

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 600 081**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 38/36</b>	(2006.01)
<b>A61K 38/37</b>	(2006.01)
<b>A61K 47/36</b>	(2006.01)
<b>A61P 7/04</b>	(2006.01)
<b>A61K 47/42</b>	(2006.01)
<b>A61K 9/00</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.10.2012 PCT/EP2012/070615**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.04.2013 WO13057167**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.10.2012 E 12777895 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.07.2016 EP 2768522**

54 Título: **Uso de glucosaminoglicanos sulfatados para mejorar la biodisponibilidad del Factor VIII**

30 Prioridad:

**18.10.2011 EP 11185648**  
**18.10.2011 US 201161548606 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**07.02.2017**

73 Titular/es:

**CSL BEHRING GMBH (100.0%)**  
**Emil-von-Behring-Strasse 76**  
**35041 Marburg, DE**

72 Inventor/es:

**METZNER, HUBERT. y**  
**ZOLLNER, SABINE.**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 600 081 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 de glucosaminoglicanos sulfatados para mejorar la biodisponibilidad del Factor VIII

La presente invención se refiere al uso combinado de un Factor VIII y un glucosaminoglicano sulfatado para el tratamiento y la prevención de trastornos hemorrágicos, por lo cual se incrementa la biodisponibilidad del Factor VIII.

5 **Antecedentes de la invención****Factor VIII (FVIII)**

FVIII es una glucoproteína del plasma sanguíneo con una masa molecular de aproximadamente 280 kDa, producida en el hígado de los mamíferos. Es un componente crucial de la cascada de reacciones de coagulación que da lugar a la coagulación sanguínea. Comprendido en esta cascada se encuentra un paso en el cual el Factor IXa (FIXa), junto con el Factor VIII activado (FVIIIa), convierte el Factor X (FX) en una forma activada, FXa. FVIIIa actúa como un cofactor en este paso, donde es necesario junto con los iones de calcio y los fosfolípidos para maximizar la actividad de FIXa. El trastorno hemofílico más común está causado por la eficiencia del FVIII denominada hemofilia A.

Un avance importante en el tratamiento de la hemofilia A ha sido el aislamiento de clones de ADNc que codifican la secuencia completa de 2351 aminoácidos del FVIII humano (patente de Estados Unidos N.º 4 757 006) y el poder disponer de la secuencia de ADN del gen del FVIII humano y de métodos recombinantes para su producción.

El análisis de la secuencia primaria de aminoácidos deducida del FVIII humano determinada a partir del ADNc clonado indica que es un heterodímero procesado a partir de un polipéptido precursor más grande. El heterodímero está constituido por una cadena ligera C-terminal de aproximadamente 80 kDa en una asociación dependiente de iones metálicos con una cadena pesada N-terminal de aproximadamente 200 kDa. (Remítase a la revisión de Kaufman, *Transfusion Med. Revs.* 6:235 (1992)). La activación fisiológica del heterodímero ocurre mediante la escisión proteolítica de las cadenas proteicas por parte de la trombina. La trombina escinde la cadena pesada para generar una proteína de 90 kDa y, posteriormente, fragmentos de 54 kDa y 44 kDa. La trombina también escinde la cadena ligera de 80 kDa para generar una proteína de 72 kDa. Es esta última proteína y los dos fragmentos de la cadena pesada (54 kDa y 44 kDa anteriores), unidos entre sí por iones de calcio, los que constituyen el FVIII activo. La inactivación ocurre cuando el fragmento de la cadena pesada A2 de 44 kDa se disocia de la molécula o cuando los dominios de 72 kDa y 54 kDa son escindidos adicionalmente por la trombina, proteína C activada o FXa. En el plasma, el FVIII está estabilizado por la asociación con un exceso molar de 50 veces de la proteína Factor de Von Willebrand ("VWF"), que parece inhibir la destrucción proteolítica del FVIII como se ha descrito anteriormente.

La secuencia de aminoácidos del FVIII está organizada en tres dominios estructurales: un dominio triplicado A de 330 aminoácidos, un único dominio B de 980 aminoácidos y un dominio duplicado C de 150 aminoácidos. El dominio B no tiene homología con otras proteínas y proporciona 18 de los 25 sitios de glucosilación unidos a la asparagina(N) de esta proteína. Aparentemente, el dominio B no tiene ninguna función en la coagulación, se puede eliminar, y la molécula FVIII con el dominio B eliminado aún presenta actividad procoagulante.

35 **Factor de Von Willebrand (VWF)**

El VWF es una glucoproteína adhesiva multimérica presente en el plasma de los mamíferos, que tienen múltiples funciones fisiológicas. Durante la hemostasia primaria, el VWF actúa como un mediador entre receptores específicos en la superficie de los trombocitos y los componentes de la matriz extracelular tales como el colágeno. Además, el VWF actúa como una proteína portadora y estabilizadora para el FVIII procoagulante. El FVIII es sintetizado en las células endoteliales y megacariocitos como una molécula precursora de 2813 aminoácidos. El polipéptido precursor, pre-pro-VWF, está constituido por un péptido señal de 22 residuos, un propéptido de 741 residuos y el polipéptido de 2050 residuos que se encuentra en el VWF del plasma maduro (Fischer *et al.* *FEBS Lett.* 351: 345-348, 1994). Tras la secreción en el plasma, el VWF circula en forma de varias especies con diferentes tamaños moleculares. Estas moléculas de VWF están constituidas por oligo- y multímeros de la subunidad madura de 2050 residuos aminoacídicos. El VWF se puede observar normalmente en el plasma como un dímero y hasta multímeros constituidos por 50-100 dímeros (Ruggeri *et al.*, *Thromb. Haemost.* 82: 576-584, 1999). La semivida *in vivo* del VWF humano en la circulación humana es de aproximadamente 12 horas.

El trastorno hemorrágico heredado con mayor frecuencia los seres humanos es la enfermedad de von Willebrand (VWD). Dependiendo de la gravedad de los síntomas hemorrágicos, la VWD puede ser tratada con la terapia de reemplazo con concentrados que contienen el VWF, obtenido en general a partir de plasma humano, pero el VWF recombinante también está en desarrollo. El VWF se puede preparar a partir del plasma humano como se describe, por ejemplo, en el documento EP 0503991. En la patente EP 0784632 se describe un método para aislar VWF recombinante.

Se sabe que el VWF estabiliza el FVIII *in vivo* y, por lo tanto, desempeña una función crucial para regular los niveles

plasmáticos del FVIII y, como consecuencia, es un factor esencial para controlar la hemostasia. También se sabe que tras la administración intravenosa de preparados farmacéuticos que contienen el VWF a pacientes con VWD se puede observar un aumento en el FVIII:C endógeno de 1 a 3 unidades por mL en 24 horas, lo que demuestra el efecto estabilizador *in vivo* del VWF sobre el FVIII.

5 En general, los pacientes se benefician del modo de acción específico de los principios activos, pero en la actualidad, todos los preparados del Factor VIII comercializados se administran mediante una administración intravenosa que conlleva un riesgo de infecciones en el sitio de inyección y, en general, es un procedimiento que los pacientes desearían evitar, especialmente en el tratamiento de niños con defectos en su sistema de coagulación.

10 Hasta la fecha, el tratamiento habitual de la hemofilia A y la VWD conlleva frecuentes infusiones intravenosas de preparados del FVIII y concentrados del VWF. El tratamiento de la hemofilia B requiere la administración bisemanal de Factor IX, y en el tratamiento de pacientes inhibidores con FVIIa, se usan múltiples administraciones de FVIIa por semana para evitar las hemorragias.

15 Por lo general, estas terapias de reemplazo son eficaces pero, sin embargo, en los pacientes con hemofilia A grave que están en tratamiento profiláctico, el Factor VIII se ha de administrar por vía intravenosa (i.v.) aproximadamente 3 veces a la semana debido a la corta semivida plasmática del Factor VIII de aproximadamente 12 horas. Con tan sólo conseguir niveles del FVIII por encima de un 1% de los del plasma humano normal, que corresponden a una elevación de los niveles del FVIII de 0.01 U/mL, la hemofilia A grave se convierte en hemofilia A moderada. En la terapia profiláctica, se diseña la pauta posológica de manera que los niveles mínimos de actividad del FVIII no disminuyan por debajo de niveles de un 2-3% de la actividad del FVIII de los pacientes que no son hemofílicos.

20 La administración de un Factor VIII mediante administración intravenosa es complicada, asociada con el dolor y conlleva el riesgo de infección, especialmente porque se lleva a cabo principalmente en tratamientos en casa por parte de los propios pacientes o por parte de los padres de los niños que han sido diagnosticados con hemofilia A. Además, las inyecciones intravenosas frecuentes dan como resultado inevitablemente la formación de cicatrices, lo que interfiere con futuras infusiones. Ya que el tratamiento profiláctico en la hemofilia grave comienza en las primeras etapas de la vida, donde los niños a menudo tienen menos de 2 años de edad, es aún más difícil inyectar el FVIII 3 veces a la semana en las venas de pacientes pequeños de este tipo. Durante un periodo limitado de tiempo, la implantación de sistemas de vías puede ofrecer una alternativa. Sin embargo, en estos casos pueden ocurrir infecciones repetidas y las vías pueden provocar molestias durante el ejercicio físico.

30 Por lo tanto, la eliminación de la necesidad de infundir el Factor VIII por vía intravenosa supone una gran necesidad médica.

Se ha propuesto la administración subcutánea del Factor VIII, p. ej., en los documentos WO 95/01804 A1 y WO 95/026750. Sin embargo, se han de administrar dosis muy elevadas del Factor VIII para conseguir una biodisponibilidad aceptable.

35 Otro enfoque para mejorar la biodisponibilidad con la administración no intravenosa, ha sido usar Factor VIII fusionado a albúmina (documento WO 2011/020866 A2).

Es sumamente deseable mejorar la biodisponibilidad del Factor VIII tras una administración no intravenosa. Los inventores de esta solicitud descubrieron sorprendentemente que la biodisponibilidad del Factor VIII aumenta sustancialmente si éste se administra junto con glucosaminoglicanos sulfatados.

### **Compendio de la invención**

40 En un primer aspecto, la presente invención se refiere, por lo tanto, a un Factor FVIII para su uso en el tratamiento o prevención de un trastorno hemorrágico, comprendiendo dicho tratamiento o prevención la inyección no intravenosa de dicho Factor VIII y de un glucosaminoglicano sulfatado.

45 En un aspecto adicional, la presente invención como se define en las presentes reivindicaciones se refiere por lo tanto a un Factor VIII para su uso en el tratamiento o prevención de un trastorno hemorrágico, comprendiendo dicho tratamiento o prevención la inyección no intravenosa de dicho Factor VIII y de un glucosaminoglicano sulfatado, en el que, durante un periodo desde 2 horas tras la inyección hasta 48 horas después de la inyección, el nivel plasmático del Factor VIII en el sujeto tratado es continuamente mayor que 2% del nivel plasmático normal del Factor VIII en sujetos sanos cuando el Factor VIII se administra subcutáneamente a una dosis de 50 a 100 UI/kg de peso corporal, y en el que la cantidad de glucosaminoglicano sulfatado administrado está entre 0.001 y alrededor de 50 100 mg/ml de producto aplicado.

En todos los aspectos de la descripción, el Factor VIII es preferentemente Factor VIII humano. Un glucosaminoglicano sulfatado preferido es la heparina, de la manera más preferida la heparina es heparina no fraccionada.

## Descripción de la Figura

La Figura 1 muestra los resultados del Ejemplo 1. La biodisponibilidad del FVIII aumenta si se coadministra un glucosaminoglicano sulfatado. Como se puede observar, el dextrán sulfato no tiene ningún efecto positivo.

## Descripción detallada

5 La presente invención trata sobre el tratamiento y la profilaxis de trastornos hemorrágicos.

La expresión “trastornos hemorrágicos”, tal como se utiliza en la presente, incluye la hemofilia A familiar y adquirida.

De acuerdo con el primer aspecto de la invención, se proporciona un uso terapéutico, no intravenoso, de un Factor VIII, que comprende la coadministración de un glucosaminoglicano sulfatado.

10 El Factor VIII puede ser polipéptidos de Factor VIII natural o polipéptidos de Factor VIII que puede contener mutaciones. El grado y la ubicación de la glucosilación u otras modificaciones postraduccionales pueden variar dependiendo de las células hospedadoras escogidas y de la naturaleza del entorno celular hospedador. Cuando se hace referencia a secuencias de aminoácidos específicas, las modificaciones postraduccionales de tales secuencias están englobadas en esta solicitud.

15 Las expresiones “Factor VIII” y “FVIII” se utilizan indistintamente en la presente. El “Factor VIII” incluye el Factor VIII natural, así como también derivados del Factor VIII natural que tienen la actividad procoagulante del Factor VII natural. Los derivados pueden tener deleciones, inserciones y/o adiciones en comparación con la secuencia de aminoácidos del Factor VIII natural. La expresión “Factor VIII” incluye formas procesadas proteolíticamente del Factor VIII, p. ej., la forma anterior a la activación, que comprende la cadena pesada y la cadena ligera.

20 La expresión “Factor VIII” incluye cualesquiera variantes o mutantes del Factor VIII que tienen al menos un 10%, preferentemente al menos un 25%, más preferentemente al menos un 50%, de la manera más preferida al menos un 75% de la actividad biológica del Factor VIII natural. Una prueba adecuada para determinar la actividad biológica del Factor VIII es el ensayo de coagulación de una etapa o de dos etapas (Rizza *et al.*, 1982. Coagulation assay of FVIII:C and FIXa en Bloom ed. The Hemophilias. NY Churchill Livingstone 1992) o el ensayo de actividad del sustrato cromogénico del FVIII (S. Rosen, 1984, *Scand. J. Haematol.* 33: 139-145, supl.). El contenido de esas referencias incorpora a la presente por referencia.

25 Como ejemplos no limitantes, las moléculas del Factor VIII incluyen mutantes del Factor VIII que evitan o reducen la escisión de APC (Amano 1998, *Thromb. Haemost.* 79:557-563), moléculas del FVIII fusionadas con albúmina (WO 2011/020866 A2), moléculas de fusión FVIII-Fc (WO 04/101740 A), mutantes del Factor VIII que estabilizan adicionalmente el dominio A2 (WO 97/40145), mutantes del FVIII que dan como resultado una mayor expresión (Swaroop *et al.* 1997. *JBC* 272:24121-24124), mutantes del Factor VIII con una menor inmunogenicidad (Lollar 1999. *Thromb. Haemost.* 82:505-508), FVIII reconstituido a partir de cadenas pesadas y ligeras expresadas de manera diferente (Oh *et al.* 1999. *Exp. Mol. Med.* 31:95-100), mutantes del FVIII que reducen la unión a los receptores que dan lugar al catabolismo del FVIII como HSPG (proteoglicanos de heparán sulfato) y/o LRP (proteína relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad) (Ananyeva *et al.* 2001. *TCM*, 11:251-257), variantes del FVIII estabilizadas por enlaces disulfuro (Gale *et al.*, 2006. *J. Thromb. Hemost.* 4:1315-1322), mutantes del FVIII con mejores propiedades secretoras (Miao *et al.*, 2004. *Blood* 103:3412-3419), mutantes del FVIII con una mayor actividad específica del cofactor (Wakabayashi *et al.*, 2005. *Biochemistry* 44:10298-304), mutantes del FVIII con una mejor biosíntesis y secreción, menor interacción de chaperonas del RE, mejor transporte RE-Golgi, mayor activación o resistencia a la inactivación y mejor semivida (resumido por Pipe 2004. *Sem. Thromb. Hemost.* 30:227-237) y mutantes del FVIII que tienen una deleción de todo el dominio B o parte de este (remítase, p. ej., a los documentos WO 2004/067566 A1, WO 02/102850 A2, WO 00/24759 A1 y la patente de EE. UU. N.º 4 868 112). Se prefieren especialmente las moléculas FVIII que son moléculas FVIII “monocatenarias”. El FVIII monocatenario tiene una deleción de todo el dominio B o parte de este y una dirección de toda la región a3 ácida o de una parte de esta, de manera que el sitio de escisión en Arg1648 (que es escindido normalmente durante la secreción) se elimina. Las moléculas FVIII monocatenarias se divulgan en, p. ej., los documentos WO 2004/067566 A1; US 2002/132306 A1; Krishnan *et al.* (1991) *European Journal of Biochemistry* vol. 195, n.º 3, páginas 637-644; Herlitschka *et al.* (1998) *Journal of Biotechnology*, vol. 61, n.º 3, páginas 165-173; Donath *et al.* (1995) *Biochem. J.*, vol. 312, páginas 49-55.

Todos estos mutantes y variantes del Factor VIII se incorporan a la presente por referencia en su totalidad.

50 La secuencia de aminoácidos de la forma natural madura del Factor VIII humano se muestra en la SEQ ID NO:2. La referencia a una posición aminoacídica de una secuencia específica se refiere a la posición de dicho aminoácido en la proteína FVIII natural y no excluye la presencia de mutaciones, p. ej., deleciones, inserciones y/o sustituciones en otras posiciones de la secuencia a la que se hace referencia. Por ejemplo, una mutación en “Glu2004” referida a la SEQ ID NO:2 no excluye que en el homólogo modificado uno o más aminoácidos entre las posiciones 1 y la 2332 de la SEQ ID NO:2 estén ausentes. Una secuencia de ADN que codifica la SEQ ID NO:2 se muestra en la SEQ ID

NO:1.

5 El término "glucosaminoglicano", tal como se utiliza en la presente, se refiere a un oligo- o polisacárido que comprende especialmente unidades de aminohexosa. Los glucosaminoglicanos sulfatados incluyen, sin carácter limitante, condroitina sulfato, dermatán sulfato, queratán sulfato, heparina y heparán sulfato. Preferentemente, el glucosaminoglicano sulfatado es heparina, de la manera más preferida, el glucosaminoglicano sulfatado es heparina no fraccionada.

10 El término "heparina" incluye heparina no fraccionada y heparinas que tiene un bajo peso molecular. En una realización, la heparina utilizada de acuerdo con esta invención es "heparina no fraccionada" que puede tener un peso molecular promedio de entre aproximadamente 8 kDa y aproximadamente 30 kDa, preferentemente entre aproximadamente 10 kDa y aproximadamente 20 kDa, de la manera más preferida entre aproximadamente 12 kDa y aproximadamente 16 kDa, p. ej., aproximadamente 15 kDa. En otra realización, la heparina utilizada de acuerdo con esta invención es una heparina de bajo peso molecular (LMWH, por sus siglas en inglés). Las LMWH son heparinas o sales de heparina que tienen un peso molecular promedio inferior a 8000 Da y por lo cual al menos un 60% de todas las cadenas tiene un peso molecular inferior a 8000 Da. Preferentemente, el peso molecular de la LMWH utilizada de acuerdo con esta invención está comprendido entre aproximadamente 2 kDa y aproximadamente 8 kDa, más preferentemente entre aproximadamente 3 kDa y aproximadamente 6 kDa, de la manera más preferida entre aproximadamente 4 kDa y aproximadamente 5 kDa, p. ej., aproximadamente 4.5 kDa. Las LMWH se puede obtener mediante varios métodos de fraccionamiento o despolimerización de heparina polimérica. Los ejemplos de LMWH incluyen, sin carácter limitante, ardeparina (Normiflo®), certoparina (Sandoparin®), enoxaparina (Lovenox® y Clexane®), parnaparina (Fluxum®), tinzaparina (Innohep® y Logiparin®), dalteparina (Fragmin®), reviparina (Clivarin®) y nadroparina (Fraxiparin®).

25 El término "heparina" incluye también fragmentos de bajo peso molecular de moléculas de heparina, ya sea obtenidas a partir de heparina de origen natural por escisión y aislamiento o a partir de rutas sintéticas. Por ejemplo, existe un pentasacárido sulfatado comercializado producido sintéticamente y cuya estructura se deriva de la heparina. Está disponible como Fondaparinux® sodio.

El condroitina sulfato incluye, p. ej., condroitina sulfato A (condroitin-4-sulfato), condroitina sulfato C (condroitin-6-sulfato), condroitina sulfato D (condroitin-2,6-sulfato) y condroitina sulfato E (condroitin-4,6-sulfato).

El dermatán sulfato (denominado previamente también condroitina sulfato B) es otro glucosaminoglicano sulfatado que está comercializado.

30 El queratán sulfato es otro glucosaminoglicano sulfatado. La estructura del queratán sulfato se describe en, p. ej., Funderburgh (2000) *Glycobiology* vol. 10 n.º 10, págs. 951-958.

35 El heparán sulfato es un polisacárido N-sulfatado que es diferente de la heparina (remítase a, p. ej., Gallagher, J.T., Lyon, M. (2000). "Molecular structure of Heparan Sulfate and interactions with growth factors and morphogens". En Iozzo, M, V.. *Proteoglycans: structure, biology and molecular interactions*. Marcel Dekker Inc. Nueva York, Nueva York. págs. 27-59; y Gallagher, J. T. Walker, A. (1985). "Molecular distinctions between Heparan Sulphate and Heparin: Analysis of sulphation patterns indicates Heparan Sulphate and Heparin are separate families of N-sulphated polysaccharides". *Biochem. J.* 230 (3): 665-74).

40 En una realización de la invención, el nivel plasmático del Factor VIII en el sujeto tratado es, durante un período desde 5 horas tras la inyección hasta 8 horas tras la inyección, continuamente mayor que 2%, preferiblemente mayor que 5%, más preferiblemente mayor que 8%, lo más preferible mayor que 10%, del nivel plasmático normal del Factor VIII en sujetos sanos. El nivel plasmático se determinará como se muestra aquí en lo sucesivo en el Ejemplo 1.

45 En una realización de la invención, el nivel plasmático del Factor VIII en el sujeto tratado es, durante un período desde 4 horas tras la inyección hasta 16 horas tras la inyección, continuamente mayor que 2%, preferiblemente mayor que 5%, más preferiblemente mayor que 8%, lo más preferible mayor que 10%, del nivel plasmático normal del Factor VIII en sujetos sanos.

50 En otra realización de la invención, el nivel plasmático del Factor VIII en el sujeto tratado es, durante un período desde 3 horas tras la inyección hasta 24 horas tras la inyección, continuamente mayor que 2%, preferiblemente mayor que 4%, más preferiblemente mayor que 6%, lo más preferible mayor que 8%, del nivel plasmático normal del Factor VIII en sujetos sanos.

En otra realización de la invención, el nivel plasmático del Factor VIII en el sujeto tratado es, durante un período desde 2 horas tras la inyección hasta 32 horas tras la inyección, continuamente mayor que 2%, preferiblemente mayor que 3%, más preferiblemente mayor que 4%, lo más preferible mayor que 5%, del nivel plasmático normal del Factor VIII en sujetos sanos.

En todavía otra realización de la invención, el nivel plasmático del Factor VIII en el sujeto tratado es, durante un período desde 1 hora tras la inyección hasta 48 horas tras la inyección, continuamente mayor que 2%, preferiblemente mayor que 3%, más preferiblemente mayor que 4%, lo más preferible mayor que 5%, del nivel plasmático normal del Factor VIII en sujetos sanos.

5 Los niveles plasmáticos mencionados anteriormente se obtienen preferiblemente cuando el Factor VIII (p. ej. FVIII) se administra mediante inyección subcutánea a una dosis menor que 1000 UI/kg de peso corporal, o menor que 800 UI/kg de peso corporal, o menor que 600 UI/kg de peso corporal, o menor que 400 UI/kg de peso corporal, p. ej. a una dosis desde aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal hasta aproximadamente 500 UI/kg de peso corporal, o desde aproximadamente 75 UI/kg de peso corporal hasta aproximadamente 400 UI/kg de peso corporal, o desde  
10 aproximadamente 100 UI/kg de peso corporal hasta aproximadamente 300 UI/kg de peso corporal, o desde aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal hasta aproximadamente 1,000 UI/kg de peso corporal, o desde aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal hasta aproximadamente 800 UI/kg de peso corporal, o desde aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal hasta aproximadamente 700 UI/kg de peso corporal, o desde aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal hasta aproximadamente 600 UI/kg de peso corporal, o desde  
15 aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal hasta aproximadamente 500 UI/kg de peso corporal, o desde aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal hasta aproximadamente 400 UI/kg de peso corporal, o desde aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal hasta aproximadamente 300 UI/kg de peso corporal, o alrededor de 50 UI/kg de peso corporal hasta aproximadamente 200 UI/kg de peso corporal.

20 En una realización, el Factor VIII y el glucosaminoglicano sulfatado están contenidos en la misma composición. Esta composición comprende que los dos componentes se pueden administrar al paciente mediante una única inyección o similares.

En otra realización, el Factor VIII y el glucosaminoglicano sulfatado no están presentes en la misma composición. Por ejemplo, cada uno de los dos componentes puede proporcionarse en una forma farmacéutica independiente en dicho preparado farmacéutico.

25 Si los dos componentes no están presentes en la misma composición, las composiciones independientes se pueden administrar por separado o se pueden mezclar poco antes de la administración de manera que el Factor VIII y el glucosaminoglicano sulfatado se administrarán simultáneamente. Si la administración es por separado, la administración se puede realizar secuencialmente, p. ej., de una manera escalonada en el tiempo. En general, se prefiere que los dos componentes se administren simultáneamente mediante una única administración, p. ej., una  
30 inyección. Posteriormente se analizan varias vías de administración. Estas se aplican a lo anterior *mutatis mutandis*.

Los componentes del preparado farmacéutico se pueden disolver en soluciones tamponadas acuosas fisiológicamente compatibles a las cuales se pueden añadir, opcionalmente, excipientes farmacéuticos para proporcionar el preparado farmacéutico. Los componentes del preparado farmacéutico pueden contener ya todos los excipientes farmacéuticos necesarios, fisiológicamente compatibles, y se pueden disolver en agua para inyección  
35 para proporcionar el preparado farmacéutico.

Tales excipientes y portadores farmacéuticos, así como también la preparación de formulaciones farmacéuticas adecuadas son muy conocidos en la técnica (remítase a, por ejemplo, "Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins", Frokjaer *et al.*, Taylor & Francis (2000) o "Handbook of Pharmaceutical Excipients", 3.<sup>a</sup> edición, Kibbe *et al.*, Pharmaceutical Press (2000)). En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica puede comprender al menos un aditivo tal como un material de relleno, un agente espesante, un tampón, un estabilizante o un excipiente. Los expertos en la técnica están muy familiarizados con técnicas de formulación farmacéutica estándar (remítase a, p. ej., Physicians' Desk Reference<sup>®</sup> de 2005, Thomson Healthcare: Montvale, NJ, 2004; Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20.<sup>a</sup> ed., Gennaro *et al.*, Eds. Lippincott Williams & Wilkins: Filadelfia, PA, 2000). Los aditivos farmacéuticos adecuados incluyen, p. ej., azúcares como el manitol, sorbitol,  
45 lactosa, sacarosa, trehalosa u otros, aminoácidos como la histidina, arginina, lisina, glicina, alanina, leucina, serina, treonina, ácido glutámico, ácido aspártico, glutamina, asparagina, fenilalanina u otros, aditivos para conseguir condiciones isotónicas como el cloruro de sodio u otras sales, estabilizantes como el polisorbato 80, polisorbato 20, polietilenglicol, propilenglicol, cloruro de calcio u otros, agentes tamponantes del pH fisiológicos como el tris(hidroximetil)aminometano y similares. En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas pueden contener agentes tamponantes del pH y agentes humectantes o emulsionantes. En realizaciones adicionales, las composiciones pueden contener conservantes o estabilizantes. En particular, el preparado farmacéutico que comprende el Factor VIII se puede formular en una forma soluble estable o liofilizada. El Factor VIII se puede liofilizar mediante diversos procedimientos conocidos en la técnica. Asimismo, si la misma composición contiene el glucosaminoglicano sulfatado y el Factor VIII, tal composición también se puede proporcionar en una forma soluble estable o liofilizada. Las formulaciones liofilizadas se reconstituyen antes de su uso añadiendo uno o más diluyentes farmacéuticamente aceptables tales como agua estéril para sección o solución salina fisiológica estéril o una  
55 solución tamponante adecuada.

La composición o composiciones contenidas en el preparado farmacéutico de la invención como se define en las

- presentes reivindicaciones se pueden suministrar al individuo mediante cualquier medio farmacéutico adecuado. Existe constancia de varios sistemas de suministro y se pueden utilizar para administrar la composición mediante cualquier vía conveniente. Preferentemente, la composición o composiciones contenidas en el preparado farmacéutico de la invención se suministran al individuo mediante una inyección no intravenosa. Más
- 5 preferentemente, la composición o composiciones de la invención se formulan para la administración subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, intracerebral, intrapulmonar, intranasal, intradérmica o transdérmica, de la manera más preferida para la administración subcutánea, intramuscular o transdérmica de acuerdo con métodos convencionales. Las formulaciones se pueden administrar de manera continua mediante infusión o inyección intravenosa rápida. Algunas formulaciones pueden englobar los sistemas de liberación lenta.
- 10 La composición o composiciones del preparado farmacéutico de la presente invención como se define en las presentes reivindicaciones se administran a los pacientes en una dosis terapéuticamente eficaz, refiriéndose esto a una dosis que es suficiente para producir los efectos deseados, evitar o reducir la gravedad o extensión de la afección o indicación que se está tratando sin alcanzar una dosis que produzca efectos secundarios adversos intolerables. La dosis exacta depende de muchos factores tales como, p. ej., la indicación, formulación, modo de
- 15 administración y se ha de determinar en ensayos preclínicos y clínicos para cada indicación respectiva.
- En el caso del Factor VIII, la dosis de una administración se puede seleccionar de manera que, durante un periodo desde 2 horas tras la inyección hasta 48 horas después de la inyección, el nivel plasmático del Factor VIII en el sujeto tratado es continuamente superior a un 2%, preferentemente superior a un 3%, más preferentemente superior a un 4%, de la manera más preferida superior a un 5%, del nivel plasmático normal del Factor VIII en sujetos sanos.
- 20 Preferiblemente, la dosis del Factor VIII para una administración es inferior a 1000 UI/kg de peso corporal, o inferior a 800 UI/kg de peso corporal, o inferior a 600 UI/kg de peso corporal, o inferior a 400 UI/kg de peso corporal, p. ej., a una dosis entre aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 500 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 75 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 400 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 100 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 300 UI/kg de peso corporal o entre
- 25 aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 1000 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 800 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y entre aproximadamente 700 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 600 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 500 UI/kg de peso corporal o entre
- 30 aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 400 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 300 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 200 UI/kg de peso corporal.
- El Factor VIII se puede administrar por sí solo junto con el glucosaminoglicano sulfatado. Como alternativa, el Factor VIII se puede administrar en asociación con vWF, es decir, como un complejo de FVIII/vWF, junto con el
- 35 glucosaminoglicano sulfatado.
- La cantidad de glucosaminoglicano sulfatado administrada está comprendida normalmente entre aproximadamente 0.001 y aproximadamente 100 mg/mL del producto aplicado, entre aproximadamente 0.01 y aproximadamente 10 mg/mL del producto aplicado, entre aproximadamente 0.05 y aproximadamente 1 mg/mL del producto aplicado.
- El término "biodisponibilidad", tal como se utiliza en la presente, se refiere a la proporción de una dosis administrada de un Factor VIII (p. ej., el Factor VIII o un preparado relacionado con el FVIII) que se puede detectar en el plasma en momentos predeterminados hasta un punto temporal final después de la administración subcutánea, intravenosa o intradérmica. Normalmente, la biodisponibilidad se mide en animales de prueba administrándoles una dosis comprendida entre 10 UI/kg y 1000 UI/kg del preparado (p. ej., 400 UI/kg de peso corporal); obteniendo muestras plasmáticas en puntos temporales predeterminados después de la administración; y determinando el contenido del
- 45 Factor VIII, p. ej., el Factor VIII o polipéptidos relacionados con el Factor VIII en las muestras utilizando uno o más de: un ensayo cromogénico o de coagulación (o cualquier bioensayo), un inmunoensayo o un equivalente de estos. La biodisponibilidad se expresa como el área bajo la curva (ABC) con la concentración actividad del Factor VIII en el plasma en el eje Y y el tiempo después de la administración en el eje X hasta un punto temporal final predefinido después de la administración. Preferentemente, este punto temporal predefinido es 48 horas después de la administración. Más preferentemente, la biodisponibilidad se determina tal como se muestra en el Ejemplo 1 más adelante. La biodisponibilidad relativa de un preparado de prueba se refiere a la relación entre el ABC del preparado de prueba (p. ej. Factor VIII + glucosaminoglicano sulfatado) y el del preparado de referencia (p. ej. Factor VIII solo) que se administra con la misma dosis y de la misma manera (p. ej., intravenosa, subcutánea o intradérmica) que el preparado de prueba.
- 50 De acuerdo con la presente invención, como se define en las presentes reivindicaciones, la biodisponibilidad del Factor VIII (cuando se coadministra con el glucosaminoglicano sulfatado) es superior que la del Factor VIII cuando se administra solo. Preferentemente, la biodisponibilidad aumenta en al menos un 20%, más preferentemente en al menos un 50%, más preferentemente en al menos un 75%, de la manera más preferida en al menos un 100%. El
- 55

- aumento en la biodisponibilidad se obtiene preferentemente cuando se administra el Factor VIII mediante inyección subcutánea con una dosis inferior a 1000 UI/kg de peso corporal o inferior a 800 UI/kg de peso corporal o inferior a 600 UI/kg de peso corporal o inferior a 400 UI/kg de peso corporal, p. ej., con una dosis comprendida entre aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 500 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 75 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 400 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 100 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 300 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 1000 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 800 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 700 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 600 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 500 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 400 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 300 UI/kg de peso corporal o entre aproximadamente 50 UI/kg de peso corporal y aproximadamente 200 UI/kg de peso corporal.
- 15 La composición o las composiciones farmacéuticas de la invención como se define en las presentes reivindicaciones se pueden administrar solas o junto con otros agentes terapéuticos. Estos agentes se pueden incorporar como parte del mismo producto farmacéutico.

### Ejemplos

#### Ejemplo 1: Evaluación de la biodisponibilidad del FVIII y varios aditivos aplicados s.c. en un modelo de hemofilia A

##### Materiales y modelo en animales

El Factor VIII utilizado en los experimentos fue un factor VIII recombinante monocatenario con un dominio B truncado (denominado en lo sucesivo en la presente "rFVIII"). El Factor VIII se obtuvo fusionando directamente Asn764 con Thr1653. Se ha expresado en células de un cultivo celular y purificado a partir del medio del cultivo celular.

Los agentes adicionales utilizados se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1

Clase de compuesto	Tipo de compuesto y/o fuente
Heparina no fraccionada	Heparin-Natrium-25000-ratiopharm
Heparina de bajo peso molecular	Dalteparin (Fragmin® from Pfizer)
Dextrán sulfato	Aprox. 500 kDa
Pentosán sulfato	Fondaparinux sódico (Arixtra® de SKB)
Heparina N-acetil-de-O-sulfatada	Sal sódica de heparina N-acetil-de-O-sulfatada de Sigma-Aldrich (nº de producto de Sigma A6039) número CAS 133686-69-8
Condroitina sulfato	Sal sódica de condroitina sulfato A de tráquea bovina, obtenida de Sigma-Aldrich (nº de producto Sigma C9819) número CAS 39455-18-0

Se utilizaron en ratones con una inactivación génica para el Factor VIII como el modelo en animales de la hemofilia A. Estos ratones carecen de los exones 16 y 17 y, por lo tanto, no expresan el FVIII (Bi L. *et al.*, *Nature genetics*, 1995, vol 10(1), 119-121; Bi L. *et al.*, *Blood*, 1996, vol. 88(9), 3446-3450). Esto permite el análisis de los niveles del FVIII tras el tratamiento cuantificando la actividad del FVIII en el plasma de los ratones ko.

##### Métodos

Para evaluar si las inyecciones extravasculares podrían ser una opción para una terapia mejorada con el rFVIII (humano), se escogió la inyección subcutánea, elemento representativo típico de la terapia extravascular. El diseño del estudio farmacocinético no clínico realizado se detalla en las siguientes tablas 2 y 3. Los niveles plasmáticos de la actividad del Factor VIII se determinaron tras una inyección subcutánea o intravenosa única del rFVIII junto con diversos aditivos (grupos de tratamiento detallados en la tabla 2) en un modelo de la hemofilia A.



5 Se trataron los grupos correspondientes con la misma dosis del FVIII (ensayo de actividad del sustrato cromogénico (CS)) en presencia de varios aditivos diferentes. Para una aplicación única, se mezclaron los diversos componentes diferentes de cada grupo de tratamiento entre sí en un volumen de 200 µL (volúmenes idénticos para todos los grupos) antes de la aplicación subcutánea a ratones inactivados génicamente (ko) para el FVIII que pesaban aproximadamente 25 g. Los grupos de tratamiento se resumen en la tabla 2.

10 Se extrajeron muestras de sangre con anestesia a corto plazo, se previno la coagulación utilizando citrato de sodio hasta un 10% de citrato en sangre, se procesaron para obtener el plasma y se almacenaron a -70 °C para determinar la actividad del FVIII. Los puntos temporales de muestreo se detallan en la tabla 3. Se realizó la cuantificación de la actividad del FVIII en el plasma mediante una estrategia estándar basada en la aPTT (cronómetro de coagulación Behring). Los animales se mantuvieron en condiciones de alojamiento estándar.

**Tabla 2: Grupos de tratamiento**

Nº	Tratamiento	Dosis del FVIII (ensayo de actividad CS) / aditivo	volumen [mL/kg]	programación	vía	N
1	rFVIII	400 UI/kg	8	inyección única (t=0)	s.c.	25
2	FVIII/Heparina sin fraccionar	400 UI/kg / 5 U/mL de producto aplicado	8	inyección única	s.c.	25
3	Dextrán sulfato (aprox. 500 kDa)	400 µg/mL de producto aplicado	8	inyección única	s.c.	25
4	rFVIII/Fragmin®	400 UI/kg / 5 U/mL de producto aplicado	8	inyección única	s.c.	20
5	rFVIII/Fondaparinux®	400 UI/kg / 10 µg/mL de producto aplicado	8	inyección única	s.c.	20
6	rFVIII/Heparina N-acetil de-O-sulfatada	400 UI/kg / 10 µg/mL de producto aplicado	8	inyección única	s.c.	20
7	rFVIII/ Condroitina sulfato	400 UI/kg / 10 µg/mL de producto aplicado	8	inyección única	s.c.	20

**Resultados**

15 Los resultados se resumen en la Tabla 3 y la Figura 1. La inyección subcutánea de 400 UI/kg del rFVIII en presencia de diversos glucosaminoglicanos sulfatados en ratones FVIII ko conllevó un aumento significativo de la actividad del FVIII en el nivel plasmático en comparación con la administración del FVIII solo o FVIII + dextrán sulfato. El aumento para la coadministración de heparina fue particularmente fuerte.

**Tabla 3. Actividad de FVIII en % de la actividad del FVIII en plasma humano normal**

Punto temporal (h)	400 UI/kg de rFVIII s.c.	400 UI/kg de rFVIII / 5 UI/ml de Heparina sin fraccionar s.c.	400 UI/kg de rFVIII / 400 µg/ml de dextrán sulfato s.c.	400 UI/kg de rFVIII / 5 U/ml de Fragmin® s.c.
0,5	1,02 ± 0,85	2,90 ± 2,70	0 ± 0	3,41 ± 0,61
2	13,04 ± 3,90	15,16 ± 4,12	0,98 ± 1,49	10,65 ± 6,38
5	1,15 ± 1,28	26,66 ± 5,74	2,57 ± 2,67	15,19 ± 7,12
8	2,32 ± 2,27	15,56 ± 4,22	0,64 ± 0,64	21,13 ± 8,92
16	4,82 ± 2,35	12,08 ± 2,35	0,84 ± 1,26	13,19 ± 3,58
24	9,72 ± 8,09	14,10 ± 3,76	0,85 ± 0,89	10,21 ± 3,26
32	2,48 ± 2,20	10,84 ± 5,31	0,92 ± 1,30	5,23 ± 2,83
48	1,15 ± 1,72	7,02 ± 1,24	1,47 ± 1,14	4,71 ± 1,74

ES 2 600 081 T3

<b>ABC 0-48 h (h x % del SHP norm)</b>	<b>202,0</b>	<b>598,4</b>	<b>50,0</b>	<b>475,9</b>
--	--------------	--------------	-------------	--------------

Los valores máximos están sombreados en gris.

<b>Punto temporal (h)</b>	400 UI/kg de rFVIII / Fondaparinux® (10 µg/ml) s.c.	400 UI/kg de rFVIII / Heparina N-acetil de-O-sulfatada (10 µg/ml) s.c.	400 UI/kg de rFVIII / Condroitina sulfato (10 µg/ml) s.c.
0,5	7,21 ± 6,77	8,24 ± 11,87	1,98 ± 4,12
2	20,81 ± 11,42	23,37 ± 8,39	16,83 ± 7,22
5	13,01 ± 8,96	16,75 ± 5,08	11,59 ± 5,28
8	18,03 ± 4,70	28,73 ± 9,39	22,59 ± 7,10
16	8,79 ± 5,67	7,69 ± 5,31	3,86 ± 2,76
24	9,61 ± 5,66	10,49 ± 2,12	8,95 ± 2,25
32	3,81 ± 2,13	4,11 ± 1,99	2,83 ± 1,67
48	6,55 ± 2,93	4,73 ± 1,37	7,11 ± 2,86
<b>ABC 0-48 h (h x % del SHP norm)</b>	<b>435,7</b>	<b>499,6</b>	<b>391,7</b>

Los valores máximos están sombreados en gris.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> CSL Behring GmbH

5 <120> Uso de glucosaminoglicanos sulfatados para mejorar la biodisponibilidad de factores de coagulación de la sangre

<130> A182

<150> EP 11185648.0

<151> 2011-10-18

10 <150> US 61/548606

<151> 2011-10-18

<160> 2

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

15 <211> 6996

<212> ADN

<213> homo sapiens

ES 2 600 081 T3

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(6996)

<400> 1

	gcc acc aga aga tac tac ctg ggt gca gtg gaa ctg tca tgg gac tat	48
	Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr	
	1 5 10 15	
	atg caa agt gat ctc ggt gag ctg cct gtg gac gca aga ttt cct cct	96
	Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg Phe Pro Pro	
	20 25 30	
	aga gtg cca aaa tct ttt cca ttc aac acc tca gtc gtg tac aaa aag	144
	Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys	
	35 40 45	
	act ctg ttt gta gaa ttc acg gat cac ctt ttc aac atc gct aag cca	192
	Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile Ala Lys Pro	
	50 55 60	
	agg cca ccc tgg atg ggt ctg cta ggt cct acc atc cag gct gag gtt	240
	Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln Ala Glu Val	
	65 70 75 80	
	tat gat aca gtg gtc att aca ctt aag aac atg gct tcc cat cct gtc	288
	Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser His Pro Val	
	85 90 95	
	agt ctt cat gct gtt ggt gta tcc tac tgg aaa gct tct gag gga gct	336
	Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser Glu Gly Ala	
	100 105 110	
	gaa tat gat gat cag acc agt caa agg gag aaa gaa gat gat aaa gtc	384
	Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp Asp Lys Val	
	115 120 125	
5	ttc cct ggt gga agc cat aca tat gtc tgg cag gtc ctg aaa gag aat	432

ES 2 600 081 T3

Phe	Pro	Gly	Gly	Ser	His	Thr	Tyr	Val	Trp	Gln	Val	Leu	Lys	Glu	Asn		
130						135					140						
ggg	cca	atg	gcc	tct	gac	cca	ctg	tgc	ctt	acc	tac	tca	tat	ctt	tct		480
Gly	Pro	Met	Ala	Ser	Asp	Pro	Leu	Cys	Leu	Thr	Tyr	Ser	Tyr	Leu	Ser		
145					150					155					160		
cat	gtg	gac	ctg	gta	aaa	gac	ttg	aat	tca	ggc	ctc	att	gga	gcc	cta		528
His	Val	Asp	Leu	Val	Lys	Asp	Leu	Asn	Ser	Gly	Leu	Ile	Gly	Ala	Leu		
				165					170						175		
cta	gta	tgt	aga	gaa	ggg	agt	ctg	gcc	aag	gaa	aag	aca	cag	acc	ttg		576
Leu	Val	Cys	Arg	Glu	Gly	Ser	Leu	Ala	Lys	Glu	Lys	Thr	Gln	Thr	Leu		
			180					185						190			
cac	aaa	ttt	ata	cta	ctt	ttt	gct	gta	ttt	gat	gaa	ggg	aaa	agt	tgg		624
His	Lys	Phe	Ile	Leu	Leu	Phe	Ala	Val	Phe	Asp	Glu	Gly	Lys	Ser	Trp		
		195					200						205				
cac	tca	gaa	aca	aag	aac	tcc	ttg	atg	cag	gat	agg	gat	gct	gca	tct		672
His	Ser	Glu	Thr	Lys	Asn	Ser	Leu	Met	Gln	Asp	Arg	Asp	Ala	Ala	Ser		
		210				215					220						
gct	cgg	gcc	tgg	cct	aaa	atg	cac	aca	gtc	aat	ggg	tat	gta	aac	agg		720
Ala	Arg	Ala	Trp	Pro	Lys	Met	His	Thr	Val	Asn	Gly	Tyr	Val	Asn	Arg		
225					230					235					240		
tct	ctg	cca	ggt	ctg	att	gga	tgc	cac	agg	aaa	tca	gtc	tat	tgg	cat		768
Ser	Leu	Pro	Gly	Leu	Ile	Gly	Cys	His	Arg	Lys	Ser	Val	Tyr	Trp	His		
				245					250						255		
gtg	att	gga	atg	ggc	acc	act	cct	gaa	gtg	cac	tca	ata	ttc	ctc	gaa		816
Val	Ile	Gly	Met	Gly	Thr	Thr	Pro	Glu	Val	His	Ser	Ile	Phe	Leu	Glu		
			260					265						270			
ggg	cac	aca	ttt	ctt	gtg	agg	aac	cat	cgc	cag	gcg	tcc	ttg	gaa	atc		864
Gly	His	Thr	Phe	Leu	Val	Arg	Asn	His	Arg	Gln	Ala	Ser	Leu	Glu	Ile		
		275					280						285				
tcg	cca	ata	act	ttc	ctt	act	gct	caa	aca	ctc	ttg	atg	gac	ctt	gga		912
Ser	Pro	Ile	Thr	Phe	Leu	Thr	Ala	Gln	Thr	Leu	Leu	Met	Asp	Leu	Gly		
		290				295						300					
cag	ttt	cta	ctg	ttt	tgt	cat	atc	tct	tcc	cac	caa	cat	gat	ggc	atg		960
Gln	Phe	Leu	Leu	Phe	Cys	His	Ile	Ser	Ser	His	Gln	His	Asp	Gly	Met		
305					310					315					320		
gaa	gct	tat	gtc	aaa	gta	gac	agc	tgt	cca	gag	gaa	ccc	caa	cta	cga		1008
Glu	Ala	Tyr	Val	Lys	Val	Asp	Ser	Cys	Pro	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Arg		
				325					330						335		
atg	aaa	aat	aat	gaa	gaa	gcg	gaa	gac	tat	gat	gat	gat	ctt	act	gat		1056
Met	Lys	Asn	Asn	Glu	Glu	Ala	Glu	Asp	Tyr	Asp	Asp	Asp	Leu	Thr	Asp		
			340					345						350			
tct	gaa	atg	gat	gtg	gtc	agg	ttt	gat	gat	gac	aac	tct	cct	tcc	ttt		1104
Ser	Glu	Met	Asp	Val	Val	Arg	Phe	Asp	Asp	Asp	Asn	Ser	Pro	Ser	Phe		
		355					360					365					
atc	caa	att	cgc	tca	ggt	gcc	aag	aag	cat	cct	aaa	act	tgg	gta	cat		1152
Ile	Gln	Ile	Arg	Ser	Val	Ala	Lys	Lys	His	Pro	Lys	Thr	Trp	Val	His		
		370				375					380						

ES 2 600 081 T3

tac att gct gct gaa gag gag gac tgg gac tat gct ccc tta gtc ctc Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu 385 390 395 400	1200
gcc ccc gat gac aga agt tat aaa agt caa tat ttg aac aat ggc cct Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro 405 410 415	1248
cag cgg att ggt agg aag tac aaa aaa gtc cga ttt atg gca tac aca Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr 420 425 430	1296
gat gaa acc ttt aag act cgt gaa gct att cag cat gaa tca gga atc Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu Ser Gly Ile 435 440 445	1344
ttg gga cct tta ctt tat ggg gaa gtt gga gac aca ctg ttg att ata Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile 450 455 460	1392
ttt aag aat caa gca agc aga cca tat aac atc tac cct cac gga atc Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile 465 470 475 480	1440
act gat gtc cgt cct ttg tat tca agg aga tta cca aaa ggt gta aaa Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys 485 490 495	1488
cat ttg aag gat ttt cca att ctg cca gga gaa ata ttc aaa tat aaa His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys 500 505 510	1536
tgg aca gtg act gta gaa gat ggg cca act aaa tca gat cct cgg tgc Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys 515 520 525	1584
ctg acc cgc tat tac tct agt ttc gtt aat atg gag aga gat cta gct Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala 530 535 540	1632
tca gga ctc att ggc cct ctc ctc atc tgc tac aaa gaa tct gta gat Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp 545 550 555 560	1680
caa aga gga aac cag ata atg tca gac aag agg aat gtc atc ctg ttt Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe 565 570 575	1728
tct gta ttt gat gag aac cga agc tgg tac ctc aca gag aat ata caa Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu Asn Ile Gln 580 585 590	1776
cgc ttt ctc ccc aat cca gct gga gtg cag ctt gag gat cca gag ttc Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp Pro Glu Phe 595 600 605	1824
caa gcc tcc aac atc atg cac agc atc aat ggc tat gtt ttt gat agt Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser 610 615 620	1872
ttg cag ttg tca gtt tgt ttg cat gag gtg gca tac tgg tac att cta Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu 625 630 635 640	1920

ES 2 600 081 T3

agc att gga gca cag act gac ttc ctt tct gtc ttc ttc tct gga tat	1968
Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr	
645 650 655	
acc ttc aaa cac aaa atg gtc tat gaa gac aca ctc acc cta ttc cca	2016
Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro	
660 665 670	
ttc tca gga gaa act gtc ttc atg tcg atg gaa aac cca ggt cta tgg	2064
Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp	
675 680 685	
att ctg ggg tgc cac aac tca gac ttt cgg aac aga ggc atg acc gcc	2112
Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala	
690 695 700	
tta ctg aag gtt tct agt tgt gac aag aac act ggt gat tat tac gag	2160
Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu	
705 710 715 720	
gac agt tat gaa gat att tca gca tac ttg ctg agt aaa aac aat gcc	2208
Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala	
725 730 735	
att gaa cca aga agc ttc tcc cag aat tca aga cac cgt agc act agg	2256
Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Arg Ser Thr Arg	
740 745 750	
caa aag caa ttt aat gcc acc aca att cca gaa aat gac ata gag aag	2304
Gln Lys Gln Phe Asn Ala Thr Thr Ile Pro Glu Asn Asp Ile Glu Lys	
755 760 765	
act gac cct tgg ttt gca cac aga aca cct atg cct aaa ata caa aat	2352
Thr Asp Pro Trp Phe Ala His Arg Thr Pro Met Pro Lys Ile Gln Asn	
770 775 780	
gtc tcc tct agt gat ttg ttg atg ctc ttg cga cag agt cct act cca	2400
Val Ser Ser Ser Asp Leu Leu Met Leu Leu Arg Gln Ser Pro Thr Pro	
785 790 795 800	
cat ggg cta tcc tta tct gat ctc caa gaa gcc aaa tat gag act ttt	2448
His Gly Leu Ser Leu Ser Asp Leu Gln Glu Ala Lys Tyr Glu Thr Phe	
805 810 815	
tct gat gat cca tca cct gga gca ata gac agt aat aac agc ctg tct	2496
Ser Asp Asp Pro Ser Pro Gly Ala Ile Asp Ser Asn Asn Ser Leu Ser	
820 825 830	
gaa atg aca cac ttc agg cca cag ctc cat cac agt ggg gac atg gta	2544
Glu Met Thr His Phe Arg Pro Gln Leu His His Ser Gly Asp Met Val	
835 840 845	
ttt acc cct gag tca ggc ctc caa tta aga tta aat gag aaa ctg ggg	2592
Phe Thr Pro Glu Ser Gly Leu Gln Leu Arg Leu Asn Glu Lys Leu Gly	
850 855 860	
aca act gca gca aca gag ttg aag aaa ctt gat ttc aaa gtt tct agt	2640
Thr Thr Ala Ala Thr Glu Leu Lys Lys Leu Asp Phe Lys Val Ser Ser	
865 870 875 880	
aca tca aat aat ctg att tca aca att cca tca gac aat ttg gca gca	2688
Thr Ser Asn Asn Leu Ile Ser Thr Ile Pro Ser Asp Asn Leu Ala Ala	

ES 2 600 081 T3

885	890	895	
ggt act gat aat aca agt tcc tta gga ccc cca agt atg cca gtt cat Gly Thr Asp Asn Thr Ser Ser Leu Gly Pro Pro Ser Met Pro Val His 900 905 910			2736
tat gat agt caa tta gat acc act cta ttt ggc aaa aag tca tct ccc Tyr Asp Ser Gln Leu Asp Thr Thr Leu Phe Gly Lys Lys Ser Ser Pro 915 920 925			2784
ctt act gag tct ggt gga cct ctg agc ttg agt gaa gaa aat aat gat Leu Thr Glu Ser Gly Gly Pro Leu Ser Leu Ser Glu Glu Asn Asn Asp 930 935 940			2832
tca aag ttg tta gaa tca ggt tta atg aat agc caa gaa agt tca tgg Ser Lys Leu Leu Glu Ser Gly Leu Met Asn Ser Gln Glu Ser Ser Trp 945 950 955 960			2880
gga aaa aat gta tcg tca aca gag agt ggt agg tta ttt aaa ggg aaa Gly Lys Asn Val Ser Thr Glu Ser Gly Arg Leu Phe Lys Gly Lys 965 970 975			2928
aga gct cat gga cct gct ttg ttg act aaa gat aat gcc tta ttc aaa Arg Ala His Gly Pro Ala Leu Leu Thr Lys Asp Asn Ala Leu Phe Lys 980 985 990			2976
ggt agc atc tct ttg tta aag aca aac aaa act tcc aat aat tca gca Val Ser Ile Ser Leu Leu Lys Thr Asn Lys Thr Ser Asn Asn Ser Ala 995 1000 1005			3024
act aat aga aag act cac att gat ggc cca tca tta tta att gag Thr Asn Arg Lys Thr His Ile Asp Gly Pro Ser Leu Leu Ile Glu 1010 1015 1020			3069
aat agt cca tca gtc tgg caa aat ata tta gaa agt gac act gag Asn Ser Pro Ser Val Trp Gln Asn Ile Leu Glu Ser Asp Thr Glu 1025 1030 1035			3114
ttt aaa aaa gtg aca cct ttg att cat gac aga atg ctt atg gac Phe Lys Lys Val Thr Pro Leu Ile His Asp Arg Met Leu Met Asp 1040 1045 1050			3159
aaa aat gct aca gct ttg agg cta aat cat atg tca aat aaa act Lys Asn Ala Thr Ala Leu Arg Leu Asn His Met Ser Asn Lys Thr 1055 1060 1065			3204
act tca tca aaa aac atg gaa atg gtc caa cag aaa aaa gag ggc Thr Ser Ser Lys Asn Met Glu Met Val Gln Gln Lys Lys Glu Gly 1070 1075 1080			3249
ccc att cca cca gat gca caa aat cca gat atg tcg ttc ttt aag Pro Ile Pro Pro Asp Ala Gln Asn Pro Asp Met Ser Phe Phe Lys 1085 1090 1095			3294
atg cta ttc ttg cca gaa tca gca agg tgg ata caa agg act cat Met Leu Phe Leu Pro Glu Ser Ala Arg Trp Ile Gln Arg Thr His 1100 1105 1110			3339
gga aag aac tct ctg aac tct ggg caa ggc ccc agt cca aag caa Gly Lys Asn Ser Leu Asn Ser Gly Gln Gly Pro Ser Pro Lys Gln 1115 1120 1125			3384
tta gta tcc tta gga cca gaa aaa tct gtg gaa ggt cag aat ttc			3429

ES 2 600 081 T3

Leu	Val	Ser	Leu	Gly	Pro	Glu	Lys	Ser	Val	Glu	Gly	Gln	Asn	Phe			
1130						1135					1140						
ttg	tct	gag	aaa	aac	aaa	gtg	gta	gta	gga	aag	ggg	gaa	ttt	aca			3474
Leu	Ser	Glu	Lys	Asn	Lys	Val	Val	Val	Gly	Lys	Gly	Glu	Phe	Thr			
1145						1150					1155						
aag	gac	gta	gga	ctc	aaa	gag	atg	ggt	ttt	cca	agc	agc	aga	aac			3519
Lys	Asp	Val	Gly	Leu	Lys	Glu	Met	Val	Phe	Pro	Ser	Ser	Arg	Asn			
1160						1165					1170						
cta	ttt	ctt	act	aac	ttg	gat	aat	tta	cat	gaa	aat	aat	aca	cac			3564
Leu	Phe	Leu	Thr	Asn	Leu	Asp	Asn	Leu	His	Glu	Asn	Asn	Thr	His			
1175						1180					1185						
aat	caa	gaa	aaa	aaa	att	cag	gaa	gaa	ata	gaa	aag	aag	gaa	aca			3609
Asn	Gln	Glu	Lys	Lys	Ile	Gln	Glu	Glu	Ile	Glu	Lys	Lys	Glu	Thr			
1190						1195					1200						
tta	atc	caa	gag	aat	gta	ggt	ttg	cct	cag	ata	cat	aca	gtg	act			3654
Leu	Ile	Gln	Glu	Asn	Val	Val	Leu	Pro	Gln	Ile	His	Thr	Val	Thr			
1205						1210					1215						
ggc	act	aag	aat	ttc	atg	aag	aac	ctt	ttc	tta	ctg	agc	act	agg			3699
Gly	Thr	Lys	Asn	Phe	Met	Lys	Asn	Leu	Phe	Leu	Leu	Ser	Thr	Arg			
1220						1225					1230						
caa	aat	gta	gaa	ggt	tca	tat	gac	ggg	gca	tat	gct	cca	gta	ctt			3744
Gln	Asn	Val	Glu	Gly	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ala	Tyr	Ala	Pro	Val	Leu			
1235						1240					1245						
caa	gat	ttt	agg	tca	tta	aat	gat	tca	aca	aat	aga	aca	aag	aaa			3789
Gln	Asp	Phe	Arg	Ser	Leu	Asn	Asp	Ser	Thr	Asn	Arg	Thr	Lys	Lys			
1250						1255					1260						
cac	aca	gct	cat	ttc	tca	aaa	aaa	ggg	gag	gaa	gaa	aac	ttg	gaa			3834
His	Thr	Ala	His	Phe	Ser	Lys	Lys	Gly	Glu	Glu	Glu	Asn	Leu	Glu			
1265						1270					1275						
ggc	ttg	gga	aat	caa	acc	aag	caa	att	gta	gag	aaa	tat	gca	tgc			3879
Gly	Leu	Gly	Asn	Gln	Thr	Lys	Gln	Ile	Val	Glu	Lys	Tyr	Ala	Cys			
1280						1285					1290						
acc	aca	agg	ata	tct	cct	aat	aca	agc	cag	cag	aat	ttt	gtc	acg			3924
Thr	Thr	Arg	Ile	Ser	Pro	Asn	Thr	Ser	Gln	Gln	Asn	Phe	Val	Thr			
1295						1300					1305						
caa	cgt	agt	aag	aga	gct	ttg	aaa	caa	ttc	aga	ctc	cca	cta	gaa			3969
Gln	Arg	Ser	Lys	Arg	Ala	Leu	Lys	Gln	Phe	Arg	Leu	Pro	Leu	Glu			
1310						1315					1320						
gaa	aca	gaa	ctt	gaa	aaa	agg	ata	att	gtg	gat	gac	acc	tca	acc			4014
Glu	Thr	Glu	Leu	Glu	Lys	Arg	Ile	Ile	Val	Asp	Asp	Thr	Ser	Thr			
1325						1330					1335						
cag	tgg	tcc	aaa	aac	atg	aaa	cat	ttg	acc	ccg	agc	acc	ctc	aca			4059
Gln	Trp	Ser	Lys	Asn	Met	Lys	His	Leu	Thr	Pro	Ser	Thr	Leu	Thr			
1340						1345					1350						
cag	ata	gac	tac	aat	gag	aag	gag	aaa	ggg	gcc	att	act	cag	tct			4104
Gln	Ile	Asp	Tyr	Asn	Glu	Lys	Glu	Lys	Gly	Ala	Ile	Thr	Gln	Ser			
1355						1360					1365						



ES 2 600 081 T3

ccc tta tca gat tgc ctt acg agg agt cat agc atc cct caa gca Pro Leu Ser Asp Cys Leu Thr Arg Ser His Ser Ile Pro Gln Ala 1370 1375 1380	4149
aat aga tct cca tta ccc att gca aag gta tca tca ttt cca tct Asn Arg Ser Pro Leu Pro Ile Ala Lys Val Ser Ser Phe Pro Ser 1385 1390 1395	4194
att aga cct ata tat ctg acc agg gtc cta ttc caa gac aac tct Ile Arg Pro Ile Tyr Leu Thr Arg Val Leu Phe Gln Asp Asn Ser 1400 1405 1410	4239
tct cat ctt cca gca gca tct tat aga aag aaa gat tct ggg gtc Ser His Leu Pro Ala Ala Ser Tyr Arg Lys Lys Asp Ser Gly Val 1415 1420 1425	4284
caa gaa agc agt cat ttc tta caa gga gcc aaa aaa aat aac ctt Gln Glu Ser Ser His Phe Leu Gln Gly Ala Lys Lys Asn Asn Leu 1430 1435 1440	4329
tct tta gcc att cta acc ttg gag atg act ggt gat caa aga gag Ser Leu Ala Ile Leu Thr Leu Glu Met Thr Gly Asp Gln Arg Glu 1445 1450 1455	4374
gtt ggc tcc ctg ggg aca agt gcc aca aat tca gtc aca tac aag Val Gly Ser Leu Gly Thr Ser Ala Thr Asn Ser Val Thr Tyr Lys 1460 1465 1470	4419
aaa gtt gag aac act gtt ctc ccg aaa cca gac ttg ccc aaa aca Lys Val Glu Asn Thr Val Leu Pro Lys Pro Asp Leu Pro Lys Thr 1475 1480 1485	4464
tct ggc aaa gtt gaa ttg ctt cca aaa gtt cac att tat cag aag Ser Gly Lys Val Glu Leu Leu Pro Lys Val His Ile Tyr Gln Lys 1490 1495 1500	4509
gac cta ttc cct acg gaa act agc aat ggg tct cct ggc cat ctg Asp Leu Phe Pro Thr Glu Thr Ser Asn Gly Ser Pro Gly His Leu 1505 1510 1515	4554
gat ctc gtg gaa ggg agc ctt ctt cag gga aca gag gga gcg att Asp Leu Val Glu Gly Ser Leu Leu Gln Gly Thr Glu Gly Ala Ile 1520 1525 1530	4599
aag tgg aat gaa gca aac aga cct gga aaa gtt ccc ttt ctg aga Lys Trp Asn Glu Ala Asn Arg Pro Gly Lys Val Pro Phe Leu Arg 1535 1540 1545	4644
gta gca aca gaa agc tct gca aag act ccc tcc aag cta ttg gat Val Ala Thr Glu Ser Ser Ala Lys Thr Pro Ser Lys Leu Leu Asp 1550 1555 1560	4689
cct ctt gct tgg gat aac cac tat ggt act cag ata cca aaa gaa Pro Leu Ala Trp Asp Asn His Tyr Gly Thr Gln Ile Pro Lys Glu 1565 1570 1575	4734
gag tgg aaa tcc caa gag aag tca cca gaa aaa aca gct ttt aag Glu Trp Lys Ser Gln Glu Lys Ser Pro Glu Lys Thr Ala Phe Lys 1580 1585 1590	4779
aaa aag gat acc att ttg tcc ctg aac gct tgt gaa agc aat cat Lys Lys Asp Thr Ile Leu Ser Leu Asn Ala Cys Glu Ser Asn His 1595 1600 1605	4824

ES 2 600 081 T3

gca ata gca gca ata aat gag gga caa aat aag ccc gaa ata gaa Ala Ile Ala Ala Ile Asn Glu Gly Gln Asn Lys Pro Glu Ile Glu 1610 1615 1620	4869
gtc acc tgg gca aag caa ggt agg act gaa agg ctg tgc tct caa Val Thr Trp Ala Lys Gln Gly Arg Thr Glu Arg Leu Cys Ser Gln 1625 1630 1635	4914
aac cca cca gtc ttg aaa cgc cat caa cgg gaa ata act cgt act Asn Pro Pro Val Leu Lys Arg His Gln Arg Glu Ile Thr Arg Thr 1640 1645 1650	4959
act ctt cag tca gat caa gag gaa att gac tat gat gat acc ata Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile 1655 1660 1665	5004
tca gtt gaa atg aag aag gaa gat ttt gac att tat gat gag gat Ser Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp 1670 1675 1680	5049
gaa aat cag agc ccc cgc agc ttt caa aag aaa aca cga cac tat Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr 1685 1690 1695	5094
ttt att gct gca gtg gag agg ctc tgg gat tat ggg atg agt agc Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser Ser 1700 1705 1710	5139
tcc cca cat gtt cta aga aac agg gct cag agt ggc agt gtc cct Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro 1715 1720 1725	5184
cag ttc aag aaa gtt gtt ttc cag gaa ttt act gat ggc tcc ttt Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu Phe Thr Asp Gly Ser Phe 1730 1735 1740	5229
act cag ccc tta tac cgt gga gaa cta aat gaa cat ttg gga ctc Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu His Leu Gly Leu 1745 1750 1755	5274
ctg ggg cca tat ata aga gca gaa gtt gaa gat aat atc atg gta Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val 1760 1765 1770	5319
act ttc aga aat cag gcc tct cgt ccc tat tcc ttc tat tct agc Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser 1775 1780 1785	5364
ctt att tct tat gag gaa gat cag agg caa gga gca gaa cct aga Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu Pro Arg 1790 1795 1800	5409
aaa aac ttt gtc aag cct aat gaa acc aaa act tac ttt tgg aaa Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp Lys 1805 1810 1815	5454
gtg caa cat cat atg gca ccc act aaa gat gag ttt gac tgc aaa Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys 1820 1825 1830	5499
gcc tgg gct tat ttc tct gat gtt gac ctg gaa aaa gat gtg cac Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His 1835 1840 1845	5544

ES 2 600 081 T3

1835	1840	1845	
tca ggc ctg att gga ccc ctt Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu 1850	ctg gtc tgc cac act Leu Val Cys His 1855	act aac aca ctg Thr Asn Thr Leu 1860	5589
aac cct gct cat ggg aga caa Asn Pro Ala His Gly Arg Gln 1865	gtg aca gta cag gaa Val Thr Val Gln 1870	ttt gct ctg Phe Ala Leu 1875	5634
ttt ttc acc atc ttt gat gag Phe Thr Ile Phe Asp Glu 1880	acc aaa agc tgg tac Thr Lys Ser Trp 1885	ttc act gaa Phe Thr Glu 1890	5679
aat atg gaa aga aac tgc agg Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg 1895	gct ccc tgc aat atc Ala Pro Cys Asn 1900	cag atg gaa Gln Met Glu 1905	5724
gat ccc act ttt aaa gag aat Asp Pro Thr Phe Lys Glu Asn 1910	tat cgc ttc cat gca Tyr Arg Phe His 1915	atc aat ggc Ile Asn Gly 1920	5769
tac ata atg gat aca cta cct Tyr Ile Met Asp Thr Leu Pro 1925	ggc tta gta atg gct Gly Leu Val Met 1930	cag gat caa Gln Asp Gln 1935	5814
agg att cga tgg tat ctg ctc Arg Ile Arg Trp Tyr Leu 1940	agc atg ggc agc aat Ser Met Gly Ser 1945	gaa aac atc Glu Asn Ile 1950	5859
cat tct att cat ttc agt gga His Ser Ile His Phe Ser Gly 1955	cat gtg ttc act gta His Val Phe Thr 1960	cga aaa aaa Arg Lys Lys 1965	5904
gag gag tat aaa atg gca ctg Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu 1970	tac aat ctc tat cca Tyr Asn Leu Tyr 1975	ggt gtt ttt Gly Val Phe 1980	5949
gag aca gtg gaa atg tta cca Glu Thr Val Glu Met Leu Pro 1985	tcc aaa gct gga att Ser Lys Ala Gly Ile 1990	tgg cgg gtg Trp Arg Val 1995	5994
gaa tgc ctt att ggc gag cat Glu Cys Leu Ile Gly Glu His 2000	cta cat gct ggg atg Leu His Ala Gly Met 2005	agc aca ctt Ser Thr Leu 2010	6039
ttt ctg gtg tac agc aat aag Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys 2015	tgt cag act ccc ctg Cys Gln Thr Pro 2020	gga atg gct Gly Met Ala 2025	6084
tct gga cac att aga gat ttt Ser Gly His Ile Arg Asp Phe 2030	cag att aca gct tca Gln Ile Thr Ala Ser 2035	gga caa tat Gly Gln Tyr 2040	6129
gga cag tgg gcc cca aag ctg Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu 2045	gcc aga ctt cat tat Ala Arg Leu His Tyr 2050	tcc gga tca Ser Gly Ser 2055	6174
atc aat gcc tgg agc acc aag Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys 2060	gag ccc ttt tct tgg Glu Pro Phe Ser Trp 2065	atc aag gtg Ile Lys Val 2070	6219
gat ctg ttg gca cca atg att att cac ggc atc aag acc cag ggt			6264

ES 2 600 081 T3

Asp	Leu	Leu	Ala	Pro	Met	Ile	Ile	His	Gly	Ile	Lys	Thr	Gln	Gly	
2075						2080					2085				
gcc	cgt	cag	aag	ttc	tcc	agc	ctc	tac	atc	tct	cag	ttt	atc	atc	6309
Ala	Arg	Gln	Lys	Phe	Ser	Ser	Leu	Tyr	Ile	Ser	Gln	Phe	Ile	Ile	
2090						2095					2100				
atg	tat	agt	ctt	gat	ggg	aag	aag	tgg	cag	act	tat	cga	gga	aat	6354
Met	Tyr	Ser	Leu	Asp	Gly	Lys	Lys	Trp	Gln	Thr	Tyr	Arg	Gly	Asn	
2105						2110					2115				
tcc	act	gga	acc	tta	atg	gtc	ttc	ttt	ggc	aat	gtg	gat	tca	tct	6399
Ser	Thr	Gly	Thr	Leu	Met	Val	Phe	Phe	Gly	Asn	Val	Asp	Ser	Ser	
2120						2125					2130				
ggg	ata	aaa	cac	aat	att	ttt	aac	cct	cca	att	att	gct	cga	tac	6444
Gly	Ile	Lys	His	Asn	Ile	Phe	Asn	Pro	Pro	Ile	Ile	Ala	Arg	Tyr	
2135						2140					2145				
atc	cgt	ttg	cac	cca	act	cat	tat	agc	att	cgc	agc	act	ctt	cgc	6489
Ile	Arg	Leu	His	Pro	Thr	His	Tyr	Ser	Ile	Arg	Ser	Thr	Leu	Arg	
2150						2155					2160				
atg	gag	ttg	atg	ggc	tgt	gat	tta	aat	agt	tgc	agc	atg	cca	ttg	6534
Met	Glu	Leu	Met	Gly	Cys	Asp	Leu	Asn	Ser	Cys	Ser	Met	Pro	Leu	
2165						2170					2175				
gga	atg	gag	agt	aaa	gca	ata	tca	gat	gca	cag	att	act	gct	tca	6579
Gly	Met	Glu	Ser	Lys	Ala	Ile	Ser	Asp	Ala	Gln	Ile	Thr	Ala	Ser	
2180						2185					2190				
tcc	tac	ttt	acc	aat	atg	ttt	gcc	acc	tgg	tct	cct	tca	aaa	gct	6624
Ser	Tyr	Phe	Thr	Asn	Met	Phe	Ala	Thr	Trp	Ser	Pro	Ser	Lys	Ala	
2195						2200					2205				
cga	ctt	cac	ctc	caa	ggg	agg	agt	aat	gcc	tgg	aga	cct	cag	gtg	6669
Arg	Leu	His	Leu	Gln	Gly	Arg	Ser	Asn	Ala	Trp	Arg	Pro	Gln	Val	
2210						2215					2220				
aat	aat	cca	aaa	gag	tgg	ctg	caa	gtg	gac	ttc	cag	aag	aca	atg	6714
Asn	Asn	Pro	Lys	Glu	Trp	Leu	Gln	Val	Asp	Phe	Gln	Lys	Thr	Met	
2225						2230					2235				
aaa	gtc	aca	gga	gta	act	act	cag	gga	gta	aaa	tct	ctg	ctt	acc	6759
Lys	Val	Thr	Gly	Val	Thr	Thr	Gln	Gly	Val	Lys	Ser	Leu	Leu	Thr	
2240						2245					2250				
agc	atg	tat	gtg	aag	gag	ttc	ctc	atc	tcc	agc	agt	caa	gat	ggc	6804
Ser	Met	Tyr	Val	Lys	Glu	Phe	Leu	Ile	Ser	Ser	Ser	Gln	Asp	Gly	
2255						2260					2265				
cat	cag	tgg	act	ctc	ttt	ttt	cag	aat	ggc	aaa	gta	aag	gtt	ttt	6849
His	Gln	Trp	Thr	Leu	Phe	Phe	Gln	Asn	Gly	Lys	Val	Lys	Val	Phe	
2270						2275					2280				
cag	gga	aat	caa	gac	tcc	ttc	aca	cct	gtg	gtg	aac	tct	cta	gac	6894
Gln	Gly	Asn	Gln	Asp	Ser	Phe	Thr	Pro	Val	Val	Asn	Ser	Leu	Asp	
2285						2290					2295				
cca	ccg	tta	ctg	act	cgc	tac	ctt	cga	att	cac	ccc	cag	agt	tgg	6939
Pro	Pro	Leu	Leu	Thr	Arg	Tyr	Leu	Arg	Ile	His	Pro	Gln	Ser	Trp	
2300						2305					2310				

ES 2 600 081 T3

gtg cac cag att gcc ctg agg atg gag gtt ctg ggc tgc gag gca 6984  
 Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala  
 2315 2320 2325

cag gac ctc tac 6996  
 Gln Asp Leu Tyr  
 2330

<210> 2

<211> 2332

<212> PRT

5 <213> homo sapiens

<400> 2

Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr  
 1 5 10 15

Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg Phe Pro Pro  
 20 25 30

Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys  
 35 40 45

Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile Ala Lys Pro  
 50 55 60

Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln Ala Glu Val  
 65 70 75 80

Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser His Pro Val  
 85 90 95

Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser Glu Gly Ala  
 100 105 110

Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp Asp Lys Val  
 115 120 125

Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu Lys Glu Asn  
 130 135 140

Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu Ser  
 145 150 155 160

His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile Gly Ala Leu  
 165 170 175

Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu  
 180 185 190

ES 2 600 081 T3

His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly Lys Ser Trp  
 195 200 205

His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp Ala Ala Ser  
 210 215 220

Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg  
 225 230 235 240

Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val Tyr Trp His  
 245 250 255

Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile Phe Leu Glu  
 260 265 270

Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser Leu Glu Ile  
 275 280 285

Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met Asp Leu Gly  
 290 295 300

Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His Asp Gly Met  
 305 310 315 320

Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg  
 325 330 335

Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp  
 340 345 350

Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser Pro Ser Phe  
 355 360 365

Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr Trp Val His  
 370 375 380

Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu  
 385 390 395 400

Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro  
 405 410 415

Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr  
 420 425 430

Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu Ser Gly Ile  
 435 440 445

ES 2 600 081 T3

Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile  
 450 455 460

Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile  
 465 470 475 480

Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys  
 485 490 495

His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys  
 500 505 510

Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys  
 515 520 525

Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala  
 530 535 540

Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp  
 545 550 555 560

Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe  
 565 570 575

Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu Asn Ile Gln  
 580 585 590

Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp Pro Glu Phe  
 595 600 605

Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser  
 610 615 620

Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu  
 625 630 635 640

Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr  
 645 650 655

Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro  
 660 665 670

Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp  
 675 680 685

Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala

ES 2 600 081 T3

690 695 700

Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu  
705 710 715 720

Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala  
725 730 735

Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Arg Ser Thr Arg  
740 745 750

Gln Lys Gln Phe Asn Ala Thr Thr Ile Pro Glu Asn Asp Ile Glu Lys  
755 760 765

Thr Asp Pro Trp Phe Ala His Arg Thr Pro Met Pro Lys Ile Gln Asn  
770 775 780

Val Ser Ser Ser Asp Leu Leu Met Leu Leu Arg Gln Ser Pro Thr Pro  
785 790 795 800

His Gly Leu Ser Leu Ser Asp Leu Gln Glu Ala Lys Tyr Glu Thr Phe  
805 810 815

Ser Asp Asp Pro Ser Pro Gly Ala Ile Asp Ser Asn Asn Ser Leu Ser  
820 825 830

Glu Met Thr His Phe Arg Pro Gln Leu His His Ser Gly Asp Met Val  
835 840 845

Phe Thr Pro Glu Ser Gly Leu Gln Leu Arg Leu Asn Glu Lys Leu Gly  
850 855 860

Thr Thr Ala Ala Thr Glu Leu Lys Lys Leu Asp Phe Lys Val Ser Ser  
865 870 875 880

Thr Ser Asn Asn Leu Ile Ser Thr Ile Pro Ser Asp Asn Leu Ala Ala  
885 890 895

Gly Thr Asp Asn Thr Ser Ser Leu Gly Pro Pro Ser Met Pro Val His  
900 905 910

Tyr Asp Ser Gln Leu Asp Thr Thr Leu Phe Gly Lys Lys Ser Ser Pro  
915 920 925

Leu Thr Glu Ser Gly Gly Pro Leu Ser Leu Ser Glu Glu Asn Asn Asp  
930 935 940



ES 2 600 081 T3

Ser Lys Leu Leu Glu Ser Gly Leu Met Asn Ser Gln Glu Ser Ser Trp  
 945 950 955 960

Gly Lys Asn Val Ser Ser Thr Glu Ser Gly Arg Leu Phe Lys Gly Lys  
 965 970 975

Arg Ala His Gly Pro Ala Leu Leu Thr Lys Asp Asn Ala Leu Phe Lys  
 980 985 990

Val Ser Ile Ser Leu Leu Lys Thr Asn Lys Thr Ser Asn Asn Ser Ala  
 995 1000 1005

Thr Asn Arg Lys Thr His Ile Asp Gly Pro Ser Leu Leu Ile Glu  
 1010 1015 1020

Asn Ser Pro Ser Val Trp Gln Asn Ile Leu Glu Ser Asp Thr Glu  
 1025 1030 1035

Phe Lys Lys Val Thr Pro Leu Ile His Asp Arg Met Leu Met Asp  
 1040 1045 1050

Lys Asn Ala Thr Ala Leu Arg Leu Asn His Met Ser Asn Lys Thr  
 1055 1060 1065

Thr Ser Ser Lys Asn Met Glu Met Val Gln Gln Lys Lys Glu Gly  
 1070 1075 1080

Pro Ile Pro Pro Asp Ala Gln Asn Pro Asp Met Ser Phe Phe Lys  
 1085 1090 1095

Met Leu Phe Leu Pro Glu Ser Ala Arg Trp Ile Gln Arg Thr His  
 1100 1105 1110

Gly Lys Asn Ser Leu Asn Ser Gly Gln Gly Pro Ser Pro Lys Gln  
 1115 1120 1125

Leu Val Ser Leu Gly Pro Glu Lys Ser Val Glu Gly Gln Asn Phe  
 1130 1135 1140

Leu Ser Glu Lys Asn Lys Val Val Val Gly Lys Gly Glu Phe Thr  
 1145 1150 1155

Lys Asp Val Gly Leu Lys Glu Met Val Phe Pro Ser Ser Arg Asn  
 1160 1165 1170

Leu Phe Leu Thr Asn Leu Asp Asn Leu His Glu Asn Asn Thr His  
 1175 1180 1185

ES 2 600 081 T3

Asn Gln Glu Lys Lys Ile Gln Glu Glu Ile Glu Lys Lys Glu Thr  
 1190 1195 1200  
 Leu Ile Gln Glu Asn Val Val Leu Pro Gln Ile His Thr Val Thr  
 1205 1210 1215  
 Gly Thr Lys Asn Phe Met Lys Asn Leu Phe Leu Leu Ser Thr Arg  
 1220 1225 1230  
 Gln Asn Val Glu Gly Ser Tyr Asp Gly Ala Tyr Ala Pro Val Leu  
 1235 1240 1245  
 Gln Asp Phe Arg Ser Leu Asn Asp Ser Thr Asn Arg Thr Lys Lys  
 1250 1255 1260  
 His Thr Ala His Phe Ser Lys Lys Gly Glu Glu Glu Asn Leu Glu  
 1265 1270 1275  
 Gly Leu Gly Asn Gln Thr Lys Gln Ile Val Glu Lys Tyr Ala Cys  
 1280 1285 1290  
 Thr Thr Arg Ile Ser Pro Asn Thr Ser Gln Gln Asn Phe Val Thr  
 1295 1300 1305  
 Gln Arg Ser Lys Arg Ala Leu Lys Gln Phe Arg Leu Pro Leu Glu  
 1310 1315 1320  
 Glu Thr Glu Leu Glu Lys Arg Ile Ile Val Asp Asp Thr Ser Thr  
 1325 1330 1335  
 Gln Trp Ser Lys Asn Met Lys His Leu Thr Pro Ser Thr Leu Thr  
 1340 1345 1350  
 Gln Ile Asp Tyr Asn Glu Lys Glu Lys Gly Ala Ile Thr Gln Ser  
 1355 1360 1365  
 Pro Leu Ser Asp Cys Leu Thr Arg Ser His Ser Ile Pro Gln Ala  
 1370 1375 1380  
 Asn Arg Ser Pro Leu Pro Ile Ala Lys Val Ser Ser Phe Pro Ser  
 1385 1390 1395  
 Ile Arg Pro Ile Tyr Leu Thr Arg Val Leu Phe Gln Asp Asn Ser  
 1400 1405 1410  
 Ser His Leu Pro Ala Ala Ser Tyr Arg Lys Lys Asp Ser Gly Val  
 1415 1420 1425

ES 2 600 081 T3

Gln Glu Ser Ser His Phe Leu Gln Gly Ala Lys Lys Asn Asn Leu  
 1430 1435 1440

Ser Leu Ala Ile Leu Thr Leu Glu Met Thr Gly Asp Gln Arg Glu  
 1445 1450 1455

Val Gly Ser Leu Gly Thr Ser Ala Thr Asn Ser Val Thr Tyr Lys  
 1460 1465 1470

Lys Val Glu Asn Thr Val Leu Pro Lys Pro Asp Leu Pro Lys Thr  
 1475 1480 1485

Ser Gly Lys Val Glu Leu Leu Pro Lys Val His Ile Tyr Gln Lys  
 1490 1495 1500

Asp Leu Phe Pro Thr Glu Thr Ser Asn Gly Ser Pro Gly His Leu  
 1505 1510 1515

Asp Leu Val Glu Gly Ser Leu Leu Gln Gly Thr Glu Gly Ala Ile  
 1520 1525 1530

Lys Trp Asn Glu Ala Asn Arg Pro Gly Lys Val Pro Phe Leu Arg  
 1535 1540 1545

Val Ala Thr Glu Ser Ser Ala Lys Thr Pro Ser Lys Leu Leu Asp  
 1550 1555 1560

Pro Leu Ala Trp Asp Asn His Tyr Gly Thr Gln Ile Pro Lys Glu  
 1565 1570 1575

Glu Trp Lys Ser Gln Glu Lys Ser Pro Glu Lys Thr Ala Phe Lys  
 1580 1585 1590

Lys Lys Asp Thr Ile Leu Ser Leu Asn Ala Cys Glu Ser Asn His  
 1595 1600 1605

Ala Ile Ala Ala Ile Asn Glu Gly Gln Asn Lys Pro Glu Ile Glu  
 1610 1615 1620

Val Thr Trp Ala Lys Gln Gly Arg Thr Glu Arg Leu Cys Ser Gln  
 1625 1630 1635

Asn Pro Pro Val Leu Lys Arg His Gln Arg Glu Ile Thr Arg Thr  
 1640 1645 1650

Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile

ES 2 600 081 T3

1655		1660		1665
Ser Val 1670	Glu Met Lys Lys	Glu 1675	Asp Phe Asp Ile	Tyr Asp Glu Asp 1680
Glu Asn 1685	Gln Ser Pro Arg	Ser 1690	Phe Gln Lys Lys	Thr Arg His Tyr 1695
Phe Ile 1700	Ala Ala Val Glu	Arg 1705	Leu Trp Asp Tyr	Gly Met Ser Ser 1710
Ser Pro 1715	His Val Leu Arg	Asn 1720	Arg Ala Gln Ser	Gly Ser Val Pro 1725
Gln Phe 1730	Lys Lys Val Val	Phe 1735	Gln Glu Phe Thr	Asp Gly Ser Phe 1740
Thr Gln 1745	Pro Leu Tyr Arg	Gly 1750	Glu Leu Asn Glu	His Leu Gly Leu 1755
Leu Gly 1760	Pro Tyr Ile Arg	Ala 1765	Glu Val Glu Asp	Asn Ile Met Val 1770
Thr Phe 1775	Arg Asn Gln Ala	Ser 1780	Arg Pro Tyr Ser	Phe Tyr Ser Ser 1785
Leu Ile 1790	Ser Tyr Glu Glu	Asp 1795	Gln Arg Gln Gly	Ala Glu Pro Arg 1800
Lys Asn 1805	Phe Val Lys Pro	Asn 1810	Glu Thr Lys Thr	Tyr Phe Trp Lys 1815
Val Gln 1820	His His Met Ala	Pro 1825	Thr Lys Asp Glu	Phe Asp Cys Lys 1830
Ala Trp 1835	Ala Tyr Phe Ser	Asp 1840	Val Asp Leu Glu	Lys Asp Val His 1845
Ser Gly 1850	Leu Ile Gly Pro	Leu 1855	Leu Val Cys His	Thr Asn Thr Leu 1860
Asn Pro 1865	Ala His Gly Arg	Gln 1870	Val Thr Val Gln	Glu Phe Ala Leu 1875
Phe Phe 1880	Thr Ile Phe Asp	Glu 1885	Thr Lys Ser Trp	Tyr Phe Thr Glu 1890

ES 2 600 081 T3

Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu  
 1895 1900 1905  
 Asp Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly  
 1910 1915 1920  
 Tyr Ile Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln  
 1925 1930 1935  
 Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile  
 1940 1945 1950  
 His Ser Ile His Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys  
 1955 1960 1965  
 Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe  
 1970 1975 1980  
 Glu Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val  
 1985 1990 1995  
 Glu Cys Leu Ile Gly Glu His Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu  
 2000 2005 2010  
 Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala  
 2015 2020 2025  
 Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly Gln Tyr  
 2030 2035 2040  
 Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly Ser  
 2045 2050 2055  
 Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val  
 2060 2065 2070  
 Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly  
 2075 2080 2085  
 Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile  
 2090 2095 2100  
 Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn  
 2105 2110 2115  
 Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser  
 2120 2125 2130

ES 2 600 081 T3

Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr  
 2135 2140 2145

Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg  
 2150 2155 2160

Met Glu Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu  
 2165 2170 2175

Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser  
 2180 2185 2190

Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala  
 2195 2200 2205

Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Val  
 2210 2215 2220

Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met  
 2225 2230 2235

Lys Val Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr  
 2240 2245 2250

Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly  
 2255 2260 2265

His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe  
 2270 2275 2280

Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu Asp  
 2285 2290 2295

Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp  
 2300 2305 2310

Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala  
 2315 2320 2325

Gln Asp Leu Tyr  
 2330

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Factor VIII para uso en el tratamiento o prevención de un trastorno hemorrágico, comprendiendo dicho tratamiento o prevención la inyección no intravenosa de dicho Factor VIII junto con un glucosaminoglicano sulfatado, en el que el Factor VIII se administra subcutáneamente a una dosis de 50 UI/kg de peso corporal a alrededor de 1,000 UI/kg de peso corporal, y en el que la cantidad del glucosaminoglicano sulfatado está entre 0.001 y 100 mg por mL de producto aplicado.
2. Factor VIII para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el glucosaminoglicano sulfatado es heparina.
- 10 3. Factor VIII para uso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el Factor VIII está en asociación con el Factor de von Willebrand.
4. Factor VIII para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el sujeto tratado es un individuo humano, y la dosis de una administración es menor que 500 UI/kg de peso corporal.

Figura 1

