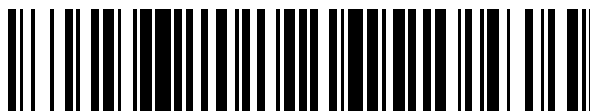


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 550 310**

51 Int. Cl.:

C07K 14/47 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.09.2009** **E 09844461 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.07.2015** **EP 2427766**

54 Título: **Gen humano fg01 y sus aplicaciones**

30 Prioridad:

08.05.2009 US 176530 P
19.05.2009 US 179409 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.11.2015

73 Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US

72 Inventor/es:

LI, WU-BO;
KINCH, MICHAEL y
GOLDBLATT, MICHAEL

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 550 310 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).

DESCRIPCION

Gen humano fg01 y sus aplicaciones

Campo de la invención

La presente invención implica la identificación de un gen humano implicado en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer (AD) y los métodos para aumentar la expresión de ese gen o de la proteína que codifica para inhibir, tratar, reducir y posiblemente revertir los síntomas asociados con la AD.

Técnica relacionada

Esta solicitud está relacionada con el descubrimiento expuesto en la solicitud de patente US nº de serie 12/399.850 (publicada como US2009/0233993) de un gen *fg01* de ratón que expresa una proteína *fg01* de ratón que parece inhibir la actividad de la serina/treonina quinasa GSK3. La inhibición o regulación a la baja de esta enzima ha demostrado que reduce ciertos síntomas asociados con la AD, incluyendo la acumulación de A β , un producto de escisión de APP que se encuentra en placas y otra fisiognomía asociada con la AD. Los inventores designados en este documento también son los inventores designados en 12/399.850. Esa solicitud identifica un gen de ratón, y la proteína codificada por él, que fueron identificados por medio de un proceso denominado Perturbación Aleatoria del Gen Homólogo (RHGP), que permite la inserción aleatoria de un vector de búsqueda del gen que, cuando se inserta en el alelo de un gen eucariota, genera una secuencia de ARN antisentido o sentido, que inactiva o activa el alelo correspondiente. Este proceso permite la inspección de todo el genoma de una célula eucariota, para identificar objetivos específicos para la manipulación. Esto se describe en la Solicitud de Patente de Estados Unidos nº de serie 11/928.393 (publicada como US2009/0136927). En esta solicitud se describe, el gen humano, un requisito previo para la configuración del tratamiento terapéutico basado en ese gen y la proteína codificada por él. El *fg01* humano y la proteína *fg01* humana codificada ofrecen oportunidades para la detección de los pacientes que se pueden tratar de manera efectiva para controlar el desarrollo de los síntomas de la AD, así como oportunidades para la intervención terapéutica.

Antecedentes de la invención

La AD es una enfermedad neuronal progresiva y generalmente mortal. Los síntomas reflejados por los pacientes con AD incluyen la pérdida profunda de memoria, una reducción de pensamiento de orden superior y un comportamiento aberrante. Actualmente, no hay cura conocida, aunque se están explorando una serie de tratamientos para los síntomas descritos. En parte debido a su naturaleza progresiva, el coste ocasionado por los pacientes con AD es enorme, en sus recursos y en los de los cuidadores.

Hay dos estructuras cerebrales profundas que están asociadas con el "fenotipo AD." Estas se conocen generalmente como "placas" y "ovillos". Las placas reflejan la producción excesiva y la acumulación del péptido β -amiloide (A β) que es el producto de la escisión de la proteína APP. Los estudios genéticos y químicos han demostrado que una variedad de mutaciones patógenas en el gen APP y en los genes que codifican las proteínas conocidas como las presenilinas 1 y 2 (PSL y PS2), el componente principal del complejo gamma-secretasa, aumentan la producción de péptido A β . En la patente US 5.898.094 se describe un modelo de ratón de AD, en el que los ratones muestran la aparición temprana de la formación de placa, y la hiperfosforilación de otra proteína, tau, que se encuentra normalmente dentro de las células neuronales muertas o agonizantes en forma de ovillos, que están compuestos en gran parte por proteínas tau tan fosforiladas que se han vuelto insolubles, y aparecen en forma de filamentos. La investigación relacionada dio lugar a un modelo de ratón con un transgén humano de tau, a un modelo de AD mejorado, tal como se describe en la patente US7161060.

Posteriormente, en la solicitud de patente US nº de serie 12/399.850 (publicada como US2009/0233993) se describe la identificación de un gen en ratones que tiene una correlación directa con el "fenotipo AD", por los inventores actuales y otros. Aunque la regulación al alza del gen y de la proteína codificada de este modo, *fg01* de ratón y *fg01* de ratón, parecían ofrecer alguna inhibición de los patrones de escisión que dan lugar al fenotipo AD, la supresión de la formación de placa y ovillo, una amplia investigación indicó que no existía ningún análogo en humanos. (*Neuron*, Zhang et al, en proceso de publicación). Mientras que la modificación transgénica de las células humanas para expresar el gen *fg01* de ratón indicaba el valor de una regulación al alza, la proteína codificada por este gen de ratón es inmunogénica, y no ofrece un método para el tratamiento de los seres humanos.

Xu *et al*, S4-01-04, Alzheimer's & Dementia: The Journal of The Alzheimer's Association, Elsevier, Nueva York, NY, US, vol.4, no.4, 1 de Julio 2008 describe la identificación y caracterización de un nuevo gen que inhibe la actividad de GSK3 y la producción de A β . El número de acceso al EBI EM_HU:AP002906 de fecha 8 de noviembre de 200 se refiere al ADN genómico del Homo sapiens, cromosoma 8q23, clon KB1589B1. La patente WO2004/093804 A2 se refiere a polipéptidos humanos que codifican polipéptidos y los métodos de utilización.

Carninci P *et al*, Genome Research, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Woodbury, NY, US, vol.10, nº10, 1 de enero 2000 se refiere a la normalización y sustracción de ADNc seleccionados de captura de caperuza para preparar bibliotecas de ADNc de longitud completa para el descubrimiento rápido de genes nuevos. US2005/196839 A1 se refiere a composiciones de la enzima beta-secretasa y métodos de utilización de la misma.

COMPENDIO DE LA INVENCION

La secuencia humana para *fg01* se describe en la Figura 1, codifica una proteína de 173 aminoácidos, la *fg01* humana, que se describe en la figura 2. La proteína es una proteína de transmembrana de tipo Ib, similar en estructura general a la *fg01* ratón. Comparte menos de un 70% de homología con la análoga de ratón, sin embargo, lo que es la base para la inmunogenicidad de la proteína de ratón *fg01*.

El ratón FG01 se identificó en un trabajo basado en RHGP para identificar nuevos reguladores de la producción de A β . Se piensa que la regulación de A β que es un marcador clave de los daños de la enfermedad de Alzheimer (AD) y los inhibidores de A β podrían ofrecer oportunidades muy necesarias para prevenir o tratar esta enfermedad.

El trabajo de RHGP utilizó una línea celular murina y la hipótesis de un mecanismo en el que *fg01*, una proteína de transmembrana, induce la actividad enzimática de la adenilil ciclasa, que promueve la producción de AMPc y a su vez activa la proteína quinasa A (PKA). La activación de PKA sirve entonces para inhibir la actividad de la quinasa GSK3 y por lo tanto evita la fosforilación de tau. Estas actividades sirven para disminuir la producción de A β y de este modo disminuir o impedir la deposición de placas amiloides, sello distintivo de la manifestación de la enfermedad de Alzheimer. En conjunto, estos resultados sugieren que la regulación al alza del *fg01* humano podría usarse para disminuir la patogenicidad celular de la enfermedad de Alzheimer.

Basándose en estos hallazgos, las terapias que directamente regulan al alza la expresión de la *fg01* humana (por ejemplo, a través de la terapia génica), regulan indirectamente al alza la expresión de *fg 01* (por ejemplo, inductores de expresión de la *fg01* humana endógena o que imitan la expresión de *fg 01* (por ejemplo, que activan la adenilil ciclasa, que aumentan AMPc, que inhiben GSK3 o que impiden la fosforilación de tau) de manera similar podrían tener utilidad para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

Por lo tanto, la invención proporciona un ácido nucleico aislado que codifica una proteína que tiene la secuencia de aminoácidos

MSPWSLGGMQKTGLASDSQSGRHPPLPAPQFLEAGGQKKDTGYFDNLKANSRNI
TNSMTFLTKSSNQSFMVFNKVQATITEYKGCDFLAILDPLDPDTLPNGRIWLFGF
NSYFSQHNSFCMRSTSKRVGLQGCAQMGFLVLFIMPLLILLVTTETPSSMRSTTLA
HPAVLRA.

La invención proporciona un aislado de proteínas que tiene la secuencia de aminoácidos codificada por el ácido nucleico de la Figura 1.

Además, la invención proporciona un método de supresión *in vitro* o *ex vivo* de la formación de placas de β -amiloides en las células huéspedes, que comprende incrementar el nivel de la proteína *fg01* en dichas células mediante terapia génica, donde la proteína *fg01* tiene una secuencia de aminoácidos codificada por el ácido nucleico de la Figura 1 o codificada por el ácido nucleico de la Figura 1 que se modifica mediante la sustitución de uno o más nucleótidos que corresponden a uno cualquiera de los polimorfismos de un solo nucleótido mostrados en la Figura 3, siendo dichos polimorfismos de un solo nucleótido adenina sustituida por timina en la posición 218, adenina sustituida por timina en la posición 224 y adenina sustituida por guanina en la posición 246.

La invención también proporciona la proteína *fg01* para uso en un método de supresión de la formación de placas β -amiloides en células huéspedes *in vivo*, donde dicho método comprende aumentar el nivel de *fg01* en dichas células mediante terapia génica y donde la proteína *fg01* tiene una secuencia de aminoácidos codificada por el ácido nucleico de la Figura 1 o codificada por el ácido nucleico de la Figura 1 que se modifica mediante la sustitución de uno o más nucleótidos que corresponden a uno cualquiera de los polimorfismos de un solo nucleótido mostrados en la Figura 3, siendo dichos polimorfismos de un solo nucleótido adenina sustituida por timina en la posición 218, adenina sustituida por timina en la posición 224 y adenina sustituida por guanina en la posición 246.

La invención también proporciona un ácido nucleico aislado con la secuencia de la Figura 1, donde dicha secuencia se modifica mediante la sustitución de uno o más nucleótidos que corresponden a uno cualquiera de los polimorfismos de un solo nucleótido que se muestran en la Figura 3, siendo dichos polimorfismos de un solo nucleótido adenina sustituida por timina en la posición 218, adenina sustituida por timina en la posición 224 y adenina sustituida por guanina en la posición 246.

Breve descripción de los dibujos

Los dibujos adjuntos, que se incorporan en el presente documento y que constituyen parte de esta descripción, ilustran ejemplos de realizaciones de la invención, y, junto con la descripción general proporcionada anteriormente y la descripción detallada proporcionada a continuación, sirven para explicar las características de la invención.

Figura 1: **Secuencia del ADNc del fg 01 humano.** Proporciona la secuencia del ADNc de fg 01 humano obtenido a partir de una biblioteca de tejido cerebral fetal. El inicio ATG y codón de terminación TGA se muestran en rojo. Los límites de los intrones y exones se muestran en verde.

Figura 2: **Secuencia de la proteína fg01 humana.** La secuencia de la proteína fg01 humana codificada por el gen fg01 se proporciona en la Figura 2, desde el N- hasta el C-terminal. El dominio de membrana de la proteína humana fg01 se presenta en azul, y varios sitios de glicosilación potencial se exponen en rojo.

Figura 3: **Polimorfismo del fg01 humano.** Algunos sitios en el gen fg01 humano se identifican como polimórficos, con las mutaciones identificadas indicadas.

Figura 4: **Sitios de fosforilación potencial** La proteína humana fg01 probablemente se activa por fosforilación. Presenta una serie de sitios de fosforilación tanto intracelularmente como más allá del dominio transmembrana, en la parte extracelular de la molécula. Estos sitios de fosforilación potencial se identifican en la Figura 4.

Figura 5: **Alineamiento con el fg01 murino.** La búsqueda del gen fg01 humano se inspiró en la identificación del gen fg01 murino, descrito en la Solicitud de Patente de Estados Unidos número de serie 12/399.850 (publicada como US2009/0233993) y en *Neuron*, Zhang et al, (*Neuron* 64, paginas 328-340, 12 de noviembre, 2009). Aunque estos investigadores no encontraron ninguna equivalente humana, en la Figura 5 se describe un alineamiento de las proteínas fg01 humana y murina

Figura 6: **Predicción de la estructura para la fg01 humana.** Basándose en la secuencia de la proteína humana fg01, y la conformación de proteínas similares, se expone en la Figura 6 la estructura conformacional de la fg01 humana, con la identificación del resto de aminoácido insertado.

Figura 7: **Comparación de la estructura de las proteínas fg01 humanas y murinas.** La estructura tridimensional nominal de las proteínas fg01 humanas y de ratón se compara en la Figura 7, mostrando una estructura conservada aunque la homología de la secuencia es inferior al 70%.

Descripción de la invención

Para identificar la homóloga humana de fg01, la búsqueda en el buscador de genoma humano indica que un dominio del ADN genómico en el cromosoma 8 humano comparte relativamente una gran homología con la secuencia de codificación de la fg01 de ratón. Aunque no hay información del ARNm humano ni de la secuencia EST (marcador de secuencia expresada) disponible en ese locus en GeneBank, las secuencias 5' y 3' del ADNc se amplificaron por PCR a partir de una biblioteca de ADNc de cerebro fetal humano construidas en un vector de clonación usando cebadores específicos del cromosoma 8 humano junto con los cebadores diseñados a partir del vector de clonación del ADNc. Se reconstituyó una secuencia de ADNc de 1569-bp de longitud completa a partir de los productos de PCR. La secuencia de ADNc también se confirmó con una RT-PCR separada de un ARN total de cerebro fetal humano.

La secuencia del ADNc coincide perfectamente con el cromosoma 8 humano y contiene 4 exones que abarcan una continuidad genómica de 6,7 kb. El primer exón se encuentra dentro de la región de las islas CpG. Un marco de lectura abierto que codifica una proteína de 173 aminoácidos se localiza entre los exones 2 y 3. De manera similar a la proteína fg01 ratón, la fg01 homóloga humana es una proteína de membrana de tipo Ib. Las proteínas fg01 humanas y de ratón comparten un grado de homología algo inferior al 70%.

Se identificaron tres sitios potenciales de glicosilación en el dominio extracelular de la proteína humana fg01 mediante un programa de predicción por ordenador. Además, el programa de predicción por ordenador también identificó varios sitios potenciales de fosforilación en los dominios intracelulares y extracelulares de la proteína. Las proteínas de membrana similares se activan por fosforilación intracelular, causando un cambio en la conformación y, a veces de actividad.

La búsqueda en la base de datos reveló que tres SNPs (Polimorfismos de un Solo Nucleótido) están involucrados en la región de codificación produciendo el cambio de 2 aminoácidos. Estos cambios de aminoácidos pueden estar relacionados con la patogénesis de la AD y, en particular, con la manifestación del fenotipo AD.

El aumento de la expresión de gen fg01 se muestra eficaz en la supresión del desarrollo del fenotipo AD. En particular, una mayor expresión (sobre-expresión) del gen fg01 retrasa y reduce la formación de las placas comúnmente asociadas con la AD. La presencia de la proteína fg01 podría suprimir adecuadamente la escisión anormal de APP que conduce a la acumulación de A β y la fosforilación de tau. Esto ofrece varias realizaciones diferentes de intervención ya sea para retrasar o prevenir la aparición de la AD, o para tratar la AD evitando el progreso de los síntomas. Los métodos para aumentar la expresión de un gen mediante terapia génica dirigida son bien conocidos.

En una primera alternativa, la fg01 humana podría funcionar de forma idéntica a la fg01 murina tal y como se describe en la solicitud de Patente de Estados Unidos número de serie 12/399.850. Esto podría surgir si fg01 interactuase con la membrana celular como una proteína de membrana periférica o si interactuase con la membrana

celular indirectamente a través de otras proteínas (por ejemplo, interacciones cis con proteínas que atraviesan la membrana o a través de modificaciones post-traduccionales (por ejemplo, miristoilación) que facilita las interacciones de membrana. En este escenario, se pueden utilizar las estrategias que se emplean generalmente para mejorar la expresión de los genes, por medio de la terapia génica. De esta manera, el genoma de la célula se puede transformar incluyendo múltiples copias del gen, ya sea por transfección con un plásmido que incorpore el gen *fg01* humano ligado operativamente a una secuencia reguladora que permita su expresión (por ejemplo, un promotor) o insertado aguas abajo de un promotor activo. La célula puede ser modificada incluyendo un gen amplificable, tal como el DHFR, y expuesta a estrés del tipo de una toxina como el metotrexato para inducir la amplificación del gen amplificable y aquellos cercanos, que incluirían el *fg01* del genoma nativo, el gen DHFR que se habría situado cerca del gen *fg01*.

Alternativamente, la expresión génica se puede regular al alza mediante la inserción del promotor y/o de elementos potenciadores aguas arriba o abajo de la transcripción genómica, aumentando la expresión del gen. Estos y otros métodos de aumento de la expresión a través de la modificación del genoma humano, ya sea por la inserción de copias del gen, o por modificación del genoma para aumentar la expresión del gen, se exponen en la Patente de Estados Unidos 5272071.

La terapia génica para aumentar los niveles de expresión de proteína *fg01* puede efectuarse in vivo, mediante la introducción de plásmidos de transfección en las células del organismo huésped. Alternativamente, pueden efectuarse *ex vivo*, de manera que las células huéspedes se transformen *in vitro* y posteriormente se introduzcan de nuevo en el huésped. Y, por supuesto, pueden llevarse a cabo *in vitro*.

Además, si la proteína *fg01* humana interactúa con la membrana celular externa como una membrana periférica o soluble (no directamente unida a la membrana, sino a través de interacciones con otras proteínas), a continuación, la entrega ectópica de la proteína *fg01* podría ser suficiente para intervenir en los mismos tipos de efectos observados a través de la sobreexpresión de la *fg01* (murina) asociada a la membrana. En este caso, el tratamiento de los pacientes con la *fg01* de tipo salvaje o preferiblemente humana recombinante podría tener utilidad para tratar la enfermedad de Alzheimer u otras indicaciones asociadas con la deposición de Aβ. Del mismo modo, los derivados de la *fg01* humana (por ejemplo, proteínas de fusión) podrían servir para el mismo propósito.

La *fg01* humana puede presentar sus efectos a través de interacciones *trans* con otras proteínas asociadas a la membrana (de manera similar a la manera en que un factor de crecimiento soluble estimula su receptor) y que esta actividad pudiese ser imitada utilizando otras formas de estimular los ligandos. En este caso, la molécula pequeña (entidades químicas, aptámeros) o biológica (por ejemplo, anticuerpos, avímeros) que estimula al mismo receptor o sistema de señalización podría tener utilidad para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. En particular se puede utilizar la generación de anticuerpos adecuados utilizando bien la generación inmunogénica del huésped convencional como se indica en Kohler-Milstein, seguida de la humanización de los CDR, o la presentación en fagos, para proporcionar anticuerpos humanos. Los anticuerpos terapéuticamente eficaces con otras proteínas transmembrana, tales como los anticuerpos en Herceptin® y Avastin® son conocidos por los expertos en la técnica.

En esencia, la identificación del gen *fg01* humano y de la proteína *fg01* codificada por el mismo abre la puerta a la mejora del tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, y mejora el diagnóstico. Los diagnósticos actuales se basan en gran parte en pruebas parcialmente subjetivas del grado de pérdida de la función cognitiva, del pensamiento de orden superior y similares. Aunque la presencia de una cantidad grande o pronunciada de placas y ovillos, es decir, la manifestación del fenotipo AD, puede ser indicativa de la AD progresiva, la identificación de la norma para cualquier sujeto particular, o la línea de base para una población, sigue siendo imprecisa.

Por medio de la detección de la expresión del *fg01* humano, así como por la presencia de la proteína *fg01* humana, se puede identificar a los pacientes potencialmente con mayor riesgo de desarrollar AD. Se pueden examinar los niveles de *fg01* en el cerebro y en el cuerpo de los pacientes que presentan el desarrollo de los síntomas, lo que puede permitir la identificación rápida de aquellos en progresión hacia la AD profunda, los cuales podrían ser tratados mejor o más inmediatamente con terapias que retrasen la aparición de los síntomas de la AD, como Aricept® (clorhidrato de donepezilo). La misma detección puede permitir la identificación de las rutas de tratamiento preferidas, ya sea a través de la terapia génica, o mediante la administración de proteína de *fg01*, o de una molécula pequeña o biológica que mejore la acción de *fg01*, dependiendo, por ejemplo, de la frecuencia de los transcritos de *fg01*, las concentraciones de ARNm, los niveles circulantes de proteínas y similares.

La invención descrita en este documento reside en la identificación de nuevas secuencias de genes y secuencias de proteínas. Estos genes y proteínas se producen de forma natural, y por lo tanto la invención del presente documento reside en su identificación como formas aisladas y detectables. Los inventores entienden por aislado en este documento que la secuencia del ácido nucleico indicada, o la secuencia de los aminoácidos, haya sido separada del cromosoma en el que se encuentran (cromosoma 8) o del citoplasma y célula y restos de células que se encuentran en la matriz extracelular, de manera que el ácido nucleico o la proteína pueden ser identificados y manipulados. Se contempla la purificación a un nivel terapéutico, pero no es un requisito para la presente invención, o su uso.

Esta invención se ha descrito en términos de la secuencia del ácido nucleico para el gen identificado, y de la secuencia de aminoácidos de la proteína correspondiente. Los expertos en la técnica son muy conscientes de las

- modificaciones que se pueden introducir en la secuencia de nucleótidos sin afectar a la proteína expresada, incluyendo los métodos de truncamiento, y las modificaciones de bases que conducen a aumentar la expresión mediante la selección de codones preferidos. Por la misma razón, las sustituciones de aminoácidos que no modifican el índice hidropático de la proteína fg01 humana o que truncan aquellas partes de la molécula que no participan en la unión o en la determinación de la estructura, son habituales para los profesionales de este sector.
- 5

REIVINDICACIONES

1. Un ácido nucleico aislado que codifica una proteína que tiene la secuencia de aminoácidos:

**MSPWSLGGMQKTGLASDSQSGRHPPLPAPQFLEAGGQKKDTGYFDNLKANSR
NITNSMTFLT KSSNQSF MVFHNKVQATITEYKGCDFLAILDPLDPDTLPNGRIWL
FGFNSYFSQHNSFCMRSTSKRVGLQGCAQMGFLVLFIMPLLILLVTTETPSSMRS
TTLAHPAVLRA.**

2. El ácido nucleico de la reivindicación 1, que comprende la secuencia de la Figura 1.

3. El ácido nucleico de la reivindicación 2, donde dicho ácido nucleico consiste en la secuencia de la Figura 1.

4. El ácido nucleico de la reivindicación 1, donde dicho ácido nucleico tiene una secuencia que varía de la secuencia de la Figura 1 en bases nucleotídicas que no modifican una proteína codificada por ella.

5. Una proteína aislada que tiene la secuencia de aminoácidos codificada por el ácido nucleico de la Figura 1.

6. La proteína de la reivindicación 5, donde dicha proteína comprende la secuencia de aminoácidos:

**MSPWSLGGMQKTGLASDSQSGRHPPLPAPQFLEAGGQKKDTGYFDNLKANSR
NITNSMTFLT KSSNQSF MVFHNKVQATITEYKGCDFLAILDPLDPDTLPNGRIWL
FGFNSYFSQHNSFCMRSTSKRVGLQGCAQMGFLVLFIMPLLILLVTTETPSSMRS
TTLAHPAVLRA.**

7. La proteína de la reivindicación 6, donde dicha proteína consiste en la secuencia de aminoácidos:

**MSPWSLGGMQKTGLASDSQSGRHPPLPAPQFLEAGGQKKDTGYFDNLKANSR
NITNSMTFLT KSSNQSF MVFHNKVQATITEYKGCDFLAILDPLDPDTLPNGRIWL
FGFNSYFSQHNSFCMRSTSKRVGLQGCAQMGFLVLFIMPLLILLVTTETPSSMRS
TTLAHPAVLRA.**

8. Un método *in vitro* o *ex vivo* para suprimir la formación de placas de β -amiloide en las células huéspedes, que comprende aumentar el nivel de la proteína fg01 en dichas células mediante terapia génica, donde la proteína fg01 tiene una secuencia de aminoácidos codificada por el ácido nucleico de la Figura 1 o codificada por el ácido nucleico de la Figura 1 que se encuentra modificado por la sustitución de uno o más nucleótidos que corresponden a uno cualquiera de los polimorfismos de un solo nucleótido que se muestran en la Figura 3, siendo dichos polimorfismos de un solo nucleótido adenina sustituida por timina en la posición 218, adenina sustituida por timina en la posición 224 y adenina sustituida por guanina en la posición 246.

9. Proteína fg01 para uso en un método para suprimir la formación de placas de β -amiloide en células huéspedes *in vivo*, donde dicho método comprende aumentar el nivel de la proteína fg01 en dichas células mediante terapia génica y donde la proteína fg01 tiene una secuencia de aminoácidos codificada por el ácido nucleico de la Figura 1 o codificada por el ácido nucleico de la Figura 1 que se encuentra modificado por la sustitución de uno o más nucleótidos que corresponden a uno cualquiera de los polimorfismos de un solo nucleótido que se muestran en la Figura 3, siendo dichos polimorfismos de un solo nucleótido adenina sustituida por timina en la posición 218, adenina sustituida por timina en la posición 224 y adenina sustituida por guanina en la posición 246.

10. El método de la reivindicación 8 o la proteína fg01 para uso en el método de la reivindicación 9, donde la proteína fg01 comprende la secuencia de aminoácidos:

MSPWSLGGMQKTGLASDSQSGRHPPLPAPQFLEAGGQKKDTGYFDNLKANSR
NITNSMTFLTKSSNQSFMVFHNVQATITEYKGCDFLAILDPLDPDTLPNGRIWL
FGFNSYFSQHNSFCMRSTSKRVGLQGCAQMGLVLFIMPLLILLVTTETPSSMRS
TTLAHPAVLRA.

11. El método de la reivindicación 8 o la proteína fg01 para uso en el método de la reivindicación 9, donde la proteína fg01 consiste en la secuencia de aminoácidos:

MSPWSLGGMQKTGLASDSQSGRHPPLPAPQFLEAGGQKKDTGYFDNLKANSR
NITNSMTFLTKSSNQSFMVFHNVQATITEYKGCDFLAILDPLDPDTLPNGRIWL
FGFNSYFSQHNSFCMRSTSKRVGLQGCAQMGLVLFIMPLLILLVTTETPSSMRS
TTLAHPAVLRA.

5 12. El método de la reivindicación 8 o la proteína fg01 para uso en el método de la reivindicación 9, donde las células huéspedes son células humanas de cerebro.

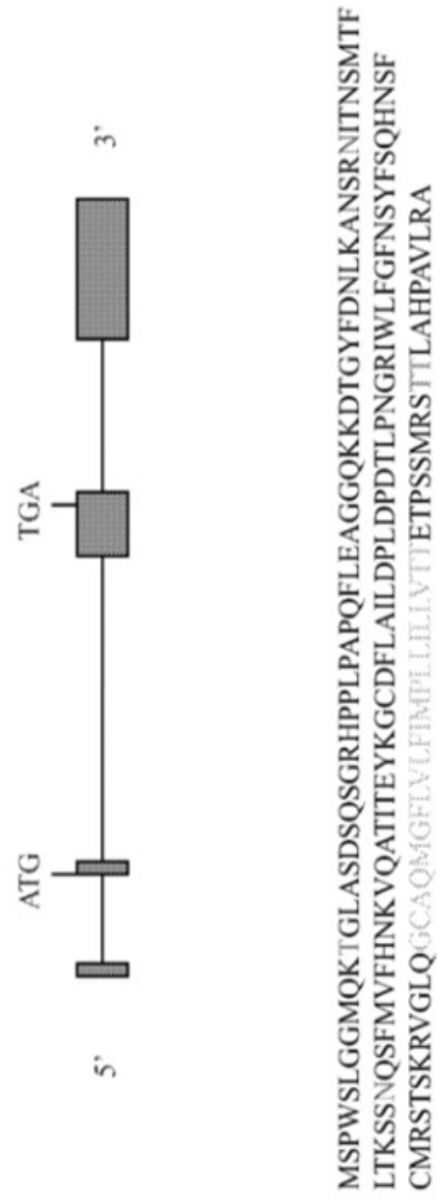
10 13. Un ácido nucleico aislado que tiene la secuencia de la Figura 1, donde dicha secuencia esta modificada por la sustitución de uno o más nucleótidos que se corresponden con uno cualquiera de los polimorfismos de un solo nucleótidos mostrados en la Figura 3, siendo dichos polimorfismos de un solo nucleótido adenina sustituida por timina en la posición 218, adenina substituida por timina en la posición 224 y adenina sustituida por guanina en la posición 246.

Identificación del ADNc de fg01 humano a partir de una biblioteca de cerebro fetal

GGGTGGGCA GCGCGGCCCT CCCTCTCCCC CTGTCTCGG AGGGTCGAA 50
GGCGCGGG CCGCGGGG CTGGGGGCTG CAGTGGGGC CTGGGGAGG 100
CGCCTCGCG TCGGCGAGC CAGGCTCGT ATTCTGTGA ATGAGGAAC 150
CTCACCTGG ATGTCCCAT GGAGCCTGG AGGATGCAG AAGACAGGAT 200
TGGCAGCGA CAGTCAAGT GCGCGGACC CCCCTCTACC AGTCCCCAG 250
TTCTTGGAG CTGGGGGCA AAGAAGAC ACAGGCTACT TTGACAACT 300
GAAAGCAAC TCCAGAAATA TCACCAACAG CATGACCTTT TTGACCAAT 350
CCAGCAACA GAGCTTTATG GTTTTCCACA ATAGGTTCA AGCAACATC 400
ACTGAATACA AAGCTGTGA TTTTCTTCC ATCCTTGATC CACTGGACC 450
TGACACACT CTAATGGCA GAATTGGCT TTTTGGCTT ACTCCTACT 500
TTTCCAGCA CAATTCCTT TGCATGAGAA GCACCTCAA AAGGTTGGC 550
CTTCAGGGCT GTGCCAAAT GGGCTTCTT GACTGTGTTA TCATGCCACT 600
TCTGATCTT TGGTGACTA CAGAGACTC TAGCAGTATG AGTCCACGA 650
CACTTGCCCA TCCTGCAGT CTACGGGCT GAGCAAGA GAGAAGCAG 700
TGTCCAGCC TGGCGTGGG GCACAAGCA GCAGTCCCAG CTACTCAGA 750
GGCTGAGGA GGAGATCAC TTGAGCCTG AAGCAGAGG TTGCAATGAG 800
TCAAGATCGT GTCAATGCAC TCCACCTGG GTGACCGAGT GAGACTCCAT 850
CTCAAAATA AGAAAAAA GAAAAGAAAT TCAGCAATG AAATGCAAC 900
TCTACTCT AAAGCTGCA ACATTATTG AAGAAATTA CAGAAGATCT 950
AAACAAATG AAGACATTC CATATTCATG GATTGGAAGA CTTAATAAA 1000
TGGCAGTATC CCCAAATTGA TCTACAGATT CAACATAAT CCTACTGAA 1050
TCACAGAGC TTCTTTGCAG AAACAGCAG GTTGATGCTA ATAGCCAAA 1100
TAATCTTGA AGAAAAAGAA CAAAGTCTGA AGCGGGTG CAGTGACTCA 1150
TACCTGTAT CTCAGTGCTT TGGAGGTTG AGTGGGAAG ATTGCTTGA 1200
GCCAGAGTT AGAGACCAG CTGGGCAGTA TAACAAGACT CCTGTCTTA 1250
TAAACATTA AAAAAAAT TAACAGGCA TGTGGCGCA TGTCTGTAAT 1300
CCCAGTACT CAGAGAGCT GAGGTGGAG GATCACTTGA GCCAAGGAGT 1350
TTGAGCTGC CGTGAGCCGT GATCGTGCCA CTCTCCCTG GGTGACAGT 1400
TGAGACAGTA TCTGAAGAA AAAAAATC ATTCCACTG CAGAAATTC 1450
CTGAGTGGG AATTCTGTG CTGAGTCTA TGGTACCTGC CACAGGGAA 1500
TTTACATTGC TTTTACTATT GGAATTTGT GATCTTCTTA TAAAGGATTA 1550
AAGACAAACA AGTTTATC 1569

Figura 1

Gen fg01 humano que codifica la proteína de 173 a.a.



T/N: Sitios de glicosilación potencial

GCAQMGLVLFIMPLILLVTT

Figura 2

Polimorfismo del gen fg01 humano

Alineamiento global de ADN. Molécula de referencia: CH8-fg01 secuencia codificante, Región 1 a 522
Secuencias: 2 : Matriz de sustitución: Lineal (No coincidencia 2, Apertura de hueco 4, Extensión de hueco 1)

Vista de Secuencia: Diferencia de formato. Color detrás de no coincidencias

[illegible]

Figura 3

Sitios de fosforilación potencial

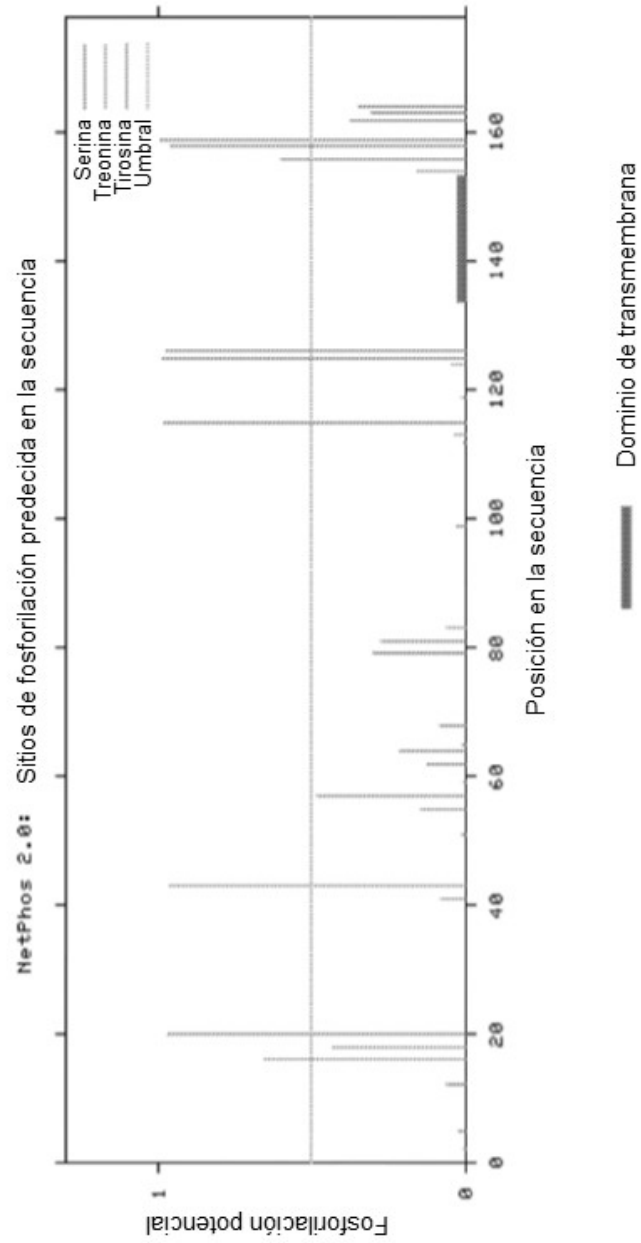


Figura 4

Alineamiento de las proteínas fg01 humanas y de ratón

Alineamiento global de proteínas. Molécula de referencia: proteína CH8-fg01 humana. Región 1 a 173
Secuencias: 2: Matriz de sustitución: BLOSUM 62

Vista de secuencia: Similitud de formato. Áreas de color de grandes coincidencias en la misma posición de base

Human	Chr8-fg01	P	1	mspwslggmqktglsdsqsggrhbpplpapqfleaggqkkdtgyfdnlkansrntnsmtfltkssnqsfm
Mouse	Chr8-fg01	-	1	-----mq-----sqqrnigyfnhlkadsrntysmtcfstkssnqnfi
Human	Chr8-fg01	P	71	vfhmkvqatiteykgcdfllailldpldpdtlpngrilwlfgnsyfsqhnsfcmrstskrvglggcaqmgfl
Mouse	Chr8-fg01	-	38	iflnevqaeiighercdlpvlnelhpdelpdgrilwlfgnpyffqhnsfcmrgtpkrlglggcaqvqfl
Human	Chr8-fg01	P	141	vlfimpllillvtetpssmarsttlaahpavlra-
Mouse	Chr8-fg01	-	108	vlfvmpllipsvtaelpgssetttlahlagatgp

Figura 5

Predicción de la estructura de la proteína fg01 humana

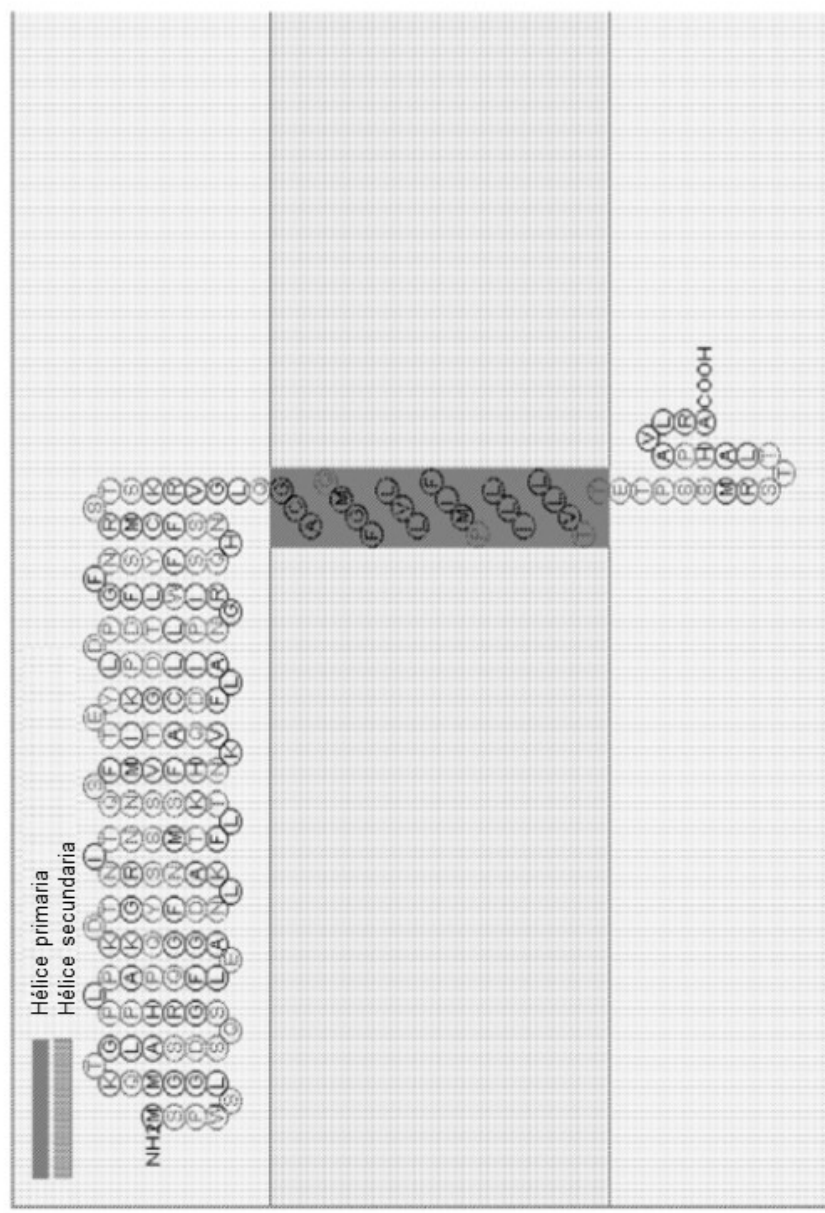


Figura 6

Comparación de la estructura de las proteínas fg01 humana y de ratón

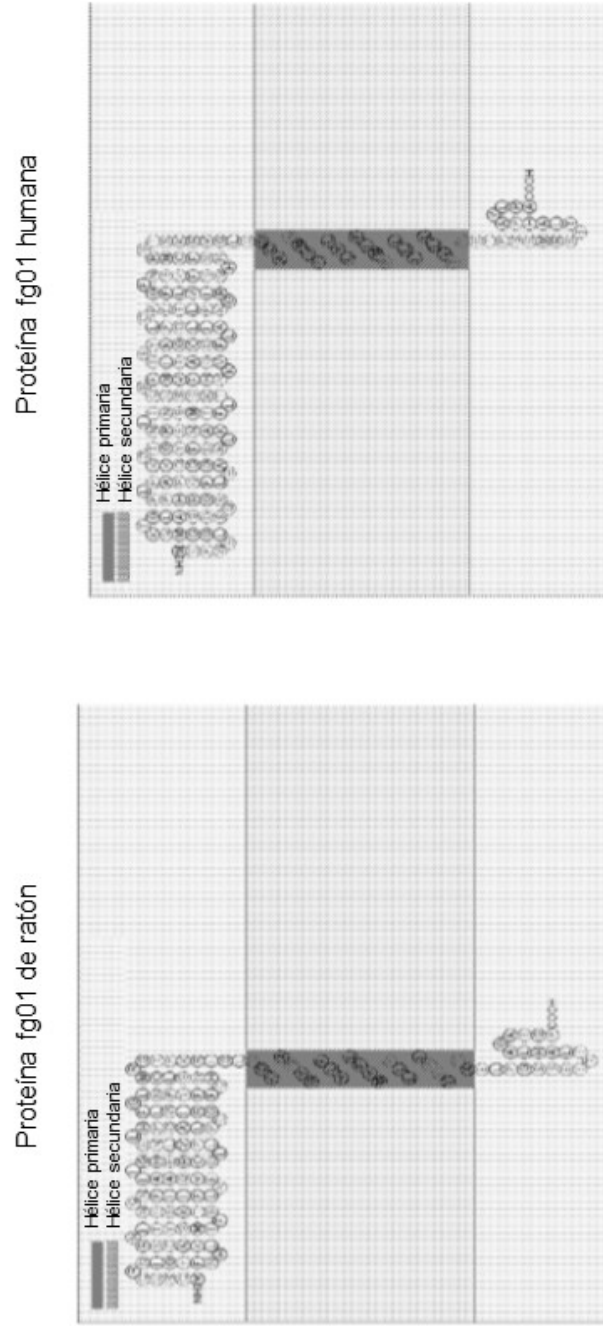


Figura 7