leu Ala Val Gly Gln Asn
  115    120    125
Trp Leu Leu Asp Glu Gln Thr Ser Thr Leu Thr Arg Leu Arg Tyr Ser
  130    135    140
Tyr Arg Val Ile Cys Ser Asp Asn Tyr Tyr Gly Asp Asn Cys Ser Arg
  145    150    155
Leu Cys Lys Lys Arg Asn Asp His Phe Gly His Tyr Val Cys Gln Pro
  165    170    175
Asp Gly Asn Leu Ser Cys Leu Pro Gly Trp Thr Gly Glu Tyr Cys Asp
  180    185    190
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

```

```

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

```

<210> 23
 <211> 410
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Sintético

10

<400> 23

```

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

```

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

<210> 24
 <211> 370
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

10 <400> 24

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

```

145          150          155          160
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
          165          170          175
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
          180          185          190
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
          195          200          205
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
          210          215          220
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
225          230          235          240
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
          245          250          255
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
          260          265          270
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
          275          280          285
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
          290          295          300
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
305          310          315          320
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
          325          330          335
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
          340          345          350
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
          355          360          365
Gly Lys
          370

```

<210> 25
 <211> 332
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 25

```

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

```

```

                165                170                175
Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
      180                185                190
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
      195                200                205
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
      210                215                220
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
      225                230                235
Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
      245                250                255
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
      260                265                270
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
      275                280                285
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
      290                295                300
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
      305                310                315                320
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
      325                330

```

<210> 26
 <211> 292
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintético

<400> 26

```

Gln Gln Pro Ile Cys Leu Ser Gly Cys His Glu Gln Asn Gly Tyr Cys
 1      5      10      15
Ser Lys Pro Ala Glu Cys Leu Cys Arg Pro Gly Trp Gln Gly Arg Leu
      20      25      30
Cys Asn Glu Cys Ile Pro His Asn Gly Cys Arg His Gly Thr Cys Ser
      35      40      45
Thr Pro Trp Gln Cys Thr Cys Asp Glu Gly Trp Gly Gly Leu Phe Cys
      50      55      60
Asp Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
      65      70      75      80
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
      85      90      95
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
      100     105     110
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
      115     120     125
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
      130     135     140
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
      145     150     155     160
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
      165     170     175
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
      180     185     190
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
      195     200     205
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
      210     215     220
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

```


ES 2 400 666 T3

225					230					235				240	
Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr
				245					250					255	
Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val
			260					265					270		
Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu
		275					280					285			
Ser	Pro	Gly	Lys												
	290														

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un antagonista de ligando de tipo delta 4 (DII4) y un inhibidor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) para su uso en un método para tratar el desarrollo o crecimiento tumoral, siendo dicho antagonista de DII4 un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente con DII4 y bloquea la unión de DII4 con un receptor Notch, o una proteína de fusión que comprende un dominio extracelular de DII4 y un dominio Fc humano de SEC ID N°: 20.
- 10 2. El antagonista de DII4 e inhibidor de VEGF para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el anticuerpo o fragmento de anticuerpo de DII4 es policlonal.
3. El antagonista de DII4 e inhibidor de VEGF para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el anticuerpo o fragmento de anticuerpo de DII4 es monoclonal.
- 15 4. El antagonista de DII4 e inhibidor de VEGF para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el anticuerpo o fragmento de anticuerpo es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo humanizado.
- 20 5. El antagonista de DII4 e inhibidor de VEGF para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el anticuerpo o fragmento de anticuerpo es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo quimérico.
6. El antagonista de DII4 e inhibidor de VEGF para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el anticuerpo o fragmento de anticuerpo es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo completamente humano.
- 25 7. El antagonista de DII4 e inhibidor de VEGF para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el fragmento de anticuerpo es un anticuerpo de cadena sencilla.
8. El antagonista de DII4 e inhibidor de VEGF para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el fragmento de anticuerpo es un Fab.
- 30 9. El antagonista de DII4 e inhibidor de VEGF para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el fragmento de anticuerpo es un F(ab')₂.
- 35 10. El antagonista de DII4 e inhibidor de VEGF para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el inhibidor de VEGF es un anticuerpo anti-VEGF.
11. El antagonista de DII4 e inhibidor de VEGF para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el inhibidor de VEGF es un bloqueador de VEGF de SEC ID N°: 19.

Fig. 1

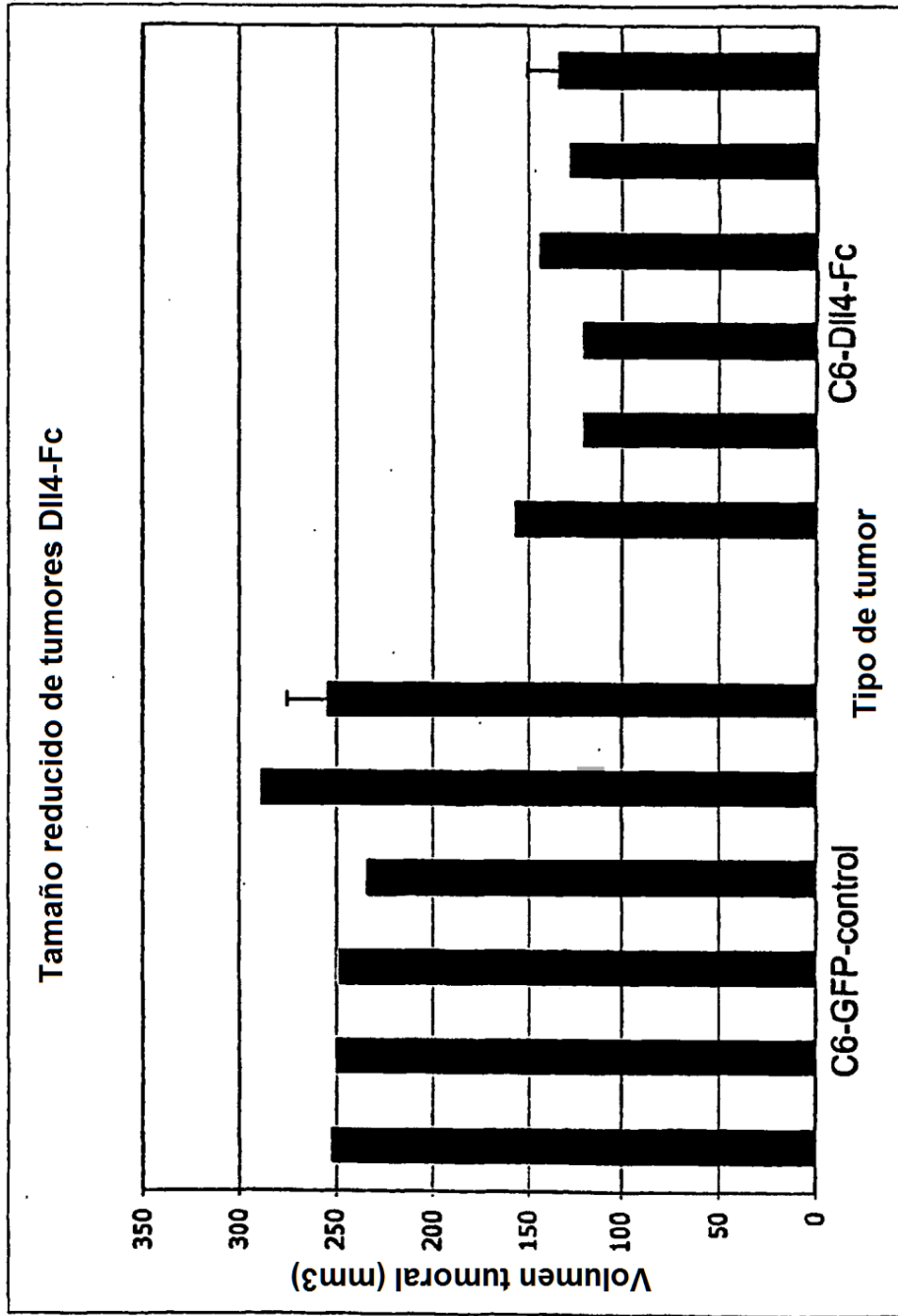


Fig. 2

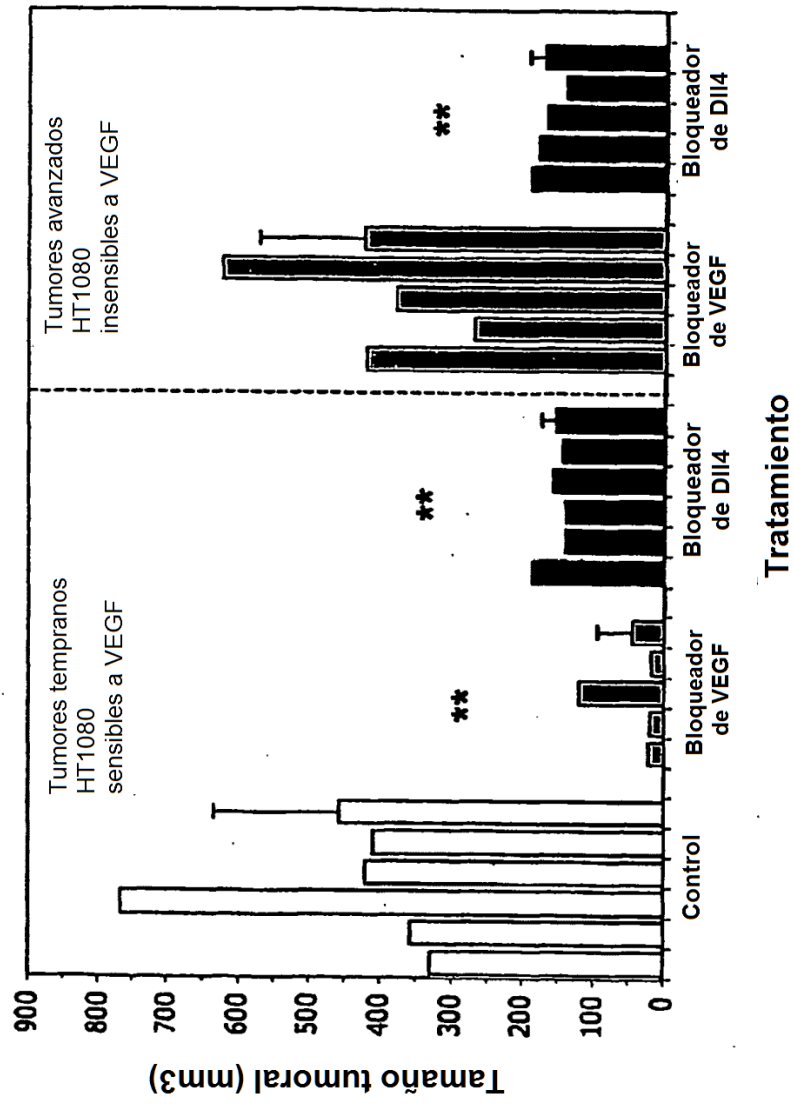


Fig. 3

Inhibición de tumores HT1080 por DII4-Fc
o anticuerpos policlonales de DII4

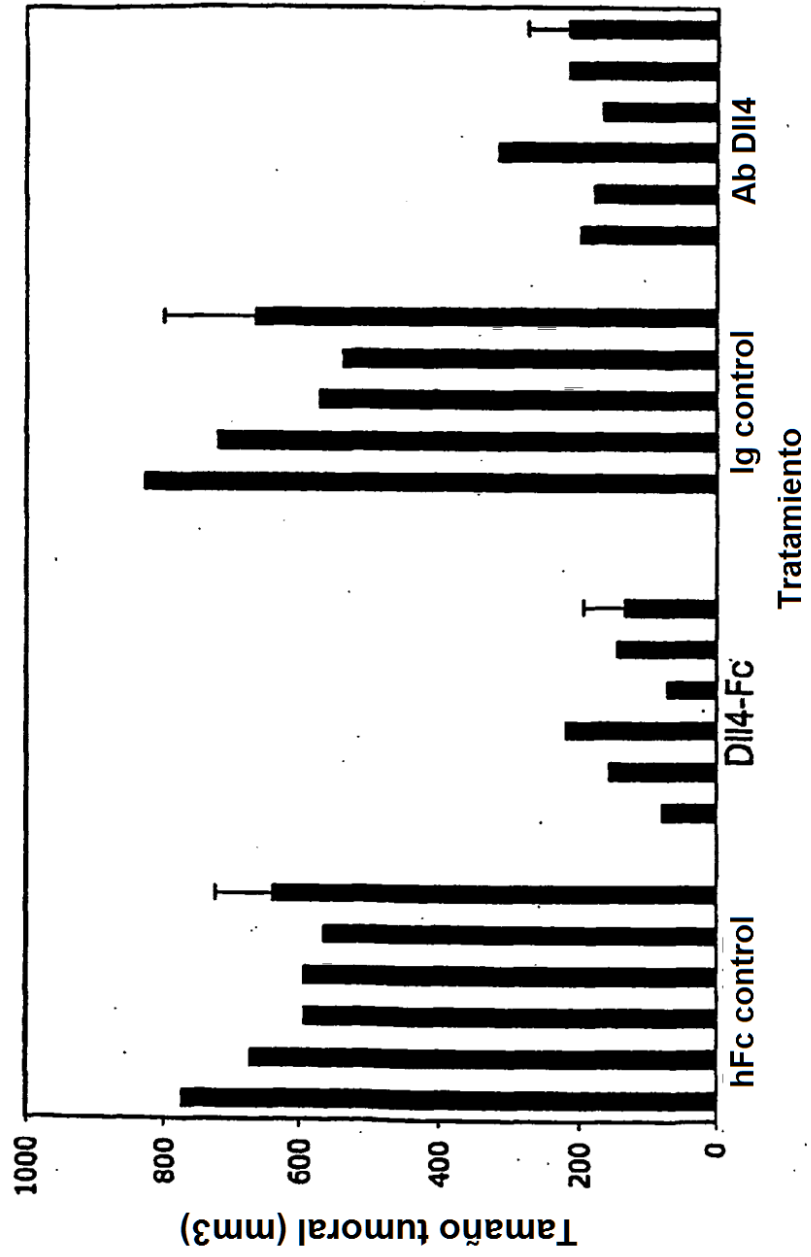


Fig. 4

