

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 643 571**

51 Int. Cl.:

C12N 15/09	(2006.01)	C07K 14/71	(2006.01)	A61K 39/395	(2006.01)
A61K 31/4184	(2006.01)	C07K 16/18	(2006.01)		
A61K 31/4439	(2006.01)	C07K 16/30	(2006.01)		
A61K 31/454	(2006.01)	C07K 19/00	(2006.01)		
A61K 31/496	(2006.01)	C12N 1/15	(2006.01)		
A61K 31/5377	(2006.01)	C12N 1/19	(2006.01)		
A61K 31/713	(2006.01)	C12N 1/21	(2006.01)		
A61K 47/42	(2007.01)	C12N 5/10	(2006.01)		
A61P 35/00	(2006.01)	C12Q 1/68	(2006.01)		
C07K 14/46	(2006.01)	G01N 33/574	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.09.2013 PCT/JP2013/076200**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.04.2014 WO14051022**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.09.2013 E 13842962 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.09.2017 EP 2902489**

54 Título: **Gen de fusión FGFR3 y fármaco que se dirige al mismo**

30 Prioridad:

27.09.2012 JP 2012214739
18.07.2013 JP 2013149217

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

23.11.2017

73 Titular/es:

CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA (100.0%)
5-1, Ukima 5-chome
Kita-ku, Tokyo 115-8543, JP

72 Inventor/es:

NAKANISHI, YOSHITO;
AKIYAMA, NUKINORI y
NISHITO, YUKARI

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 643 571 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

Gen de fusión FGFR3 y fármaco que se dirige al mismo

Campo técnico

5 La descripción se relaciona con polipéptidos de fusión nuevos expresados en células anómalas tal como células cancerosas; polinucleótidos que codifican los polipéptidos; vectores que comprenden los polinucleótidos; células que comprenden los vectores; anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen específicamente a los polipéptidos; cebadores oligonucleótidos que se hibridan a los polinucleótidos; oligonucleótidos que escinden los polinucleótidos; composiciones farmacéuticas que comprenden los anticuerpos u oligonucleótidos; métodos y kits para detectar los polinucleótidos o polipéptidos de fusión; métodos para evaluar la susceptibilidad al cáncer, si un sujeto se ve afectado por un cáncer o si el cáncer ha evolucionado en función de la presencia o ausencia de polinucleótidos o polipéptidos de fusión; métodos para seleccionar pacientes con cáncer a los que puede aplicarse un inhibidor de FGFR; composiciones farmacéuticas para el tratamiento de cáncer en donde se utilizan los compuestos que tienen una actividad inhibitoria de FGFR o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para la administración a pacientes que expresan los polipéptidos de fusión o que tienen los polinucleótidos; métodos para tratar o evitar el cáncer que comprenden la etapa de administrar una cantidad eficaz de compuestos que tienen actividad inhibitoria de FGFR o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos a pacientes que expresan los polipéptidos de fusión o que tienen los polinucleótidos; uso de los compuestos que tienen una actividad inhibitoria de FGFR o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos en la producción de composiciones farmacéuticas para el tratamiento del cáncer para la administración a pacientes que expresen polipéptidos de fusión o que tienen los polinucleótidos; compuestos que tienen actividad inhibitoria de FGFR o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para el uso en el tratamiento o prevención de pacientes que expresan los polipéptidos de fusión o que tienen los polinucleótidos; así como también los métodos para identificar los inhibidores de FGFR y similares.

Técnica previa

25 El cáncer puede desarrollarse en cualquier órgano o tejido, y es altamente refractario y fatal. No es necesario observar que el cáncer es una enfermedad muy problemática. Los datos estadísticos recientes muestran que una de cada dos personas es diagnosticada con cáncer durante su vida, y uno de cada cuatro hombres y una de cada seis mujeres fallecen debido al cáncer. Por lo tanto, el cáncer continúa siendo una enfermedad extremadamente grave.

30 Hasta la fecha, se ha desarrollado y prescrito una cantidad de agentes anticancerígenos a muchos pacientes con cáncer y se han logrado determinados resultados terapéuticos. Sin embargo, se conoce ampliamente que los agentes anticancerígenos causan también serios efectos secundarios. Mientras tanto, se conoce hace mucho tiempo que existen diferencias individuales en la respuesta a agentes anticancerígenos es decir efectos terapéuticos y efectos secundarios, aunque la causa todavía no se ha descubierto.

35 Los avances recientes en la ciencia y la tecnología, en particular, la evolución rápida de la farmacogenómica (PGx), ha permitido entender varias enfermedades que incluyen cáncer (tal como cáncer, diabetes e hipertensión) en un nivel molecular. Se descubrió que, entre los pacientes que muestran síntomas similares, existen casos donde se ve implicado el polimorfismo genético (que incluye mutación genética) en diversas diferencias individuales observadas, por ejemplo, diferencias en la absorción, distribución, metabolismo y excreción de agentes farmacéuticos administrados, así como también las diferencias en la respuesta en sitios de acción, diferencias en las afecciones patológicas y diferencias en la susceptibilidad de la enfermedad.

40 Esto sugiere que para los pacientes que ya fueron afectados con cáncer, los efectos terapéuticos pueden ser potenciados y los efectos secundarios pueden verse reducidos, por ejemplo, mediante el análisis de la información genómica del paciente de antemano antes de la administración de agentes anticancerígenos, y la selección de un agente a ser administrado y la determinación del modo de prescripción en función de la presencia o ausencia de polimorfismos genéticos específicos.

45 Asimismo, también para personas saludables, la información genómica de un individuo puede analizarse mediante el uso de farmacogenómicas para predecir la susceptibilidad de una persona a una enfermedad (posibilidad de verse afectado por una enfermedad), así como también la capacidad de respuesta a agentes farmacéuticos, en función de la presencia o ausencia de polimorfismos genéticos específicos.

50 Este tipo nuevo del método terapéutico, que utiliza polimorfismos genéticos específicos identificados de esta forma o polipéptidos mutantes que son el resultado de dichos polimorfismos como un biomarcador, se designa como una medicina a la orden, medicina realizada a medida, medicina personalizada o medicina realizada por encargo y se adaptó para el desarrollo clínico de productos farmacéuticos y la práctica clínica en varios países.

55 De forma similar, los agentes que se dirigen a polimorfismos genéticos específicos identificados como se describe anteriormente o polipéptidos mutantes, que son el resultado de dichos polimorfismos, se designan como fármacos dirigidos de forma molecular, y su desarrollo se promueve activamente.

Los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR, por sus siglas en inglés) son cinasas que

pertencen a la familia del receptor de tirosina cinasa. El FGFR1, FGFR2, FGFR3 y FGFR4 constituyen la familia FGFR. El ligando del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF, por sus siglas en inglés) y 22 tipos de proteínas estructuralmente similares conforman la familia.

5 Las señales transmitidas mediante FGFR se trasladan hacia la vía de MPK o la vía PI3K/AKT. Se informó que en el cáncer, la señal de transducción se ve implicada en el crecimiento celular, angiogénesis, migración celular, invasión, metástasis, etc., y el FGFR se ve activado como resultado de la sobreexpresión, la hiperamplificación, mutación o translocación génica (Documento no relacionado con patentes 1). Por ejemplo, se conoce que para el FGFR3, la translocación génica se observa en el mieloma múltiple (Documento no relacionado con patentes 2); se observa una mutación génica en el cáncer de vejiga (Documento no relacionado con patentes 3); y se observa sobreexpresión en el cáncer de ovario, carcinoma pulmonar no microcítico y carcinoma hepatocelular.

Los hallazgos descritos anteriormente sugieren una conexión entre FGFR y el cáncer. Por lo tanto, se han realizado intentos para desarrollar compuestos con actividad inhibitoria de FGFR como agentes anticancerígenos (Documentos no relacionados con patentes 4 y 5).

15 Aunque se informó muy recientemente que la translocación genética, que sugiere la presencia de un polipéptido de fusión del FGFR3 y la proteína de hélice superenrollada ácida transformante 3 (TACC3, por sus siglas en inglés) o un polipéptido de fusión del FGFR1 y la TACC1, se encontró en muy pocos casos de tumor cerebral glioblastoma multiforme (GBM, por sus siglas en inglés) (tres de 97 muestras, 3,1 %) (Documento no relacionado con patentes 6), la conexión entre los polipéptidos de fusión del FGFR con otras proteínas y otros tipos de cáncer continúa siendo poco clara.

20 Documentos de la técnica anterior

[Documentos no relacionados con patentes]

[Documento no relacionado con patentes 1] Cytokine & Growth Factor Reviews, 2005, 16: 139-149

[Documento no relacionado con patentes 2] Blood, 2003, 101: 4569-4575

[Documento no relacionado con patentes 3] Nature Genetics, 1999 Sep., 23(1): 18-20

25 [Documento no relacionado con patentes 4] Cancer Research, 2012, 72: 2045-2056

[Documento no relacionado con patentes 5] J. Med. Chem., 2011, 54: 7066-7083

[Documento no relacionado con patentes 6] Science, Vol. 337, N.º 6099, 7 de septiembre 2012: 1231-1235

Compendio de la invención

[Problemas a resolver por la invención]

30 En virtud de las circunstancias anteriores, la presente invención apunta a identificar y proporcionar moléculas específicas de la célula cancerosa que pueden usarse como un biomarcador para permitir la medicina personalizada para la terapia de cáncer en función del inhibidor del FGFR, y las moléculas específicas de la célula cancerosa que son útiles en el desarrollo de fármacos direccionados molecularmente que se dirigen al FGFR, así como también proporcionar varios materiales y métodos a utilizar en la medicina personalizada y el desarrollo de fármacos direccionados molecularmente que utilizan dichas moléculas como un biomarcador u objetivo molecular.

35

[Medios para resolver los problemas]

Tal como se menciona anteriormente, se sugirió una conexión entre el FGFR y el cáncer; sin embargo, las conexiones entre las proteínas de fusión del FGFR con otras proteínas y diversos tipos de cáncer permanecen ocultos.

40 Para lograr los objetivos descritos anteriormente, los inventores de la presente llevaron a cabo estudios dedicados sobre la expresión, la hiperamplificación, la mutación, la translocación y dichos genes que codifican el FGFR en diversas células cancerígenas. Como resultado, los inventores de la presente descubrieron en múltiples células de cáncer de vejiga y células de cáncer de pulmón, genes de polipéptidos de fusión nuevos entre un gen de polipéptidos FGFR3 y otros genes de polipéptidos, en particular, genes de polipéptido de fusión entre un gen de polipéptido FGFR3 y un gen de polipéptido BAIAP2L1, y genes de polipéptidos de fusión entre un gen de polipéptido FGFR3 y un gen de polipéptido TACC3.

45

Por lo tanto, la presente invención hace referencia a:

[1] un compuesto que tiene una actividad inhibitoria de FGFR o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para utilizar en un método para tratar o prevenir el cáncer en un paciente que se identificó que expresa un polipéptido de fusión que comprende un polipéptido FGFR3 y un polipéptido BAIAP2L1 o que transporta un

50

polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión,

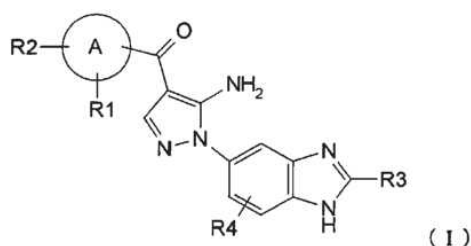
en donde el polipéptido FGFR3 es la totalidad o una parte de un polipéptido de tipo salvaje que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o 7,

5 en donde el polipéptido BAIAP2L1 es la totalidad o una parte de un polipéptido de tipo salvaje que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y

10 en donde el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es capaz de inhibir el crecimiento de una célula de cáncer que expresa el polipéptido de fusión o que tiene un nucleótido que codifica el polipéptido de fusión, en particular, en donde el cáncer es cáncer de vejiga, tumor cerebral, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de pulmón, adenocarcinoma pulmonar, carcinoma de células escamosas pulmonares, melanoma de piel, cáncer de esófago, cáncer gástrico o cáncer de hígado, preferiblemente cáncer de vejiga.

En otra realización preferida, dicho compuesto o su sal farmacéuticamente aceptable se representa mediante:

[Compuesto 1]



en donde R₁, R₂, R₃ y R₄ representan, cada uno, independientemente el grupo enumerado a continuación:

15 R₁ representa hidrógeno, hidroxilo, halógeno, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₆, alquenoilo C₂₋₆, alquinoilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, -OR₅, -NR₆R₇, -(CR₈R₉)_nZ₁, -C(O)NR₁₂R₁₃, -SR₁₄, -SOR₁₅, -SO₂R₁₆, -NR₁₇SO₂R₁₈, COOH, arilo C₆₋₁₀ que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra sustituido opcionalmente por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q, -COR₁₉, -COOR₂₀ -OC(O)R₂₁, -NR₂₂C(O)R₂₃, -NR₂₄C(S)R₂₅, -C(S)NR₂₆R₂₇, -SO₂NR₂₈R₂₉, -OSO₂R₃₀, -SO₃R₃₁, o -Si(R₃₂)₃;

20 R₂ representa hidrógeno, hidroxilo, halógeno, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₆, alquenoilo C₂₋₆, alquinoilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, OR₅, -NR₆R₇, -(CR₈R₉)_nZ₁, -C(O)NR₁₂R₁₃, -SR₁₄, -SOR₁₅, -SO₂R₁₆, -NR₁₇SO₂R₁₈, COOH, arilo C₆₋₁₀ que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra sustituido opcionalmente por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q, -COR₁₉, -COOR₂₀ -OC(O)R₂₁, -NR₂₂C(O)R₂₃, -NR₂₄C(S)R₂₅, -C(S)NR₂₆R₂₇, -SO₂NR₂₈R₂₉, -OSO₂R₃₀, -SO₃R₃₁, o -Si(R₃₂)₃; o

25 R₁ y R₂, junto con un átomo unido a los mismos, forman heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros, en donde el heterociclilo o heteroarilo es opcionalmente sustituido por halógeno;

R₃ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₅, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₆ o haloalquilo C₁₋₄;

30 R₄ representa hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₃, haloalquilo C₁₋₄, hidroxilo, ciano, nitro, alcoxi C₁₋₄, -(CH₂)_nZ₁, -NR₆R₇, -OR₅, -C(O)NR₁₂R₁₃, -SR₁₄, -SOR₁₅, -SO₂R₁₆, NR₁₇SO₂R₁₈, COOH, -COR₁₉, -COOR₂₀, -OC(O)R₂₁, -NR₂₂C(O)R₂₃, -NR₂₄C(S)R₂₅, -C(S)NR₂₆R₂₇, -SO₂NR₂₈R₂₉, -OSO₂R₃₀, -SO₃R₃₁ o -Si(R₃₂)₃;

A representa un anillo heteroarilo de 5 a 10 miembros o un anillo arilo C₆₋₁₀;

35 R₅ representa alquilo C₁₋₅, cicloalquilo C₃₋₇, cicloalquilo C₃₋₇ alquilo C₁₋₃, alquenoilo C₂₋₆, alquinoilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alcoxi C₁₋₄ alquilo C₁₋₄, aminoalquilo C₁₋₄, alquilamino C₁₋₄ alquilo C₁₋₄, di(alquilo C₁₋₄)amino alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₃ o heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heterociclilo de 3 a 10 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, monohidroxilo alquilo C₁₋₆, dihidroxilo alquilo C₁₋₆ o trihidroxilo alquilo C₁₋₆ que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

40 R₆ y R₇, que pueden ser iguales o diferentes, cada uno representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alquenoilo C₂₋₆, alquinoilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₃, heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, monohidroxilo alquilo C₁₋₆, dihidroxilo alquilo C₁₋₆, trihidroxilo alquilo C₁₋₆, heterociclilo de 3 a 10 miembros, aminoalquilo C₁₋₄, alquilamino C₁₋₄ alquilo C₁₋₄, di(alquilo C₁₋₄)amino alquilo C₁₋₄, o

ciano(alquilo C₁₋₃); o alternativamente R₆ y R₇, junto con un átomo de nitrógeno unido a los mismos, forman heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros;

n representa 1 a 3;

5 R₈ y R₉, que pueden ser iguales o diferentes, cada uno representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o halógeno; o alternativamente R₈ y R₉, junto con un átomo de carbono unido a los mismos, forman un anillo cicloalifático;

Z₁ representa hidrógeno, NR₁₀R₁₁, -OH, o heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

10 R₁₀ y R₁₁, que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, ciano(alquilo C₁₋₃), o alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄; o R₁₀ y R₁₁ alternativamente, junto con un átomo de nitrógeno unido a los mismos, forman un heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros;

15 R₁₂ y R₁₃, que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, ciano(alquilo C₁₋₃), alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, anillo cicloalifático de 3 a 10 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros; o alternativamente R₁₂ y R₁₃, junto con un átomo de nitrógeno unido a los mismos, forman un heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

20 R₁₄ representa alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

25 R₁₅ representa alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

30 R₁₆ representa alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

R₁₇ representa hidrógeno o alquilo C₁₋₄;

35 R₁₈ representa alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

R₁₉ represente hidrógeno, alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

40 R₂₀ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

R₂₁ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

R₂₂ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o haloalquilo C₁₋₄;

45 R₂₃ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

R₂₄ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o haloalquilo C₁₋₄;

R₂₅ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

50 R₂₆ y R₂₇, que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo de 5 a 10 miembros

alquilo C₁₋₃, ciano(alquilo C₁₋₃), alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, o un anillo cicloalifático de 3 a 10 miembros; o alternativamente R₂₆ y R₂₇, junto con un átomo de nitrógeno unido a los mismos, forman un heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros.

5 R₂₈ y R₂₉, que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, ciano(alquilo C₁₋₃), alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, o un anillo cicloalifático de 3 a 10 miembros; o alternativamente R₂₈ y R₂₉, junto con un átomo de nitrógeno unido a los mismos, forman un heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros.

10 R₃₀ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

R₃₁ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

R₃₂ representa alquilo C₁₋₄ o arilo C₆₋₁₀;

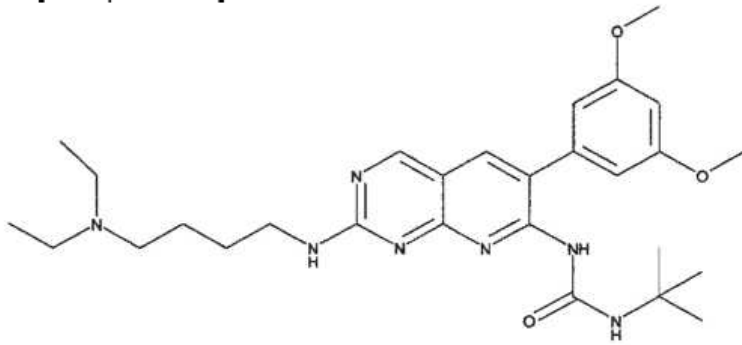
15 <grupo P>

halógeno, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, -OH, alcoxi C₁₋₃, haloalcoxi C₁₋₃, heterociclamino de 3 a 10 miembros, -SO₂R₁₆, -CN, -NO₂ y heterociclilo de 3 a 10 miembros;

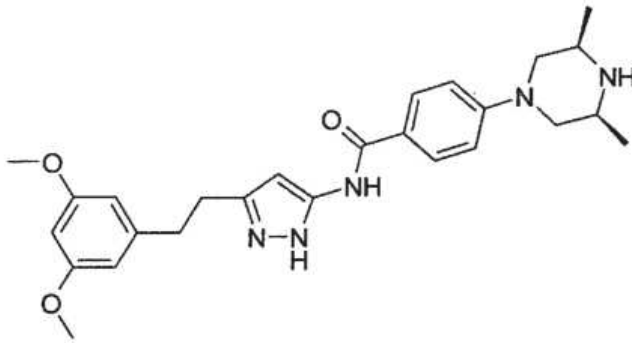
<grupo Q>

20 halógeno, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, -OH, alcoxi C₁₋₃, monohidroxi alquilo C₁₋₆, dihidroxi alquilo C₁₋₆, trihidroxialquilo C₁₋₆, heterocicil amina de 3 a 10 miembros, -SO₂R₁₆, -CN, -NO₂, cicloalquilo C₃₋₇, -COR₁₉ y heterociclilo de 3 a 10 miembros que es opcionalmente sustituido por alquilo C₁₋₄;

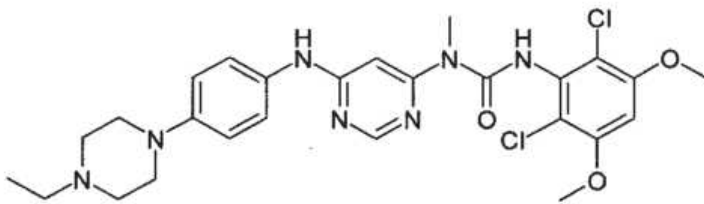
[Compuesto 2]



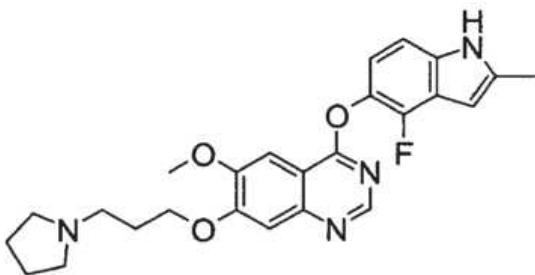
[Compuesto 3]



[Compuesto 4]

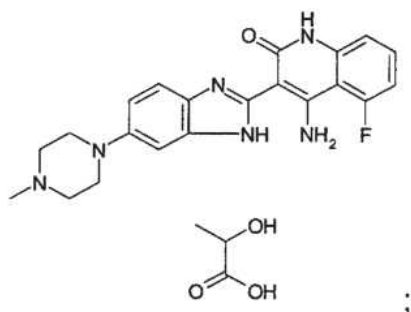


[Compuesto 5]



o

[Compuesto 6]



[2] Otra realización de la presente invención se relaciona con:

5 un método para seleccionar un paciente, en particular un paciente que tiene cáncer de vejiga, tumor cerebral, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de pulmón, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de células escamosas de pulmón, melanoma de piel, cáncer de esófago, cáncer gástrico o cáncer de hígado, al que puede aplicársele un agente anticancerígeno que comprende un compuesto que tiene una actividad inhibitoria de FGFR o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende las etapas de:

10 (a) determinar la presencia o ausencia de un polipéptido de fusión que comprende un polipéptido FGFR3 y un polipéptido BAIAP2L1 o un polinucleótido que codifica un polipéptido de fusión que comprende un polipéptido FGFR3 y un polipéptido BAIAP2L1 en una muestra aislada de un sujeto;

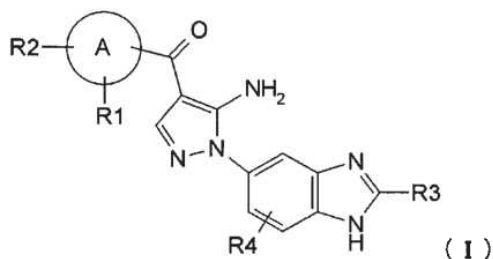
en donde el polipéptido FGFR3 es la totalidad o una parte de un polipéptido de tipo salvaje que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o 7; y

15 en donde el polipéptido BAIAP2L1 es la totalidad o una parte de un polipéptido de tipo salvaje que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; y

(b) seleccionar un paciente que se confirma que tiene el polipéptido de fusión o el polinucleótido como un paciente al que se le puede aplicar el agente anticancerígeno,

20 en donde el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es capaz de inhibir el crecimiento de un cáncer que expresa el polipéptido de fusión o que tiene un nucleótido que codifica el polipéptido de fusión, en particular donde dicho compuesto o su sal farmacéuticamente aceptable se representa mediante:

[Compuesto 1]



en donde R₁, R₂, R₃ y R₄ representan, cada uno, independientemente el grupo enumerado a continuación:

25 R₁ representa hidrógeno, hidroxilo, halógeno, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀, alquilo C₁₋₄, OR₅, -NR₆R₇, -(CR₈R₉)_nZ₁, -C(O)NR₁₂R₁₃, -SR₁₄, -SOR₁₅, -SO₂R₁₆, -NR₁₇-SO₂R₁₈, COOH, arilo C₆₋₁₀ que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra sustituido opcionalmente por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q, -COR₁₉, -COOR₂₀ -

OC(O)R₂₁, -NR₂₂C(O)R₂₃, -NR₂₄C(S)R₂₅, -C(S)NR₂₆R₂₇, -SO₂NR₂₈R₂₉, -OSO₂R₃₀, -SO₃R₃₁, o -Si(R₃₂)₃;

5 R₂ representa hidrógeno, hidroxilo, halógeno, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, OR₅, -NR₆R₇, -(CR₈R₉)_nZ₁, -C(O)NR₁₂R₁₃, -SR₁₄, -SOR₁₅, -SO₂R₁₆, -NR₁₇SO₂R₁₈, COOH, arilo C₆₋₁₀ que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra sustituido opcionalmente por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q, -COR₁₉, -COOR₂₀ -OC(O)R₂₁, -NR₂₂C(O)R₂₃, -NR₂₄C(S)R₂₅, -C(S)NR₂₆R₂₇, -SO₂NR₂₈R₂₉, -OSO₂R₃₀, -SO₃R₃₁, o -Si(R₃₂)₃; o

R₁ y R₂, junto con un átomo unido a los mismos, forman heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros, en donde el heterociclilo o heteroarilo es opcionalmente sustituido por halógeno;

10 R₃ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₅, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₆ o haloalquilo C₁₋₄;

R₄ representa hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₃, haloalquilo C₁₋₄, hidroxilo, ciano, nitro, alcoxi C₁₋₄, -(CH₂)_nZ₁, -NR₆R₇, -OR₅, -C(O)NR₁₂R₁₃, -SR₁₄, -SOR₁₅, -SO₂R₁₆, NR₁₇SO₂R₁₈, COOH, -COR₁₉, -COOR₂₀, -OC(O)R₂₁, -NR₂₂C(O)R₂₃, -NR₂₄C(S)R₂₅, -C(S)NR₂₆R₂₇, -SO₂NR₂₈R₂₉,

-OSO₂R₃₀, -SO₃R₃₁, o -Si(R₃₂)₃;

15 A representa un anillo heteroarilo de 5 a 10 miembros o un anillo arilo C₆₋₁₀;

20 R₅ representa alquilo C₁₋₅, cicloalquilo C₃₋₇, cicloalquilo C₃₋₇ alquilo C₁₋₃, alqueno C₂₋₆, C₂₋₆ alquino, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alcoxi C₁₋₄ alquilo C₁₋₄, aminoalquilo C₁₋₄, alquilamino C₁₋₄, alquilo C₁₋₄, di(alquilo C₁₋₄)amino alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₃ o heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heterociclilo de 3 a 10 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, monohidroxilo alquilo C₁₋₆, dihidroxilo alquilo C₁₋₆ o trihidroxilo alquilo C₁₋₄ que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

25 R₆ y R₇, que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₃, heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, monohidroxilo alquilo C₁₋₆, dihidroxilo alquilo C₁₋₆, trihidroxilo alquilo C₁₋₆, heterociclilo de 3 a 10 miembros, aminoalquilo C₁₋₄, alquilamino C₁₋₄ alquilo C₁₋₄, di(alquilo C₁₋₄)amino alquilo C₁₋₄, o ciano(alquilo C₁₋₃); o alternativamente R₆ y R₇, junto con un átomo de nitrógeno unido a los mismos, forman heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros;

n representa 1 a 3;

30 R₈ y R₉, que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o halógeno; o alternativamente R₈ y R₉, junto con un átomo de carbono unido a los mismos, forman un anillo cicloalifático;

Z₁ representa hidrógeno, NR₁₀R₁₁, -OH, o heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

35 R₁₀ y R₁₁, que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, representa alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, ciano(alquilo C₁₋₃), o alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄; o R₁₀ y R₁₁ alternativamente, junto con un átomo de nitrógeno unido a los mismos, forman heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros;

40 R₁₂ y R₁₃, que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, ciano(alquilo C₁₋₃), alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, anillo cicloalifático de 3 a 10 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros; o alternativamente R₁₂ y R₁₃, junto con un átomo de nitrógeno unido a los mismos, forman un heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

45 R₁₄ representa alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

50 R₁₅ representa alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

R₁₆ representa alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10

miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

R₁₇ representa hidrógeno o alquilo C₁₋₄;

5 R₁₈ representa alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

10 R₁₉ represente hidrógeno, alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

R₂₀ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

R₂₁ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

15 R₂₂ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o haloalquilo C₁₋₄;

R₂₃ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

R₂₄ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o haloalquilo C₁₋₄;

20 R₂₅ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

25 R₂₆ y R₂₇, que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, ciano(alquilo C₁₋₃), alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, o un anillo cicloalifático de 3 a 10 miembros; o alternativamente R₂₆ y R₂₇, junto con un átomo de nitrógeno unido a los mismos, de heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros.

30 R₂₈ y R₂₉, que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, ciano(alquilo C₁₋₃), alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, o un anillo cicloalifático de 3 a 10 miembros; o alternativamente R₂₈ y R₂₉, junto con un átomo de nitrógeno unido a los mismos, forman un heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros;

R₃₀ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

35 R₃₁ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

R₃₂ representa alquilo C₁₋₄ o arilo C₆₋₁₀;

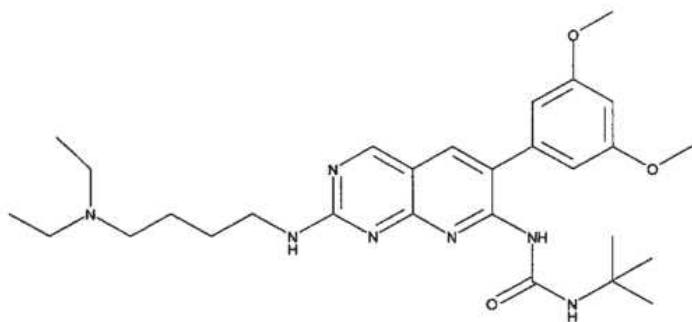
<grupo P>

40 halógeno, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, -OH, alcoxi C₁₋₃, haloalcoxi C₁₋₃, heterocicilamino de 3 a 10 miembros, -SO₂R₁₆, -CN, -NO₂ y heterociclilo de 3 a 10 miembros;

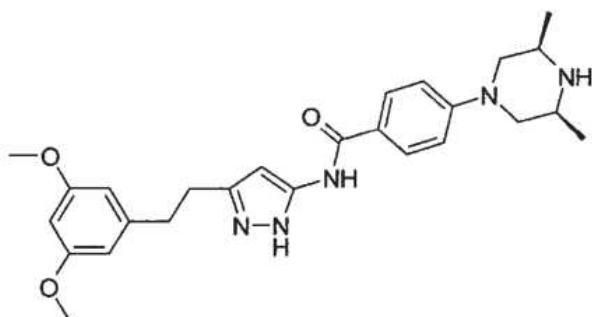
<grupo Q>

halógeno, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, -OH, alcoxi C₁₋₃, monohidroxi alquilo C₁₋₆, dihidroxi alquilo C₁₋₆, trihidroxialquilo C₁₋₆, heterocicil amina de 3 a 10 miembros, -SO₂R₁₆, -CN, -NO₂, cicloalquilo C₃₋₇, -COR₁₉ y heterociclilo de 3 a 10 miembros que es opcionalmente sustituido por alquilo C₁₋₄.

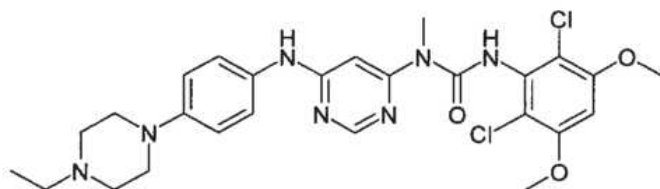
[Compuesto 2]



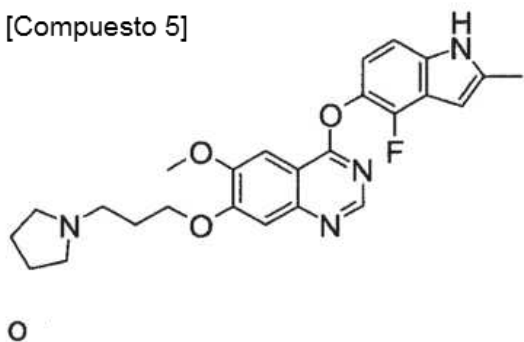
[Compuesto 3]



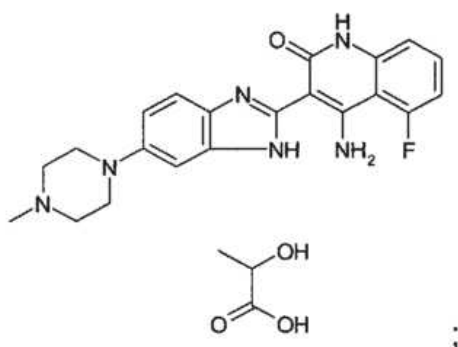
[Compuesto 4]



[Compuesto 5]



[Compuesto 6]



[3] Una realización adicional de la presente invención se relaciona con:

- 5 un método para evaluar la susceptibilidad al cáncer de un sujeto, si un sujeto se ve afectado con cáncer, o si el cáncer evolucionó en un sujeto, en particular en donde el cáncer es cáncer de vejiga, tumor cerebral, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de pulmón, adenocarcinoma pulmonar, carcinoma de células escamosas de pulmón, melanoma de piel, cáncer de esófago, cáncer gástrico o cáncer de hígado, mediante la determinación de la presencia o ausencia de un polipéptido de fusión que comprende un polipéptido FGFR3 y un polipéptido BAIAP2L1 o la determinación de la presencia o ausencia de un polinucleótido que codifica un polipéptido de fusión que comprende un polipéptido FGFR3 y un polipéptido BAIAP2L1 en una muestra aislada del sujeto;
- 10 en donde el polipéptido FGFR3 es la totalidad o una parte de un polipéptido de tipo salvaje que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o 7,
- en donde el polipéptido BAIAP2L1 es la totalidad o una parte de un polipéptido de tipo salvaje que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; y
- 15 en donde el método se basa en el criterio de que un sujeto tiene más probabilidades de desarrollar cáncer, se ve afectado o padece de un cáncer evolucionado cuando se detecta el polipéptido o polinucleótido de fusión que codifica el polipéptido de fusión.

[4] Una realización adicional de la presente invención se relaciona con:

- un polipéptido de fusión que comprende un polipéptido FGFR3 y un polipéptido BAIAP2L1:
- 20 en donde el polipéptido FGFR3 es la totalidad o una parte de un polipéptido de tipo salvaje que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o 7; y
- el polipéptido BAIAP2L1 es la totalidad o una parte de un polipéptido de tipo salvaje que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, en particular, en donde el polipéptido de fusión se derive de cáncer de vejiga o cáncer de pulmón, más particularmente en donde el polipéptido de fusión consiste en la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO: 32 o 38; y
- 25 un polinucleótido que codifica dicho polipéptido de fusión, en particular, en donde el polinucleótido comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 16, más particularmente, en donde el polinucleótido comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 31 o 37, o un vector que comprende dicho polinucleótido, así como también

una célula recombinante que comprende dicho vector.

[5] Finalmente, la presente invención hace referencia a:

Un método para la detección de

5 (a) un polipéptido de fusión que comprende un polipéptido FGFR3 y un polipéptido BAIAP2L1, que comprende la etapa de detección del polipéptido de fusión en una muestra aislada de un sujeto mediante el uso de un fragmento de unión al anticuerpo o antígeno del mismo que se une al polipéptido de fusión de la presente invención, o

10 (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido de fusión que comprende un polipéptido FGFR3 y un polipéptido BAIAP2L1, que comprende la etapa de detección de un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión en una muestra aislada de un sujeto mediante el uso de un par de cebadores oligonucleótido que consiste en cebadores sentido y antisentido que se hibridan, cada uno, en un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión de la presente invención para la detección o amplificación del polinucleótido.

[Efectos de la invención]

15 Los polipéptidos de fusión de la presente invención que comprenden un polipéptido FGFR3 y un polipéptido BAIAP2L1 se expresan específicamente en varios tipos de células cancerosas que incluyen células del cáncer de vejiga. La proliferación de células que expresan dichos polipéptidos de fusión se ve significativamente inhibida por compuestos que tienen una actividad inhibitoria de FGFR. Por lo tanto, el uso de un polipéptido de fusión de la presente invención como un biomarcador para la terapia del cáncer en función del inhibidor de FGFR permite evaluar la aplicabilidad y modo de uso de un inhibidor de FGFR para pacientes individuales, y permite evitar los efectos secundarios y controlar el modo de tratamiento para producir el mejor efecto terapéutico en la terapia en función del inhibidor de FGFR. Esto permite una medicina personalizada.

20 Además, el uso de polipéptidos de fusión de la presente invención como un objetivo en el desarrollo de agentes terapéuticos contra el cáncer que se dirigen a FGFR, es decir, fármacos direccionados molecularmente, hace posible proporcionar inhibidores de FGFR con altos niveles de especificidad y actividad antitumoral contra las células cancerosas objetivo, así como también agentes terapéuticos contra el cáncer que comprenden los inhibidores.

25 Los inhibidores de FGFR obtenidos como se describe anteriormente tienen una especificidad alta hacia las células cancerosas objetivo y es posible proporcionar agentes terapéuticos contra el cáncer con una gran actividad antitumoral y pocos efectos secundarios.

30 Adicionalmente, los polipéptidos de fusión de la presente invención tienen una correlación estrecha con varios tipos de cánceres y, por lo tanto, puede evaluarse la posibilidad de desarrollar cáncer (susceptibilidad al cáncer) de un sujeto, si un sujeto se ve afectado con cáncer o si el cáncer evolucionó en un sujeto mediante la determinación de si las muestras del sujeto, que no se limitan a pacientes con cáncer, sino que también incluyen personas saludables, contienen un polipéptido de fusión de la presente invención o un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión.

35 Además, los polipéptidos de fusión de la presente invención tienen una correlación estrecha con varios tipos de cáncer. Por lo tanto, mediante la identificación de un compuesto de prueba que suprime la proliferación de células (tal como células cancerosas) que expresan los polipéptidos de fusión de la presente invención, se vuelve posible proporcionar inhibidores de FGFR con una especificidad de FGFR alta, y esto puede llevarse a cabo mediante la comparación del nivel de proliferación celular entre cuando se presenta el compuesto de prueba y cuando se encuentra ausente.

Breve descripción de los dibujos

40 La Figura 1 es una fotografía que muestra los resultados en la amplificación de un polinucleótido v1 que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-TACC3, como se evalúa mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) mediante el uso de ADNc derivados de muestras de cáncer de vejiga recolectadas de pacientes con cáncer de vejiga (20 pacientes) y ADNc sintetizado a partir de ARN RT112/84.

45 La Figura 2 es una fotografía que muestra los resultados en la amplificación de un polinucleótido v2 que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-TACC3, como se evalúa mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) mediante el uso de ADNc derivados de muestras de cáncer de vejiga recolectadas de pacientes con cáncer de vejiga (20 pacientes) y ADNc sintetizado a partir de ARN RT4.

50 La Figura 3 es una fotografía que muestra los resultados en la amplificación de un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1, como se evalúa mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) mediante el uso de ADNc derivados de muestras de cáncer de vejiga recolectadas de pacientes con cáncer de vejiga (20 pacientes) y ADNc sintetizado a partir de ARN SW780.

La Figura 4 es una fotografía que muestra los resultados en la amplificación de un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1, como se evalúa mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) mediante el uso de ADNc derivados de muestras de cáncer de pulmón recolectadas de pacientes con cáncer de

pulmón (40 pacientes) y ADNc sintetizado a partir de ARN SW780.

La vista A muestra un resultado de la prueba mediante el uso de un par de cebadores oligonucleótidos (SEQ ID NO: 3 y 4).

5 Los carriles más hacia la izquierda en los geles superior e inferior muestran los resultados para los marcadores de peso molecular.

La vista B muestra un resultado de la prueba mediante el uso de un par de cebadores oligonucleótidos (SEQ ID NO: 17 y 18).

Los carriles más hacia la izquierda en los geles superior e inferior muestran los resultados para los marcadores de peso molecular.

10 La Figura 5 es una fotografía que muestra resultados de la detección de un polinucleótido que codifica un polipéptido FGFR3-BAIAP2L1 en varios tipos de líneas celulares de cáncer de vejiga evaluadas mediante un análisis FISH.

La vista A1 muestra un resultado de una prueba de la línea celular RT112/84 mediante el uso de una sonda de señal dividida.

15 La vista A2 muestra un resultado de una prueba de la línea celular SW780 mediante el uso de una sonda de señal dividida.

La vista B1 muestra un resultado de una prueba de la línea celular RT112/84 mediante el uso de una sonda de señal de fusión.

La vista B2 muestra un resultado de una prueba de la línea celular SW780 mediante el uso de una sonda de señal de fusión.

20 La Figura 6 muestra los resultados de la evaluación de la presencia o ausencia de la dependencia de FGFR3 en la proliferación de diversas líneas celulares de cáncer de vejiga mediante el uso de ARNip contra FGFR3 o BAIAP2L1.

La vista A muestra un resultado de la prueba mediante el uso de la línea celular BFTC-905.

La vista B muestra un resultado de la prueba mediante el uso de la línea celular UM-UC-14.

La vista C muestra un resultado de la prueba mediante el uso de la línea celular RT4.

25 La vista D muestra un resultado de la prueba mediante el uso de la línea celular SW780.

La Figura 7 muestra los resultados de la evaluación de los efectos de los inhibidores de FGFR en la inducción de la apoptosis en diversas células cancerosas que expresan el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1.

La Figura 8 muestra los resultados de examinación de la capacidad del polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 para transformar las células normales mediante la evaluación de las células en un cultivo de monocapa.

30 La figura superior muestra un resultado de las células que expresan FGFR3 de tipo salvaje en un cultivo de monocapa.

La figura inferior muestra un resultado de células que expresan el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 en un cultivo monocapa.

35 La Figura 9 muestra los resultados de la examinación de la capacidad transformante y capacidad tumorigénica del polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 en células normales mediante la evaluación de las células en un cultivo esferoide.

Las fotografías de la fila superior muestran los resultados del cultivo de las células originales no tratadas.

Las fotografías de la fila del medio muestran los resultados del cultivo de las células que expresan FGFR3 de tipo salvaje.

40 Las fotografías de la fila inferior muestran los resultados del cultivo de las células de expresión de polipéptidos de fusión FGFR3-BAIAP2L1.

45 La Figura 10 presenta fotografías que muestran resultados de la examinación de la capacidad del polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 para transformar las células normales y la contribución de BAIAP2L1 a la capacidad de transformación, mediante la realización de pruebas utilizando la capacidad de autofosforilación de FGFR3 como un indicador.

La Figura 11 muestra un resultado de la examinación de la capacidad del polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1

para transformar las células normales y la contribución de BAIAP2L1 a la capacidad de transformación, mediante la realización de pruebas a través del uso de proliferación celular independiente del andamiaje como un indicador.

La Figura 12 muestra los resultados de examinación de la capacidad tumorigénica in vivo del polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 al llevar a cabo evaluaciones utilizando ratones lampiños.

- 5 En el orden desde la izquierda, se muestran los 15 días establecidos luego de la inoculación simultánea en la región inguinal de ratones lampiños, células que expresan FGFR3 de tipo salvaje, células que expresan BAIAP2L1 de tipo salvaje, células que expresan el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 y células que expresan un polipéptido de fusión de FGFR3 y un BAIAP2L1 deficiente de dominio BAR, respectivamente.

- 10 La Figura 13 muestra un resultado de la examinación del efecto de la inhibición del crecimiento tumoral del inhibidor de FGFR en la formación del tumor in vivo mediante un polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 mediante el uso de ratones lampiños para evaluación.

Modo de llevar a cabo la invención

La presente invención es como se ilustra en [1] a [5] descritos anteriormente.

- 15 En la presente invención, "FGFR" hace referencia a cualquier FGFR que pertenece a la familia de FGFR que comprende FGFR1, FGFR2, FGFR3 y FGFR4, que son receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR) que pertenecen a la familia del receptor de tirosina cinasa (Cytokine & Growth Factor Reviews, 2005, 16: 139-149). Los FGFR pueden tener cualquier origen y son preferiblemente FGFR derivados de mamíferos (humanos, ratones, ratas, conejillos de indias, conejos, ovejas, monos, cabras, burros, bovinos, caballos, cerdos, etc.), más preferiblemente, FGFR humanos, y aún más preferiblemente FGFR3 humano que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o 7 (secuencias ADNc, SEQ ID NO: 10 y 11, respectivamente / n.º de acceso GenBank: NM_001163213.1 y NM_000142.4, respectivamente). El locus del gen FGFR3 humano es 4p16.3.

- 20 En la presente invención "FGFR3 humano" hace referencia a un polipéptido FGFR3 humano de tipo salvaje que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o 7. Se describe también un polipéptido mutante con una sustitución, eliminación o inserción de uno o más aminoácidos (preferiblemente uno a diez aminoácidos, y más preferiblemente, uno a cinco aminoácidos) en el polipéptido de tipo salvaje.

El polipéptido mutante también incluye polipéptidos que tienen una homología de 70 % o más, preferiblemente una homología de 80 % o más, más preferiblemente, una homología de 90 % o más y, aun más preferiblemente, una homología de 95 % o más con respecto a la secuencia de aminoácidos del polipéptido de tipo salvaje.

- 30 En la presente invención, "BAIAP2L1" hace referencia a una proteína 1 similar a la proteína 2 asociada al inhibidor 1 de angiogénesis específica del cerebro (BAIAP2L1; también designada como "sustrato del receptor de tirosina cinasa de insulina" (IRTKS, por sus siglas en inglés)) (Journal of Cell Science, 2007, 120: 1663-1672). BAIAP2L1 puede ser de cualquier origen y es preferiblemente un BAIAP2L1 de mamífero, más preferiblemente un BAIAP2L1 humano, y, aun más preferiblemente, un BAIAP2L1 humano que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 (secuencia de ADNc, SEQ ID NO: 12 / n.º de acceso GenBank NM_018842.4). El locus del gen BAIAP2L1 humano es 7q22.1 y se ubica en un cromosoma diferente del que contiene el gen FGFR3.

En la presente invención "BAIAP2L1 humano" hace referencia a un polipéptido BAIAP2L1 humano de tipo salvaje que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8. Se describe también un polipéptido mutante con una sustitución, eliminación o inserción de uno o más aminoácidos (preferiblemente uno a diez aminoácidos, y más preferiblemente, uno a cinco aminoácidos) en el polipéptido de tipo salvaje.

- 40 El polipéptido mutante también incluye polipéptidos que tienen una homología de 70 % o más, preferiblemente una homología de 80 % o más, más preferiblemente, una homología de 90 % o más y, aun más preferiblemente, una homología de 95 % o más con respecto a la secuencia de aminoácidos del polipéptido de tipo salvaje.

- 45 Se describe también "TACC3" que se refiere a la proteína de hélice superenrollada ácida transformante 3 (TACC3) (Genomics. 1.º de junio 1999; 58(2): 165-70). TACC3 es preferiblemente una TACC3 de mamífero, más preferiblemente una TACC3 humana, y, aun más preferiblemente, una TACC3 humana que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 (secuencia de ADNc, SEQ ID NO: 13 / n.º de acceso GenBank NM_006342.2). El locus del gen TACC3 humano es 4p16.3 y se ubica corriente arriba del gen FGFR3 en el mismo cromosoma.

- 50 En general, "TACC3 humana" hace referencia a un polipéptido TACC3 humano de tipo salvaje que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o un polipéptido mutante con una sustitución, eliminación o inserción de uno o más aminoácidos (preferiblemente uno a diez aminoácidos, y más preferiblemente, uno a cinco aminoácidos) en el polipéptido de tipo salvaje.

El polipéptido mutante también incluye polipéptidos que tiene una homología 70 % o más, preferiblemente una homología de 80 % o más, más preferiblemente, una homología de 90 % o más y, aun más preferiblemente, una homología de 95 % o más con respecto a la secuencia de aminoácidos del polipéptido de tipo salvaje.

La identidad de secuencia de aminoácidos (o secuencia de nucleótidos) puede determinarse mediante el uso del algoritmo BLAST por Karlin y Altschul (Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. (1993) 90, 5873-7). Los programas tales como BLASTN y BLASTX se desarrollaron en función de este algoritmo (Altschul et ál., J. Mol. Biol. (1990) 215, 403-10). Para analizar las secuencias de nucleótidos de acuerdo con BLASTN en función de BLAST, los parámetros se establecen en, por ejemplo, puntaje = 100 y longitud de palabra = 12. Por otro lado, los parámetros utilizados para el análisis de las secuencias de aminoácidos mediante BLASTX en función de BLAST, incluyen, por ejemplo, puntaje = 50 y longitud de palabra = 3. Los parámetros por defecto para cada programa se utilizan cuando el uso de los programas BLAST y BLAST Gapped. Las técnicas específicas para dichos análisis son conocidas en la técnica (una puede hacer referencia a la información en el sitio web del Centro Nacional para la Información Biotecnología (NCBI, por sus siglas en inglés), herramienta de búsqueda de alineación local básica (BLAST, por sus siglas en inglés).

En la presente invención, el "polipéptido fusión" hace referencia a un polipéptido en el que la totalidad o parte del polipéptido FGFR3 de tipo salvaje o mutante descrito anteriormente se fusiona a la totalidad o una parte del BAlA2P2L1 de tipo salvaje descrito anteriormente.

Adicionalmente, los polipéptidos de fusión del presente invención incluye polipéptidos de fusión en el que el sitio de fusión formado entre la totalidad o una parte de cada uno de los dos tipos de polipéptidos comprende una secuencia de aminoácidos codificado por una parte de la secuencia de intrones en el ADN genómico (que incluye exones e intrones) que codifican el polipéptido FGFR3 de tipo salvaje o un polipéptido FGFR3 mutante.

Los ejemplos de dichos polipéptidos de fusión incluyen polipéptidos que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 30 y 36. La secuencia de aminoácidos de posiciones 761 a 793 y la secuencia de aminoácidos de posiciones 759 a 791 son codificadas por partes de la secuencia de intrones del gen FGFR3, respectivamente (la secuencia de nucleótidos de posiciones 2281 a 2379 en SEQ ID NO: 29 y la secuencia de nucleótidos de posiciones 2275 a 2373 en SEQ ID NO: 35, respectivamente).

En la presente memoria, "una parte de un polipéptido" hace referencia a un polipéptido que consiste en una secuencia parcial arbitraria a partir de la secuencia de aminoácidos de longitud completa de un polipéptido de tipo salvaje o mutante.

Los ejemplos de realizaciones específicas incluyen un polipéptido de fusión de FGFR3 y BAlAP2L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32 y un polipéptido de fusión de FGFR3 y BAlAP2L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38. También se describe un polipéptido de fusión de FGFR3 y TACC3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28, un polipéptido de fusión de FGFR3 y TACC3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30, un polipéptido de fusión de FGFR3 y TACC3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 34 y un polipéptido de fusión de FGFR3 y TACC3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36.

Tal como se describe anteriormente, los polipéptidos de fusión que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 30 y 36 comprende en su sitio de fusión una secuencia de aminoácido codificada por una parte de la secuencia de intrón de gen FGFR3.

Los polinucleótidos de la presente invención incluyen polinucleótidos que codifican un polipéptido de fusión de la presente invención descrito anteriormente, que incluye cualquier polinucleótidos que pueden codificar un polipéptido de fusión de la presente invención.

Los polinucleótidos incluyen ADN genómico y ADNc. Los ADN genómicos incluyen exones y intrones. Adicionalmente, el ADNc puede incluir secuencias de ácido nucleico derivadas de una parte de una secuencia de intrones que codifica una secuencia de aminoácidos.

Los polinucleótidos también incluyen polinucleótidos degenerados constituidos con cualquier codón siempre y cuando los codones codifican los mismos aminoácidos.

Los polinucleótidos de la presente invención también incluyen polinucleótidos que codifican polipéptidos de fusión derivados de mamíferos. En una realización preferida, los polinucleótidos de la presente invención incluyen polinucleótidos que codifican polipéptidos de fusión derivados de humanos.

En una realización específica, los polinucleótidos de la presente invención son polinucleótidos que codifican un polipéptido de fusión en el que la totalidad o una parte del polipéptido FGFR3 de tipo salvaje (SEQ ID NO: 6 o 7) se fusiona a la totalidad o a una parte del polipéptido BAlA2P2L1 de tipo salvaje (SEQ ID NO: 8) descrito anteriormente. También se describe un polipéptido de fusión en el que la totalidad o una parte del polipéptido FGFR3 de tipo salvaje (SEQ ID NO: 6 o 7) se fusiona a la totalidad o a una parte del polipéptido TACC3 de tipo salvaje (SEQ ID NO: 9) descrito anteriormente.

Los ejemplos de realizaciones más específicas incluyen un polinucleótido que comprende una secuencia de nucleótidos que corresponde a un sitio de unión de dos polipéptidos en el polipéptido de fusión de SEQ ID NO: 14, 15 o 16.

Los ejemplos de realizaciones aun más específicas incluyen un polinucleótido que comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 31, que codifica el polipéptido de fusión de FGFR3 y BAIAP2L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32 y un polinucleótido que comprende la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 37, que codifica el polipéptido de fusión de FGFR3 y BAIAP2L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38. También se describe un polinucleótido que comprende la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 27, que codifica el polipéptido de fusión de FGFR3 y TACC3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28, un polinucleótido que comprende la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 29, que codifica el polipéptido de fusión de FGFR3 y TACC3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30, un polinucleótido que comprende la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 33, que codifica el polipéptido de fusión de FGFR3 y TACC3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 34, un polinucleótido que comprende la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 35, que codifica el polipéptido de fusión de FGFR3 y TACC3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36.

Tal como se describe anteriormente, la secuencia de nucleótidos en las posiciones 2281 a 2379 de SEQ ID NO: 29 es una secuencia de ácido nucleico derivada de un intrón del gen FGFR3 y codifica la secuencia de aminoácidos de las posiciones 761 a 793 en el polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30.

De forma similar, la secuencia de nucleótidos en las posiciones 2275 a 2373 de SEQ ID NO: 35 es una secuencia de ácido nucleico derivada de un intrón del gen FGFR3 y codifica la secuencia de aminoácidos de las posiciones 759 a 791 en el polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36.

Los polinucleótidos de la presente invención pueden obtenerse mediante cualquier método. Los polinucleótidos de la presente invención incluyen, por ejemplo, todos los ADN complementarios (ADNc) preparados a partir de ARNm, ADN preparados a partir de ADN genómico, ADN obtenidos mediante síntesis química, ADN obtenidos mediante amplificación de PCR mediante el uso de ARN o ADN como plantilla y ADN construidos mediante la combinación adecuada de estos métodos.

Los polinucleótidos que codifican los polipéptidos de fusión de la presente invención pueden obtenerse mediante el uso de métodos de rutina mediante la clonación de ADNc a partir de ARNm que codifica un polipéptido de fusión de la presente invención o aislamiento del ADN genómico y sujeción de este a un tratamiento de corte y empalme o mediante síntesis química.

Por ejemplo, en un método que clona ADNc a partir de ARNm que codifica un polipéptido de fusión de la presente invención, en primer lugar, el ARNm que codifica un polipéptido de fusión de la presente invención se prepara a partir de tejidos o células arbitrarios que expresan y producen el polipéptido de fusión de la presente invención de acuerdo con métodos de rutina. Esto puede lograrse, por ejemplo, mediante la preparación total del ARN mediante un método como el método guanidina-tiocianato, el método de fenol caliente o el método AGPC, y el tratamiento del ARN total con cromatografía de afinidad mediante oligo(dT) celulosa, poli U-seferosa o similares.

Luego, se lleva a cabo la síntesis de las cadenas de ADNc mediante el uso del ARNm preparado como una platilla mediante un método conocido que utiliza, por ejemplo, transcriptasa inversa (Mol. Cell. Biol., Vol.2, p.161, 1982; Mol. Cell. Biol., Vol.3, p.280, 1983; Gene, Vol.25, p.263, 1983). El ADNc se convierte a ADNc de cadena doble y se inserta en un vector plásmido, un vector de fagos, un vector cósmido o similares. Para preparar una biblioteca de ADNc, el vector resultante se transforma en *E. coli* o se transfecta en *E. coli* luego de un empaque in vitro.

La presente invención también se relaciona con vectores (vectores recombinantes) que portan el polinucleótido descrito anteriormente que codifica un polipéptido de fusión de la presente invención.

Los vectores de la presente invención no se encuentran particularmente limitados siempre y cuando puedan replicarse y mantenerse o autopropagarse en varias células procariontas y/o eucariotas como un hospedador. Los vectores de la presente invención incluyen vectores plásmidos y vectores de fagos.

Los vectores de clonación incluyen, por ejemplo, pUC19, λ gt10, y λ gt11. Cuando se aíslan las células hospedadoras capaces de expresar un polipéptido de fusión de la presente invención, preferiblemente un vector, es uno que tiene un promotor que permite la expresión del polinucleótido de la presente invención.

Los vectores recombinantes de la presente invención pueden prepararse mediante el uso de métodos de rutina simplemente mediante el ligado de un polinucleótido que codifica un polipéptido de fusión de la presente invención en un vector recombinante disponible en la técnica (ADN plásmido y ADN bacteriofago).

Los vectores recombinantes para el uso en la presente invención incluyen, por ejemplo, plásmidos derivados de *E. coli* (pBR322, pBR325, pUC12, pUC13, pUC19, etc.), plásmidos derivados de levadura (pSH19, pSH15, etc.), y plásmidos derivados de *Bacillus subtilis* (pUB110, pTP5, pC194, etc.).

Los ejemplos de fagos son bacteriofagos tales como un fago λ y virus animales o de insectos (pVL1393, Invitrogen), tales como retrovirus, virus vaccinia, virus de poliedrosis nuclear y lentivirus.

Los vectores de expresión son útiles para los fines de producción de un polipéptido de fusión de la presente

invención mediante la expresión de un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión de la presente invención. Los vectores de expresión no se ven particularmente limitados siempre y cuando tengan la función de producir polipéptidos de fusión de la presente invención mediante la expresión de polinucleótidos que codifican los polipéptidos en diversas células procariotas y/o eucariotas como un hospedador.

- 5 Dichos vectores de expresión incluyen, por ejemplo, pMAL C2, pEF-BOS (Nucleic Acid Research, Vol.18, 1990, p. 5322) y pME18S (Jikken Igaku Bessatsu (Experimental Medicine: SUPPLEMENT), "Idenshi Kougaku Handbook (Handbook of Genetic Engineering)" (1992)).

Alternativamente, los polipéptidos de fusión de la presente invención pueden ser producidos como proteínas de fusión con otras proteínas. Por ejemplo, cuando se prepara como una proteína de fusión con glutatión S-transferasa (GST), ADNc que codifica un polipéptido de fusión de la presente invención puede subclonarse en, por ejemplo, el plásmido pGEX4T1 (Pharmacia). *E. coli* DH5 α se transforma con el plásmido resultante y los transformantes se cultivan para preparar la proteína de fusión.

Alternativamente, los polipéptidos de fusión de la presente invención pueden producirse como fusiones con hemaglutinina (HA) de influenza, región constante de inmunoglobulina, β -galactosidasa, proteína de unión a maltosa (MBP, por sus siglas en inglés) o similares. Adicionalmente, los polipéptidos de fusión de la presente invención pueden producirse como fusiones con péptidos conocidos, por ejemplo, FLAG (Hopp, T. P. *et ál.*, BioTechnology (1988) 6, 1204- 1210), 6x His que consiste en 6 residuos de histidina (His), 10x His, hemaglutinina (HA) de influenza, fragmentos de c-myc humano, fragmentos de VSV-GP, fragmentos de p18HIV, etiqueta T7, etiqueta HSV, etiqueta E, fragmentos de antígeno SV40T, etiqueta Ick, fragmentos de α -tubulina, etiqueta B, fragmentos de proteína C, Stag, StrepTag y HaloTag.

20 Cuando se utilizan bacterias, en particular *E. coli*, como una célula hospedadora, los vectores de la presente invención contienen preferiblemente al menos una región operadora del promotor, un codón de inicio, un polinucleótido que codifica un polipéptido de fusión de la presente invención, un codón de detención, una región de terminación y un replicón.

25 Cuando se utiliza levadura, células animales o células de insectos como un hospedador, los vectores de expresión contienen preferiblemente un promotor, un codón de inicio, un polinucleótido que codifica un polipéptido de fusión de la presente invención y un codón de terminación.

Los vectores también pueden contener ADN que codifica un péptido de señal, una secuencia amplificadora, regiones no traducidas 5' y 3' del gen que codifica una proteína de la presente invención, uniones de corte y empalme, sitios de poliadenilación, una región de marcador de selección, un replicón y similares.

30 Adicionalmente, de ser necesario, los vectores pueden contener genes marcadores (genes para la amplificación génica, genes de resistencia a fármacos, etc.) que permiten la selección de hospedadores transformados u hospedadores con amplificación génica.

Los genes marcadores incluyen, por ejemplo, el gen de dihidrofolato reductasa (DHFR), gen de cinasa timidina, gen de resistencia a la neomicina, gen de glutamato sintasa, gen de adenosina deaminasa, gen de ornitina decarboxilasa, gen de higromicina-B fosfotransferasa y gen de aspartato transcarbamilasa.

Una región operadora del promotor para expresar el polipéptido de fusión de la presente invención en bacterias comprende un promotor, un operador y una secuencia Shine-Dalgarno (SD) (por ejemplo, AAGG).

40 Por ejemplo, cuando el hospedador es el género *Escherichia*, comprende, por ejemplo, el promotor Trp, promotor lac, promotor recA, promotor APL, promotor lpp, promotor tac o similares.

Los ejemplos de un promotor para expresar el polipéptido de fusión de la presente invención en levadura son el promotor PH05, promotor PGK, promotor GAP, promotor ADH y similares.

Cuando el hospedador es *Bacillus*, los ejemplos son el promotor SL01, promotor SP02, promotor penP, y similares.

45 Cuando el hospedador es una célula eucariota, tal como una célula de mamífero, los ejemplos son un promotor derivado de SV40, promotor de retrovirus, promotor de choque térmico, y similares; y se prefieren el SV40 y retrovirus. No obstante, el promotor no se ve limitado a los ejemplos anteriores. Además, el uso de un potenciador es eficaz para la expresión.

Un codón de inicio preferible es, por ejemplo, un codón metionina (ATG). Un codón de terminación comúnmente utilizado (por ejemplo, TAG, TAA, TGA) se ejemplifica como un codón de terminación. Se utilizan comúnmente los terminadores naturales o sintéticos como una región de terminación.

50 Un replicón hace referencia a un ADN capaz de replicar la secuencia de ADN total en células hospedadoras e incluye un plásmido natural, un plásmido modificado artificialmente (fragmento de ADN preparado a partir de un plásmido natural), un plásmido sintético y similares. Los ejemplos de plásmidos preferibles para *E. coli* son pBR322 o sus derivados artificiales (fragmentos de ADN obtenidos por el tratamiento de pBR322 con enzimas de restricción

adecuadas), para la levadura son el plásmido de levadura 2 μ o ADN cromosómico de levadura y pRSVneo ATCC 37198, y para células de mamíferos son los plásmidos pSV2dhfr ATCC 37145, plásmido pdBPV-MMTneo ATCC 37224, plásmido pSV2neo ATCC 37149 y similares.

5 También pueden utilizarse una secuencia potenciadora, el sitio de poliadenilación, y una unión de corte y empalme que se utilizan usualmente en la técnica, tal como los derivados de SV40.

10 El vector de expresión de la presente invención puede prepararse mediante el enlace continuo y circular de al menos el promotor mencionado anteriormente, codón de inicio, polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión de la presente invención, el codón de terminación y región de terminación, a un replicón adecuado. Si así se desea, pueden usarse fragmentos de ADN adecuados (por ejemplo, enlazadores, sitios de restricción y similares) mediante un método común tal como una digestión con enzimas de restricción o enlace mediante ADN ligasa de T4.

La presente invención también se relaciona con células recombinantes transformadas con los vectores mencionados anteriormente de la presente invención y las células recombinantes de la presente invención pueden prepararse mediante la introducción del vector de expresión mencionado anteriormente en las células hospedadoras.

15 Las células hospedadoras en la presente invención no están particularmente limitadas siempre y cuando sean compatibles con un vector de expresión mencionado anteriormente y puedan transformarse. Los ejemplos de los mismos incluyen varias células tales como células de tipo salvaje o células recombinantes establecidas artificialmente utilizadas comúnmente en el campo técnico de la presente invención (por ejemplo, bacterias (los géneros *Escherichia* y *Bacillus*), levadura (el género *Saccharomyces*, el género *Pichia*, y similares) células animales, o células de insectos).

20 Se prefieren células de *E. coli* o animales. Los ejemplos específicos de *E. coli* (DH5 α , TB1, HB101 y similares), células derivadas de ratones (COP, L, C127, Sp2/0, NS-1, NIH3T3 y similares), células derivadas de ratas (PC12, PC12h), células derivadas de hámsteres (BHK, CHO y similares), células derivadas de monos (COS1, COS3, COS7, CV1, Velo y similares) y células derivadas de humanos (Hela, células derivadas de fibroblastos diploides, células de mieloma y HepG2 y similares).

25 Puede introducirse un vector de expresión (transformado (transfectado)) en células hospedadoras de acuerdo con métodos de rutina.

[cuando el hospedador es *E. coli*, *Bacillus subtilis*, o similares: Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., Vol.69, p.2110 (1972); Mol. Gen. Genet., Vol.168, p.111 (1979); J. Mol. Biol., Vol.56, p.209 (1971);

30 [cuando el hospedador es *Saccharomyces cerevisiae*]: Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., Vol.75, p.1927 (1978); J. Bacteriol., Vol.153, p.163 (1983);

[cuando el hospedador es una célula animal]: Virology, Vol.52, p.456 (1973);

[cuando el hospedador es una célula de insecto]: Mol. Cell. Biol., Vol.3, pp.2156-2165 (1983).

35 Los polipéptidos de fusión de la presente invención pueden producirse mediante células recombinantes transformadas mediante cultivo (en adelante, el término también hace referencia a cuerpos de inclusión) que comprende un vector de expresión preparados como se describen anteriormente en un medio nutritivo de acuerdo con métodos de rutina.

Los polipéptidos de fusión de la presente invención pueden producirse mediante el cultivo de las células recombinantes descritas anteriormente, en particular, células animales, y les permite secretarse en sobrenadantes del cultivo.

40 El cultivo resultante se filtra o se centrifuga para obtener un filtrado del cultivo (sobrenadante). Los polipéptidos de fusión de la presente invención se purifican y se aíslan a partir del filtrado del cultivo mediante métodos de rutina utilizados comúnmente para purificar y aislar las proteínas naturales o sintéticas. Los ejemplos de un método de aislamiento y purificación son métodos que utilizan solubilidad tal como métodos de precipitación salina y precipitación por solventes; métodos que utilizan diferencias en el peso molecular tal como diálisis, ultrafiltración, filtración en gel y electroforesis en gel de dodecil sulfato-poliacrilamida; métodos que utilizan una carga tal como una cromatografía de intercambio de iones y cromatografía de hidroxilapatita; un método que utiliza una afinidad específica tal como cromatografía en columna por afinidad; métodos que utilizan diferencias en hidrofobicidad tal como cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa; y métodos que utilizan diferencias en el punto isoelectrónico tal como isoelectroenfoque.

50 Mientras tanto, cuando un polipéptido de fusión de la presente invención se encuentra en el periplasma o citoplasma de las células recombinantes cultivadas (tal como *E. coli*), las células se recolectaron mediante métodos de rutina tal como filtración y centrifugado del cultivo, y luego se suspendieron en un amortiguador adecuado. Luego de que la pared celular y/o la membrana celular de las células se rompe mediante métodos tales como la sonicación, lisozima y criólisis, una parte de la membrana que contiene la proteína de la presente invención se obtiene mediante métodos

tales como centrifugación y filtración. La parte de la membrana se solubiliza con un detergente tal como Triton-X100 para obtener la solución en bruto. Luego, la proteína de la presente invención puede aislarse y purificarse a partir de la solución en bruto mediante métodos de rutina tales como los ejemplificados anteriormente.

5 La presente descripción también se relaciona con los oligonucleótidos arbitrarios que se hibridan a polinucleótidos (ADNc y ADN genómicos) que codifican los polipéptidos de fusión descritos anteriormente de la presente invención.

10 Los oligonucleótidos tienen secuencias de nucleótidos que son complementarias a secuencias de nucleótidos parciales arbitrarias de los ADNc y ADN genómico y que son útiles como un par de cebadores oligonucleótidos que consisten en cebadores sentido y antisentido en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La totalidad de la secuencia de nucleótidos de un polinucleótido que codifica un polipéptido de fusión de la presente invención o una parte arbitraria de la secuencia de nucleótidos puede amplificarse mediante PCR a través del uso del par de cebadores oligonucleótidos.

15 Los cebadores oligonucleótidos incluyen oligonucleótidos de cualquier longitud que son complementarios a la secuencia de nucleótidos de un polinucleótido de la presente invención. Los cebadores oligonucleótidos incluyen preferiblemente los que tienen una secuencia de al menos 12 nucleótidos consecutivos, más preferiblemente 12 a 50 nucleótidos y aún más preferiblemente 12 a 20 nucleótidos.

20 Los oligonucleótidos también son útiles como una sonda cuando se manipula la hibridación de ADN o ARN. Cuando se utiliza como una sonda, los ADN incluyen una secuencia de nucleótidos parcial de 20 o más nucleótidos más consecutivos, preferiblemente una secuencia de nucleótidos parcial de 50 o más nucleótidos parciales, más preferiblemente una secuencia de nucleótidos parcial de 100 o más nucleótidos consecutivos, incluso más preferiblemente una secuencia de nucleótidos parcial de 200 o más nucleótidos consecutivos y aun más preferiblemente una secuencia de nucleótidos parcial de 300 o más nucleótidos consecutivos, que se hibridan a un polinucleótido de la presente invención.

25 La presente descripción también se relaciona con oligonucleótidos que se unen a polinucleótidos de ARNm que codifican polipéptidos de fusión de la presente invención y tienen una actividad de inhibición de la traducción de los ARN en proteínas. Es particularmente preferible que los oligonucleótidos incluyan ARNip que escinden los ARNm mediante unión a los polinucleótidos de ARNm que codifican los polipéptidos de fusión de la presente invención.

Los oligonucleótidos hacen referencia a aquellos que se unen a los polipéptidos de fusión que codifican los ARNip de la presente invención y, mediante esto, inhiben su expresión e incluyen, por ejemplo, oligonucleótidos antisentido, ribozimas y ARN de interferencia pequeño (ARNip). Se unen a las ARNm y luego inhiben su traducción a proteínas.

30 Un oligonucleótido antisentido hace referencia a un oligonucleótido que se hibrida específicamente al ADN genómico y/o ARNm, e inhibe su expresión de proteínas mediante la inhibición de la transcripción y/o traducción.

35 La unión a un polinucleótido objetivo (ARNm, etc.) puede ser el resultado de complementariedad de pares de bases comunes. Alternativamente, cuando un oligonucleótido antisentido se une a, por ejemplo, un dúplex de ADN la unión puede ser el resultado de la interacción específica en la ranura mayor de la hélice doble. Los sitios objetivo para un oligonucleótido antisentido incluyen el extremo 5' de un ARNm, por ejemplo, secuencias no traducidas 5' hasta o inclusive el codón de inicio AUG, y secuencias no traducidas 3' de un ARNm, así como también las secuencias de región de codificación.

40 Cuando se utilizan como un oligonucleótido antisentido, los oligonucleótidos antisentido incluyen secuencias de nucleótidos parciales de 5 a 100 nucleótidos consecutivos, preferiblemente secuencias de nucleótidos parciales de 5 a 70 nucleótidos consecutivos, más preferiblemente secuencias de nucleótidos parciales de 5 a 50 nucleótidos consecutivos y aun más preferiblemente secuencias de nucleótidos parciales de 5 a 30 nucleótidos consecutivos.

45 Adicionalmente, los oligonucleótidos antisentido pueden ser parcialmente modificados mediante la modificación química para alargar su semivida en la sangre (para estabilizarlos) o aumentar la permeabilidad de su membrana intracelular cuando se los administra a los pacientes, o para potenciar su resistencia a la degradación o absorción en los órganos digestivos en la administración oral. Dicha modificación química incluye, por ejemplo, modificación química de un enlace de fosfato, ribosa, nucleobases, restos de azúcar en oligonucleótidos y extremos 3' y 5' de oligonucleótidos.

50 La modificación de enlaces de fosfato incluye, por ejemplo, la conversión de uno o más enlaces a enlaces de fosfodiéster (D-oligo), enlaces fosforotioato, enlaces fosforditioato (S-oligo), metil fosfonato (MP-oligo), enlaces de fosforoamidato, enlaces no fosfato y enlaces de metil fosforotioato y combinaciones de los mismos. La modificación de ribosa incluye, por ejemplo, la conversión a 2'-fluorribosa o 2'-O-metilribosa. La modificación de la base de nucleótidos incluye, por ejemplo, la conversión a 5-propiniluracilo o 2-aminoadenina.

55 La ribozima hace referencia a oligonucleótidos que tienen una actividad catalítica de escindir el ARNm. En general, las ribozimas tienen actividad de endonucleasa, ligasa o polimerasa. Las ribozimas incluyen varios tipos de ribozimas reguladoras en tras, por ejemplo, ribozimas cabeza de martillo y ribozimas horquillas.

El ARNip hace referencia a oligonucleótidos de doble cadena capaces de llevar a cabo la interferencia de ARN (por ejemplo, Bass, 2001, Nature, 411, 428-429; Elbashir *et al.*, 2001, Nature, 411, 494-498).

5 El ARNip escinde el ARNm en una forma específica de la secuencia y, como resultado, inhibe la traducción del ARNm en la proteína. El ARNip incluye los ARN de doble cadena que tienen 20 a 25 pares de base de largo y comprenden una complementariedad de secuencia con respecto a la secuencia de polinucleótido objetivo. Los ARNip también incluyen oligonucleótidos que comprenden nucleótidos y no nucleótidos modificados químicamente.

La presente descripción también se relaciona con anticuerpos que se unen al polipéptido de fusión descrito anterior de la presente invención y los fragmentos de unión al antígeno de los mismos.

10 Los anticuerpos no se ven limitados por su origen, forma, función, etc. Los anticuerpos pueden ser cualquier anticuerpo, anticuerpos monoclonales o policlonales. Sin embargo, los anticuerpos preferidos son anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos pueden derivarse de cualquier animal, tal como anticuerpos humanos, anticuerpos de ratones y anticuerpos de rata. Los anticuerpos también pueden ser anticuerpos recombinantes tal como anticuerpos quiméricos y anticuerpos humanizados. Los anticuerpos preferidos incluyen anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanos y anticuerpos humanizados.

15 Los anticuerpos humanizados pueden prepararse mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica. La región variable de un anticuerpo se compone típicamente de tres regiones determinantes de la complementariedad (CDR), entre cuatro marcos (FR). Los CDR prácticamente determinan la especificidad de unión de un anticuerpo. Las secuencias de aminoácidos de CDR son ampliamente diversas. Por otro lado, las secuencias de aminoácidos que constituyen FR exhiben frecuentemente una homología alta entre anticuerpos que tienen diferentes especificidades de unión. Por lo tanto, se dice que en general la especificidad de unión de un anticuerpo puede trasplantarse a un anticuerpo diferente mediante injertos de CDR.

20 Los anticuerpos humanizados también se designan como anticuerpos reformados humanos y se preparan mediante la transferencia de las CDR de un anticuerpo derivado de un mamífero no humano tal como un ratón, a las regiones determinantes de complementariedad de un anticuerpo humano. También se conocen las técnicas de recombinación genética generales para su preparación (ver publicación de solicitud de patente europea n.º 125023 y WO 96/02576).

30 Específicamente, por ejemplo, cuando la CDR derivan de un anticuerpo de ratón, una secuencia de ADN se diseñan de forma tal que las CDR del anticuerpo de ratón se unen con las regiones de marco (FR) de un anticuerpo humano y se sintetizan mediante PCR a través de, como cebadores, varios oligonucleótidos que tienen partes que se superponen a los extremos de los CDR y FR (ver el método descrito en WO 98/13388). El ADN resultante se une luego a un ADN que codifica una región constante del anticuerpo humano, insertado en un vector de expresión y se introduce en un hospedador para producir el anticuerpo (ver publicación de solicitud de patente europea n.º EP 239400 y publicación de solicitud de patente internacional n.º WO 96/02576).

35 Las regiones de marco de anticuerpo humano a ser unidas con CDR se seleccionan de forma tal que las regiones determinantes de la complementariedad forman un sitio de unión al antígeno favorable. De ser necesario, los aminoácidos de la región de marco en una región variable de anticuerpo puede sustituirse, eliminarse, agregarse y/o insertarse de forma tal que las regiones determinantes de complementariedad forman un sitio de unión al antígeno adecuado. Por ejemplo, las mutaciones pueden introducirse en la secuencia de aminoácidos de la FR mediante la aplicación del método de PCR utilizado para injertar CDR de ratón a FR humanas. Específicamente, pueden introducirse mutaciones en una parte de las secuencias de nucleótidos de cebadores que se hibridan a las FR. Las mutaciones se introducen en FR sintetizadas mediante el uso de dichos cebadores. Las secuencias de FR mutante que tienen propiedades deseadas pueden seleccionarse mediante la evaluación y determinación de la actividad de unión al antígeno de anticuerpos mutantes sustituidos con aminoácidos mediante el método descrito anteriormente (Sato, K. *et al.*, Cancer Res. (1993) 53, 851-856).

45 En general, se utilizan las regiones constantes de anticuerpos humanos para las de los anticuerpos humanizados.

No existen limitaciones particulares de las regiones constantes de anticuerpos humanos a ser utilizadas en la presente invención; y por ejemplo, cuando se utiliza una región constante de cadena pesada, puede ser una región constante de IgG1 humana, una región constante de IgG2 humana, una región constante de IgG3 humana, una región constante de IgG4 humana o una región constante de IgM, IgA, IgE o IgD. Alternativamente, cuando se utiliza una región constante de cadena ligera, puede ser una región constante de cadena κ o región constante de cadena λ humana. Adicionalmente, las regiones constantes derivadas de un anticuerpo humano pueden tener una secuencia de origen natural o pueden ser una región constante que tiene una secuencia con una modificación (sustitución, eliminación, adición y/o inserción) de uno o más aminoácidos en la secuencia de origen natural.

55 Además, luego de que se preparó un anticuerpo humanizado, los aminoácidos en la región variable (por ejemplo, CDR y FR) y la región constante del anticuerpo humanizado pueden ser eliminados, agregados, insertos y/o sustituidos con otros aminoácidos. Los anticuerpos humanizados también incluyen tales anticuerpos humanizados con sustituciones de aminoácidos y similares.

El origen de las CDR de un anticuerpo humanizado no se ve particularmente limitado y puede ser cualquier animal. Por ejemplo, es posible utilizar secuencias de anticuerpos de ratón, anticuerpos de rata, anticuerpos de conejo, anticuerpos de camello, y similares. Se prefieren secuencias de CDR de anticuerpos de ratones.

5 Cuando se administran a humanos para fines terapéuticos, los anticuerpos humanizados son útiles porque se reduce su inmunogenicidad en el cuerpo humano.

Los anticuerpos quiméricos comprenden, por ejemplo, regiones constantes de cadena pesada y ligera de un anticuerpo humano, y regiones variables de cadena pesada y ligera de un anticuerpo de un mamífero no humano, tal como un ratón. Los anticuerpos quiméricos pueden prepararse mediante métodos conocidos. Por ejemplo, los anticuerpos pueden producirse mediante la clonación de un gen de anticuerpo de hibridomas, la inserción de este en un vector adecuado y la introducción de la construcción en hospedadores (ver, por ejemplo, Carl, A. K. Borrebaeck, James, W. Larrick, THERAPEUTIC MONOCLONAL ANTIBODIES, publicado en el Reino Unido por MACMILLAN PUBLISHERS LTD, 1990). Específicamente, los ADN de las regiones variables del anticuerpo (regiones V) se sintetizan a partir de ARNm de hibridomas mediante transcriptasa inversa. Una vez que se obtienen los ADN que codifican las regiones V de un anticuerpo de interés, se unen con ADN que codifican las regiones constantes (regiones C) de un anticuerpo humano deseado. Las construcciones resultantes se insertan en los vectores de expresión. Alternativamente, los ADN que codifican las regiones V del anticuerpo pueden insertarse en un vector de expresión que comprenden ADN que codifican las regiones C de un anticuerpo humano. Los ADN se insertan en un vector de expresión de forma tal que se expresan bajo la regulación de regiones regulatorias de la expresión, por ejemplo, amplificadores y promotores. En la siguiente etapa, las células hospedadoras pueden transformarse con el vector de expresión para permitir la expresión de anticuerpos quiméricos.

Los anticuerpos humanos pueden obtenerse mediante el uso de métodos de los expertos en la técnica. Por ejemplo, los anticuerpos humanos deseados con actividad de unión al antígeno pueden obtenerse mediante la sensibilización de linfocitos humanos con un antígeno de interés o células que expresan un antígeno de interés *in vitro*; y fusionar los linfocitos sensibilizados con células de mieloma humano tales como U266 (ver publicación de solicitud de patente japonesa Kokoku n.º (JP-B) H01-59878 (solicitud de patente japonesa aprobada, examinada para oposición). Alternativamente, el anticuerpo humano deseado también puede obtenerse mediante la inmunización de un animal transgénico que tiene un repertorio total de genes de anticuerpo humano con un antígeno deseado (ver publicaciones de solicitud de patente internacional n.º WO 93/12227, WO 92/03918, WO 94/02602, WO 94/25585, WO 96/34096, y WO 96/33735).

30 Alternativamente, los linfocitos B que expresan anticuerpos que tienen actividad de unión al antígeno se aíslan a partir de un grupo de linfocitos humanos mediante citometría de flujo, matriz celular o similar. Los genes de anticuerpo de linfocitos B seleccionados pueden analizarse y las secuencias de ADN de los anticuerpos humanos que se unen al antígeno pueden determinarse (Jin, A. *et al.*, Nature Medicine (2009) 15, 1088-92; Scheid, J.F. *et al.*, Nature (2009) 458, 636-640; Wrammert, J. *et al.*, Nature (2008) 453, 667-672; Tiller, T. *et al.*, Journal of Immunological Methods (2008) 329, 112-124). Cuando las secuencias de ADN de los anticuerpos de unión al antígeno se revelan, los anticuerpos humanos pueden prepararse mediante la construcción de vectores de expresión adecuados que portan las secuencias. Dichos métodos son conocidos y WO 92/01047, WO 92/20791, WO 93/06213, WO 93/11236, WO 93/19172, WO 95/01438 y WO 95/15388 pueden usarse como referencias.

40 Adicionalmente, se conocen las técnicas para obtener anticuerpos humanos mediante el análisis con una biblioteca de fagos de anticuerpos humanos. Por ejemplo, la región variable de un anticuerpo humano se expresa como un anticuerpo de cadena simple (scFv) en la superficie de fagos mediante el uso de un método de expresión de fagos y fagos que se unen al antígeno pueden seleccionarse. Mediante el análisis de genes de fagos seleccionados, las secuencias de ADN que codifican las regiones variables de anticuerpos humanos que se unen al antígeno pueden determinarse. Si las secuencias de ADN de scFv que se unen al antígeno se identifican, los vectores de expresión adecuados que comprenden estas secuencias pueden construirse para obtener anticuerpos humanos. Tales métodos son conocidos en la técnica. Puede hacerse referencia a WO 92/01047, WO 92/20791, WO 93/06213, WO 93/11236, WO 93/19172, WO 95/01438, WO 95/15388, y similares.

Los anticuerpos incluyen no solamente anticuerpos divalentes como se representa mediante la IgG, sino que también anticuerpos monovalentes, anticuerpos multivalentes como se representa mediante IgM. Además, los anticuerpos también incluyen anticuerpos biespecíficos capaces de unirse a diferentes antígenos.

Los anticuerpos incluyen no solamente moléculas de anticuerpos completas, sino que también cualquier fragmento de unión al antígeno tal como anticuerpo de peso molecular bajo.

Los anticuerpos también incluyen anticuerpos modificados que se unen a sustancias citotóxicas. Los anticuerpos también incluyen aquellos con cadenas de azúcar alteradas.

55 Los anticuerpos de peso molecular (minicuerpos) incluidos en fragmentos de unión al antígeno son anticuerpos que comprenden un fragmento de anticuerpo que no tienen una parte de un anticuerpo total (por ejemplo, la IgG total, etc.). Los minicuerpos no se ven particularmente limitados, siempre y cuando tengan la actividad de unión a un polipéptido de fusión de la presente invención.

Los minicuerpos no se ven particularmente limitados, siempre y cuando comprendan una parte de un anticuerpo total. Sin embargo, es preferible que los minicuerpos comprendan un dominio de unión al antígeno. En general, el dominio de unión al antígeno es un CDR de anticuerpo y es preferiblemente seis CDR de un anticuerpo. Por lo tanto, los dominios de unión al antígeno preferidos incluyen, por ejemplo, seis CDR de un anticuerpo y regiones variables de anticuerpo (regiones variables de cadena pesada y/o ligera).

Los minicuerpos preferiblemente tienen un peso molecular más pequeño que los anticuerpos totales. Sin embargo, los minicuerpos pueden formar multímeros, por ejemplo, dímeros, trímeros o tetrámeros, y por lo tanto sus pesos moleculares pueden ser mayores que los de los anticuerpos totales.

Otros ejemplos específicos de los fragmentos de moléculas de unión al antígeno incluyen, por ejemplo, Fab, Fab', F(ab')₂, y Fv. Mientras tanto, los ejemplos de anticuerpos de peso molecular bajo incluyen, por ejemplo, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv (Fv de cadena simple), diacuerpos y sc(Fv)₂ ((Fv)₂ de cadena simple). Los multímeros (por ejemplo, dímeros, trímeros, tetrámeros y polímeros) de estos anticuerpos se incluyen también en los anticuerpos de peso molecular bajo.

Los fragmentos de unión al antígeno pueden obtenerse, por ejemplo, mediante el tratamiento de anticuerpos con enzimas para producir fragmentos de anticuerpo. Las enzimas conocidas por generar fragmentos de anticuerpo incluyen, por ejemplo, papaína, pepsina y plasmina. Alternativamente, un gen que codifica dicho fragmento de anticuerpo puede ser construido, introducido en un vector de expresión y expresado en células hospedadoras adecuadas (ver, por ejemplo, Co, M.S. *et al.*, J. Immunol. (1994) 152, 2968-2976; Better, M. & Horwitz, A. H. Methods in Enzymology (1989) 178, 476-496; Plueckthun, A. & Skerra, A. Methods in Enzymology (1989) 178, 476-496; Lamoyi, E., Methods in Enzymology (1989) 121, 652-663; Rousseaux, J. *et al.*, Methods in Enzymology (1989) 121, 663-669; Bird, R. E. *et al.*, TIBTECH (1991)9, 132-137).

Las enzimas digestivas se escinden en sitios específicos en un fragmento de anticuerpo, lo que proporciona fragmentos de anticuerpo de estructuras específicas mostrados a continuación. Pueden aplicarse técnicas de modificación genética a dichos fragmentos de anticuerpo obtenidos de forma enzimática para eliminar una parte arbitraria del anticuerpo.

Los fragmentos de anticuerpo obtenidos mediante el uso de enzimas digestivas descritas anteriormente son de la siguiente manera:

Digestión con papaína: F(ab)₂ o Fab

Digestión con pepsina: F(ab')₂ o Fab'

Digestión con plasmina: Facb

Los minicuerpos incluyen fragmentos de anticuerpo que no tienen una región arbitraria, siempre y cuando tengan la actividad de unión a un polipéptido de fusión.

"Diacuerpo" hace referencia a un fragmento de anticuerpo bivalente construido mediante fusión génica (Holliger P *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 90: 6444-6448 (1993); EP 404,097; WO 93/11161, etc.). Los diacuerpos son dímeros compuestos por dos cadenas de polipéptidos. En cada una de las cadenas de polipéptidos que forman un dímero, una VL y una VH se encuentran usualmente unidas mediante un enlazador en la misma cadena. En general, el enlazador en un diacuerpo es lo suficientemente corto como para que la VL y la VH no puedan unirse entre sí. Específicamente, la cantidad de residuos de aminoácidos que constituyen el enlazador es, por ejemplo, aproximadamente cinco residuos. Por lo tanto, las VL y VH codificadas en el mismo polipéptido no pueden formar un fragmento de región variable de cadena simple y formarán un dímero con un otro fragmento de región variable de cadena simple. En consecuencia, el diacuerpo tiene dos sitios de unión al antígeno.

Los anticuerpos scFv son polipéptidos de cadena simple producidos mediante una región variable de cadena pesada ([VH]) a una región variable de cadena ligera ([VL]) mediante un enlazador o similar (Huston, J. S. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. (1988) 85, 5879-5883; Plickthun "The Pharmacology of Monoclonal Antibodies" Vol. 113, eds., Resenburt y Moore, Springer Verlag, Nueva York, pp. 269-315, (1994)). La región V de cadena H y la región V de cadena L del scFv pueden derivarse de cualquier anticuerpo descrito en la presente memoria. El enlazador peptídico para el enlace de las regiones V no se encuentra particularmente limitado. Por ejemplo, puede usarse un péptido de cadena simple arbitrario que contiene aproximadamente tres a 25 residuos como un enlazador. Específicamente, es posible utilizar los enlazadores peptídicos o similares descritos más adelante.

Las regiones V de ambas cadenas pueden unirse, por ejemplo, mediante PCR como se describe anteriormente. Para enlazar las regiones V mediante PCR, se utiliza un ADN de los ADN a continuación que codifica una secuencia de aminoácidos completa o parcial deseada como una plantilla:

secuencia de ADN que codifica una región V de cadena H o cadena-H de un anticuerpo y

secuencia de ADN que codifica una región V de cadena L o cadena-L de un anticuerpo.

Los ADN que codifican las regiones V de cadena H y cadena L se amplifican mediante PCR a través del uso de un par de cebadores que tienen secuencias correspondientes a las secuencias de ambos extremos del ADN a amplificar. Luego, se prepara un ADN que codifica la parte del enlazador peptídico. El ADN que codifica el enlazador peptídico también puede sintetizarse mediante PCR. En este caso, las secuencias de nucleótidos que pueden ligarse a los productos de amplificación de las regiones V sintetizadas de forma individual se agregan al extremo 5' de los cebadores a ser utilizados. Luego, se lleva a cabo la PCR mediante el uso de cada ADN del [ADN de la región V de cadena H] - [ADN de enlazador peptídico] - [ADN de la región V de cadena L] y cebadores de PCR de ensamblaje.

Los cebadores de PCR de ensamblaje se componen de una combinación de un cebador que se hibrida al extremo 5' del [ADN de la región V de cadena H] y un cebador que se hibrida al extremo 3' del [ADN de región V de cadena L]. En otras palabras, los cebadores de PCR de ensamblaje son un conjunto de cebadores que pueden usarse para amplificar el ADN que codifica la secuencia de longitud completa de un scFv a ser sintetizado. Mientras tanto, las secuencias de nucleótidos que pueden ligarse a los ADN de región V se agregaron al [ADN de enlazador peptídico]. Por lo tanto, estos ADN se enlazan entre sí y luego se genera, en última instancia, la totalidad del scFv como un producto de amplificación mediante los cebadores de PCR de ensamblaje. Una vez que se generan los ADN que codifican scFv, los vectores de expresión que transportan estos ADN y pueden obtenerse las células recombinantes transformadas con estos vectores de expresión mediante métodos convencionales. Adicionalmente, el scFv puede obtenerse mediante cultivo de las células recombinantes resultantes para expresar los ADN que codifican scFv.

El orden en el que las regiones variables de cadena pesada y de cadena ligera pueden unirse entre sí no se ve particularmente limitado y pueden estar dispuestas en cualquier orden. A continuación, se enumeran ejemplos de disposiciones.

[VH] enlazador [VL]

[VL] enlazador [VH]

sc(Fv)₂ es un anticuerpo de peso molecular bajo de cadena simple producido mediante la unión de dos VH y dos VL utilizando enlazadores y similares (Hudson *et al.*, J Immunol. Methods 1999; 231: 177-189). Por ejemplo, sc(Fv)₂ puede producirse mediante la unión de scFvs a través de un enlazador.

Se prefieren los anticuerpos en los que las dos VH y las dos VL se disponen en el orden VH, VL, VH, y VL ([VH] enlazador [VL] enlazador [VH] enlazador [VL]) desde el extremo N del polipéptido de cadena simple. Sin embargo, el orden de dos VH y dos VL no se ve limitado a la disposición anterior y pueden disponerse en cualquier orden. A continuación, se enumeran ejemplos de disposiciones.

[VL] enlazador [VH] enlazador [VH] enlazador [VL]

[VH] enlazador [VL] enlazador [VL] enlazador [VH]

[VH] enlazador [VH] enlazador [VL] enlazador [VL]

[VL] enlazador [VL] enlazador [VH] enlazador [VH]

[VL] enlazador [VH] enlazador [VL] enlazador [VH]

La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada o la región variable de cadena ligera en un anticuerpo de peso molecular bajo puede contener una sustitución, eliminación, adición y/o inserción. Adicionalmente, la región variable de cadena pesada y región variable de cadena ligera también puede no tener algunas partes o agregarse con otros polipéptidos, siempre y cuando tengan capacidad de unión al antígeno cuando se unen entre sí. Alternativamente, las regiones variables pueden ser quimerizadas o humanizadas.

Los enlazadores que unen las regiones variables del anticuerpo incluyen enlazadores peptídicos arbitrarios que pueden introducirse mediante el uso de modificación genética o enlazadores sintéticos tales como los que se describen en Protein Engineering, 9(3), 299-305, 1996.

Los enlazadores preferidos son enlazadores peptídicos. La longitud de los enlazadores peptídicos no se ve particularmente limitada y los expertos en la técnica pueden seleccionar adecuadamente la longitud dependiendo del fin. Una longitud típica es una de hasta 100 aminoácidos, preferiblemente 3 a 50 aminoácidos, más preferiblemente 5 a 30 aminoácidos y preferiblemente de forma particular 12 a 18 aminoácidos (por ejemplo, 15 aminoácidos).

Las secuencias de aminoácidos de dichos enlazadores peptídicos incluyen, por ejemplo:

Ser;

Gly-Ser;

Gly-Gly-Ser;

SerGlyGly;

Gly-Gly Gly Ser (SEQ ID NO: 19);

Ser-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 20);

GlyGly-GlyGlySer (SEQ ID NO: 21);

5 Ser-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 22);

Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO: 23);

Ser-GlyGlyGlyGly-Gly (SEQ ID NO: 24);

GlyGly-Gly-Gly-Gly-GlySer (SEQ ID NO: 25);

Ser-Gly-GlyGly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 26);

10 (GlyGly-GlyGlySer (SEQ ID NO: 21))_n; y

(Ser-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 22)),

donde n es un número entero de 1 o más.

15 La secuencia de aminoácidos de un enlazador peptídico puede seleccionarse adecuadamente por los expertos en la técnica de acuerdo con el fin. Por ejemplo, el "n" mencionado anteriormente, que determina la longitud del enlazador peptídico, es usualmente 1 a 5, preferiblemente 1 a 3 y más preferiblemente 1 o 2.

20 Los enlazadores sintéticos (agentes de reticulación química) incluyen agentes de reticulación que se utilizan normalmente para reticular péptidos, por ejemplo, N-hidroxi succinimida (NHS), suberato de disuccinimidilo (DSS), bis(sulfosuccinimidil)suberato (BS3), ditiobis(propionato de succinimidilo) (DSP), ditiobis(propionato de sulfosuccinimidilo) (DTSSP), etilenglicolbis(succinato de succinimidilo) (EGS), etilenglicolbis(succinato de sulfosuccinimidilo) (sulfo-EGS), tartrato de disuccinimidilo (DST), tartrato de disulfosuccinimidilo (sulfo-DST), bis[2-(succinimido oxicarbonilo)etil]sulfona (BSOCOES) y bis[2-(sulfosuccinimido oxicarbonilo)etil]sulfona (sulfo-BSOCOES). Estos agentes de reticulación se encuentran comercialmente disponibles.

Cuando se unen cuatro regiones variables del anticuerpo, se necesitan usualmente tres enlazadores. Dichos enlazadores múltiples pueden ser iguales o diferentes.

25 Los anticuerpos incluyen anticuerpos en los que se agregaron uno o más aminoácidos a la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo. Adicionalmente, las proteínas de fusión que son el resultado de una fusión entre los anticuerpos anteriores y un segundo péptido o proteína se incluyen en la presente descripción. Las proteínas de fusión pueden prepararse mediante el enlace de un polinucleótido que codifica un anticuerpo con un polinucleótido que codifica un segundo péptido o polipéptido en marco, mediante la inserción de este en un vector de expresión y la expresión de la construcción de fusión en un hospedador. Algunas técnicas conocidas por los expertos en la técnica se encuentran disponibles para este fin. El péptido o polipéptido compañero a ser fusionado con un anticuerpo puede ser un péptido conocido, por ejemplo, FLAG (Hopp, T. P. *et al.*, BioTechnology 6, 1204-1210 (1988)), 6x His que consiste en seis residuos de His (histidina), 10x His, hemaglutinina (HA) de influenza, fragmento de c-myc humano, fragmento VSV-GP, fragmento p18VIH, etiqueta T7, etiqueta HSV, etiqueta E, fragmento de antígeno SV40 T, etiqueta Ick, fragmento de α -tubulina, etiqueta B, fragmento de proteína C, Stag, StrepTag, HaloTag. Otros polipéptidos compañeros a ser fusionados con los anticuerpos incluyen, por ejemplo, GST (glutathione-S- transferasa), HA (hemaglutinina de influenza), región constante de inmunoglobulina, β - galactosidasa y MBP (proteína de unión a maltosa). Un polinucleótido que codifica uno de estos péptidos o polipéptidos comercialmente disponibles pueden fusionarse con un polinucleótido que codifica un anticuerpo. El polipéptido de fusión puede prepararse mediante la expresión de la construcción de fusión.

45 Adicionalmente, los anticuerpos pueden ser anticuerpos conjugados que se unen a cualquiera de las diversas moléculas que incluyen sustancias poliméricas tales como polietilenglicol (PEG) y ácido hialurónico, sustancias radioactivas, sustancias fluorescentes, sustancias luminiscentes, enzimas y toxinas. Dichos anticuerpos conjugados pueden obtenerse mediante la modificación química de los anticuerpos obtenidos. Los métodos para modificar los anticuerpos se establecen en el campo (por ejemplo, US 5057313 y US 5156840). Los "anticuerpos" también incluyen dichos anticuerpos conjugados.

50 Adicionalmente, los anticuerpos utilizados en la presente invención pueden ser anticuerpos biespecíficos. El anticuerpo biespecífico hace referencia a un anticuerpo que tiene regiones variables que reconocen epítopos diferentes en la misma molécula de anticuerpo. Los anticuerpos biespecíficos pueden reconocer diferentes epítopos en la molécula de polipéptido de fusión de la presente invención o reconocen el polipéptido de fusión de la presente invención con un sitio de unión al antígeno y una sustancia diferente con el otro sitio de unión al antígeno.

Los métodos para producir anticuerpos biespecíficos son conocidos. Los anticuerpos biespecíficos pueden prepararse, por ejemplo, mediante el enlace de dos anticuerpos que reconocen diferentes antígenos. Los anticuerpos a enlazarse entre sí pueden ser mitades de moléculas, cada una de las cuales contiene una cadena H y una cadena L o cuartos de molécula que consisten en solamente una cadena H. Alternativamente, los hibridomas que producen diferentes anticuerpos monoclonales pueden fusionarse para producir una célula fusionada que produce un anticuerpo biespecífico. Adicionalmente, los anticuerpos biespecíficos pueden producirse mediante técnicas de modificación genética.

Los anticuerpos pueden diferir en una secuencia de aminoácidos, peso molecular, punto isoeléctrico, presencia/ausencia de cadenas de azúcar y conformación dependiendo de la célula u hospedador que produce el anticuerpo o el método de purificación como se describe más adelante. Sin embargo, se incluye un anticuerpo resultante, siempre y cuando sea funcionalmente equivalente a un anticuerpo descrito. Por ejemplo, cuando un anticuerpo se expresa en células procariotas, por ejemplo *E. coli*, se agrega un residuo de metionina al extremo N de la secuencia de aminoácidos del anticuerpo original. Dichos anticuerpos se incluyen en la presente descripción.

Los anticuerpos pueden ser anticuerpos con cadenas de azúcar alteradas. Los métodos para la modificación de las cadenas de azúcar de anticuerpo son conocidos por los expertos en la técnica e incluyen, por ejemplo, métodos para mejorar el ADCC mediante la modificación de la glicosilación del anticuerpo, métodos para ajustar el ADCC mediante la presencia o ausencia de fucosa en las cadenas de azúcar del anticuerpo, métodos para preparar anticuerpos que tienen cadenas de azúcar que no contienen fucosa de núcleo α -1,6 mediante la producción de anticuerpos en células YB2/0 y métodos para agregar azúcar que tienen GlcNAc bisecante (WO 99/54342; WO 00/61739; WO 02/31140; WO 02/79255, etc.).

Los anticuerpos pueden producirse mediante métodos conocidos a través del uso, como un inmunogen, de un polipéptido de fusión de la presente invención (derivado de mamíferos tales como seres humanos y ratones) o un fragmento de los mismos. Específicamente, se inmunizan mamíferos no humanos mediante un método de inmunización conocido, a través del uso de, como un antígeno de sensibilización, un antígeno o células deseados que expresan un antígeno deseado. Las células inmunes preparadas a partir de animales inmunizados se fusionan con células originales conocidas mediante un método de fusión celular general. Las células de producción de anticuerpos monoclonales resultantes (hibridomas) se clasifican mediante métodos de selección generales y se preparan anticuerpos monoclonales mediante el cultivo de las células.

Los mamíferos no humanos a ser inmunizados incluyen, por ejemplo, animales tales como ratones, ratas, conejos, ovejas, monos, cabras, burros, vacas, caballos y cerdos. El antígeno puede prepararse mediante el uso de un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión de la presente invención de acuerdo con métodos conocidos, por ejemplo, mediante métodos que utilizan baculovirus (por ejemplo, WO 98/46777) o similares.

Los hibridomas pueden prepararse, por ejemplo, de acuerdo con el método de Milstein *et al.* (Kohler, G. y Milstein, C., *Methods Enzymol.* (1981) 73: 3-46) o similares. Cuando la inmunogenicidad de un antígeno es baja, puede llevarse a cabo la inmunización luego de la unión del antígeno con una macromolécula que tiene inmunogenicidad, tal como albúmina.

En una realización, los anticuerpos que se unen a los polipéptidos de fusión de la presente invención incluyen anticuerpos monoclonales que se unen a los polipéptidos de fusión de la presente invención. Los inmunogenes para preparar los anticuerpos monoclonales que tienen actividad de unión a un polipéptido de fusión de la presente invención no se encuentran particularmente limitados, siempre y cuando puedan prepararse anticuerpos tengan actividad de unión al polipéptido de fusión de la presente invención. Es posible utilizar, como un inmunogen, por ejemplo, un polipéptido de fusión de tipo salvaje o un péptido de un fragmento del mismo o un polipéptido obtenido mediante la adición de una mutación artificial en un polipéptido de fusión de tipo salvaje.

Mientras tanto, la actividad de un anticuerpo para unirse a un polipéptido de fusión de la presente invención puede evaluarse mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica.

Mientras tanto, también pueden obtenerse anticuerpos monoclonales mediante inmunización de ADN. La inmunización de ADN es un método en el que un vector de ADN construido de forma tal que puede expresarse un gen que codifica la proteína de antígeno en un animal a ser inmunizado se administra al animal y el inmunogen es expresado dentro del cuerpo del animal para proporcionar inmunoestimulación. En comparación con métodos de inmunización comunes en función de administración de antígenos de proteínas, se espera que la inmunización de ADN sea ventajosa porque:

- permite la inmunoestimulación mientras que retiene la estructura de una proteína de membrana; y
- el inmunogen no necesita purificarse.

Con el fin de obtener anticuerpos monoclonales mediante inmunización de ADN, en primer lugar, se administra un polinucleótido que codifica un polipéptido de fusión de la presente invención a un animal a ser inmunizado. El polinucleótido que codifica un polipéptido de fusión de la presente invención puede sintetizarse de acuerdo con un

método descrito anteriormente mediante técnicas tales como PCR. El ADN resultante (polinucleótido) se inserta en un vector de expresión adecuado y luego se administra a un animal a ser inmunizado. El vector de expresión incluye cualquier vector descrito anteriormente (por ejemplo, el vector de expresión comercialmente disponible tal como pcDNA3.1). Los vectores pueden administrarse a un cuerpo vivo mediante métodos comúnmente utilizados. Por ejemplo, puede llevarse a cabo la inmunización del ADN, por ejemplo, mediante el uso de una pistola génica para inyectar partículas de oro inmovilizadas con un vector de expresión en las células. Un método preferido para la obtención de anticuerpos monoclonales es llevar a cabo una inmunización de refuerzo con células que expresan el polipéptido de fusión de la presente invención luego de la inmunización de ADN.

Una vez que el mamífero se inmuniza como se describe anteriormente y que se confirma el aumento del nivel en suero de un anticuerpo deseado, se recolectan las células inmunes del mamífero y se someten a una fusión celular. Las células inmune preferidas son células del bazo en particular.

Las células de mieloma de mamífero se utilizan para la fusión con las células inmunes anteriores. Se prefiere que las células de mieloma tengan marcadores de selección adecuados para la selección. El marcador de selección hace referencia a un fenotipo que permite (o no permite) la supervivencia en condiciones de cultivo particulares. Los marcadores de selección conocidos incluyen deficiencia de hipoxantina-guanina-dosdorrribosiltransferasa (en adelante abreviada como "deficiencia de HGPRT") y deficiencia de timidina cinasa (de aquí en adelante abreviada como "deficiencia de TK"). Las células con deficiencia de HGPRT o TK exhiben una sensibilidad a hipoxantina-aminopterina-timidina (en adelante abreviada como "sensibilidad HAT"). En el medio de selección de HAT, las células sensibles a HAT no pueden sintetizar el ADN y por lo tanto mueren. Sin embargo, cuando se fusionan con células normales, pueden continuar sintetizando el ADN mediante la vía salvaje de las células normales y, de esta manera, pueden cultivarse incluso en un medio de selección HAT.

Las células con deficiencia de HGPRT o TK pueden seleccionarse mediante el uso de un medio que contiene 6-tioguanina, 8-azaguanina (en adelante abreviado como "8AG") o 5'-bromodesoxiuridina. Mientras que las células normales mueren debido a la incorporación de estos análogos de la pirimidina en el ADN, las células que no tienen estas enzimas pueden sobrevivir en el medio de selección dado que no incorporan estos análogos de pirimidina. Otro marcador de selección denominado resistencia G418 confiere resistencia a los antibióticos de 2-desoxiestreptamina (análogos de gentamicina) debido al gen de resistencia a la neomicina. Se conocen varias células de mieloma adecuadas para la fusión celular.

La fusión celular entre las células inmunitarias y células de mieloma puede llevarse a cabo esencialmente de acuerdo con métodos conocidos, por ejemplo, el método Kohler y Milstein *et ál.* (Kohler, (Kohler, G. y Milstein, C., *Methods Enzymol.* (1981) 73, 3-46).

Más específicamente, la fusión celular puede llevarse a cabo, por ejemplo, en un medio de cultivo común en presencia de un agente que promueve la fusión. El agente que promueve la fusión incluye, por ejemplo, polietilenglicol (PEG) y el virus Sendai (HVJ). De ser necesario, también puede agregarse un agente auxiliar tal como sulfóxido de dimetilo para mejorar la eficacia de fusión.

Las células inmunes y las células de mieloma pueden usarse en una proporción determinada de forma arbitraria. Por ejemplo, la proporción de células inmunes a las células de mieloma son preferiblemente de 1 a 10. El medio de cultivo a utilizar para la fusión celular incluye, por ejemplo, medios que son adecuados para el crecimiento celular de la línea celular de mieloma, tal como RPMI1640 y MEM, y otros medios de cultivo comunes utilizados para este tipo de cultivo celular. Además, el medio de cultivo también puede ser complementado con un complemento de suero tal como suero fetal bovino (FCS, por sus siglas en inglés).

Las cantidades predeterminadas de células inmunes y células de mieloma se mezclan de forma satisfactoria en el medio de cultivo y luego se mezclan con una solución de PEG precalentada a hasta aproximadamente 37 °C para producir células de fusión (hibridomas). En el método de fusión celular, por ejemplo, puede agregarse PEG con peso molecular promedio de aproximadamente 1000-6000 a las células típicamente en una concentración de 30 % a 60 % (p/v). Luego, se repite la adición sucesiva del medio de cultivo adecuado enumerado anteriormente y la eliminación del sobrenadante mediante centrifugación para eliminar el agente de fusión celular, y similares, que son desfavorables para el crecimiento de hibridomas.

Los hibridomas resultantes pueden seleccionarse mediante el uso de un método de selección de acuerdo con el marcador de selección contenido en las células de mieloma utilizado en la fusión celular. Por ejemplo, las células deficientes HGPRT o TK pueden seleccionarse mediante el cultivo de estas en un medio HAT (un medio que contiene hipoxantina, aminopterina y timidina). Específicamente, cuando las células de mieloma sensibles a HAT se utilizan en la fusión celular, las células fusionadas exitosamente con células normales pueden crecer de forma selectiva en el medio HAT. El cultivo celular que utiliza el medio HAT anterior continúa durante un período de tiempo suficiente para permitir que la totalidad de las células, salvo los hibridomas deseados (células no fusionadas), mueran. Específicamente, en general, los hibridomas deseados pueden seleccionarse mediante el cultivo de las células durante varios días a varias semanas. Luego, puede llevarse a cabo la selección y la clonación única de hibridomas que producen un anticuerpo de interés mediante métodos de dilución limitante comunes.

La selección y clonación única de un anticuerpo de interés puede llevarse a cabo adecuadamente mediante métodos de selección conocidos en función de una reacción de antígeno-anticuerpo. Por ejemplo, un antígeno se une a un portador de forma tal que las esferas de poliestireno o similar y placas de microtitulación de 96 pocillos comercialmente disponibles y luego se hace reaccionar con el sobrenadante de cultivo de hibridoma. Luego, el portador se lava y luego se hace reaccionar con un anticuerpo secundario etiquetado con una enzima o similar. Cuando el sobrenadante del cultivo contiene un anticuerpo de interés reactivo al antígeno de sensibilización, el anticuerpo secundario se une al portador mediante este anticuerpo. Finalmente, el anticuerpo secundario unido al portador es detectado para determinar si el sobrenadante del cultivo contiene el anticuerpo de interés. Los hibridomas que producen un anticuerpo deseado capaz de unirse al antígeno puede clonarse mediante el método de dilución limitante, o similares.

Además del método descrito anteriormente para preparar hibridomas a través de la inmunización de un animal no humano con un antígeno, los anticuerpos de interés también pueden obtenerse mediante los linfocitos humanos de sensibilización con un antígeno. Específicamente, en primer lugar, los linfocitos humanos son sensibilizados con el polipéptido de fusión de la presente invención *in vitro*. Luego, los linfocitos de sensibilización se fusionan con un compañero de fusión adecuado. Por ejemplo, pueden usarse células de mieloma derivadas de seres humanos con la capacidad de dividirse permanentemente como el compañero de fusión (ver JP-B (Kokoku) H01-59878). Los anticuerpos obtenidos mediante este método son anticuerpos humanos que tienen una actividad de unión al polipéptido de fusión de la presente invención.

La secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo que se une al polipéptido de fusión de la presente invención obtenido mediante el método descrito anteriormente o similar, y su secuencia de aminoácidos, puede obtenerse mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica.

En función de la secuencia obtenida del anticuerpo que se une al polipéptido de fusión de la presente invención, el anticuerpo que se une al polipéptido de fusión de la presente invención puede prepararse mediante técnicas de recombinación genética conocidas por aquellos expertos en la técnica. Específicamente, un polinucleótido que codifica un anticuerpo puede construirse en función de la secuencia del anticuerpo que reconoce los polipéptidos de fusión de la presente invención, insertadas en un vector de expresión, y luego expresados en células hospedadoras adecuadas (ver, por ejemplo, Co, M. S. *et al.*, J. Immunol. (1994) 152, 2968-2976; Better, M. y Horwitz, A. H., Methods Enzymol. (1989) 178, 476-496; Pluckthun, A. y Skerra, A., Methods Enzymol. (1989) 178, 497-515; Lamoyi, E., Methods Enzymol. (1986) 121, 652- 663; Rousseaux, J. *et al.*, Methods Enzymol. (1986) 121, 663-669; Bird, R. E. y Walker, B. W., Trends Biotechnol. (1991) 9, 132-137).

Los vectores incluyen vectores M13, vectores pUC, pBR322, pBluescript y pCR-Script. Alternativamente, cuando se dirigen a subclonar y extraer el ADNc, los vectores incluyen, por ejemplo, pGEM-T, pDIRECT y pT7, además de los vectores descritos anteriormente. Los vectores de expresión son particularmente útiles cuando se utilizan vectores para producir los anticuerpos. Por ejemplo, cuando se dirigen para la expresión en *E. coli* tal como JM109, DH5 α , HB101 y XL1-Blue, los vectores de expresión no solamente tienen las características descritas anteriormente que permiten la amplificación del vector en *E. coli*, sino que también deben tener un promotor que permitan una expresión eficaz en *E. coli*, por ejemplo, el promotor lacZ (Ward *et al.*, Nature (1989) 341, 544-546; FASEB J. (1992) 6, 2422-2427), el promotor araB (Better *et al.*, Science (1988) 240, 1041- 1043), promotor T7 o similares. Dichos vectores incluyen pGEX-5X-1 (Pharmacia), "sistema Qlaexpress" (Qiagen), pEGFP o pET (en este caso, el hospedador es preferiblemente BL21 que expresa ARN polimerasa T7) además de los vectores descritos anteriormente.

Los vectores pueden contener secuencias de señal para la secreción de anticuerpos. Como una secuencia de señal para la secreción de anticuerpos, puede utilizarse una secuencia de señal pelB (Lei, S. P. et al. J. Bacteriol. (1987) 169, 4379) cuando se secreta una proteína en el periplasma de *E. coli*. El vector puede introducirse en células hospedadoras mediante cloruro de calcio o métodos de electroforación, por ejemplo.

Además de los vectores para *E. coli*, los vectores para producir los anticuerpos incluyen vectores de expresión de mamíferos (por ejemplo, pcDNA3 (Invitrogen), pEF- BOS (Nucleic Acids. Res. 1990, 18(17), p5322), pEF y pCDM8), vectores de expresión derivados de células de insectos (por ejemplo, el "sistema de expresión de baculovirus Bacto-BAC" (Gibco-BRL) y pBacPAK8), los vectores de expresión derivados de plantas (por ejemplo, pMH1 y pMH2), vectores de expresión derivados de virus animales (por ejemplo, pHSV, pMV y pAdexLcw), vectores de expresión retrovirales (por ejemplo, pZIPneo), vectores de expresión de levaduras (por ejemplo, "Pichia Expression Kit" (Invitrogen), pNV11, y SP-Q01), y los vectores de expresión *Bacillus subtilis* (por ejemplo, pPL608 y pKTH50), por ejemplo.

Cuando se dirigen a la expresión en células animales tales como células CHO, COS y NIH3T3, los vectores deben tener un promotor fundamental para la expresión en células, por ejemplo, promotor SV40 (Mulligan *et al.*, Nature (1979) 277, 108), promotor MMLV-LTR, promotor EF1 α (Mizushima *et al.*, Nucleic Acids Res. (1990) 18, 5322), y un vector CMV, y, más preferiblemente, tienen un gen para la selección de células transformadas (por ejemplo, un gen de resistencia al fármaco que permite la evaluación mediante el uso de un agente (neomicina, G418 o similares)). Los vectores con dichas características incluyen pMAM, pDR2, pBK-RSV, pBK-CMV, pOPRSV y pOP13, por ejemplo.

Además, el método a continuación puede usarse para una expresión génica y amplificación génica estable en células: se introducen células CHO con deficiencia en la vía de síntesis de ácido nucleico con un vector (por ejemplo, pSV2-dhfr ("Molecular Cloning 2.^a edición", Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)) que porta un gen DHFR que compensa la deficiencia, y el vector se amplifica mediante el uso de metotrexato (MTX).
 5 Alternativamente, puede usarse el siguiente método para la expresión génica transitoria: células COS con una gen que expresa el antígeno SV40 T en su cromosoma se transforman con un vector (pcD y similares) con un origen de replicación SV40. Los orígenes de replicación derivados del virus polioma, adenovirus, virus del papiloma bovino (BPV, por su siglas en inglés) y similares también pueden usarse. Para amplificar la cantidad de copias génicas en
 10 células hospedadoras, los vectores de expresión pueden tener adicionalmente marcadores de selección como un gen aminoglicósido transferasa (APH), gen de cinasa timidina (TK), gen de xantina-guanina fosforribosiltransferasa (Ecogpt) de E. coli y gen de dihidrofolato reductasa (dhfr).

Los anticuerpos obtenidos mediante los métodos descritos anteriormente pueden aislarse del interior de las células hospedadoras o del exterior de las células (el medio, o similares) y purificados hasta lograr homogeneidad. Los anticuerpos pueden aislarse y purificarse mediante métodos comúnmente utilizados para aislar y purificar
 15 anticuerpos y el tipo de método no se ve limitado. Por ejemplo, los anticuerpos pueden aislarse y purificarse mediante la selección y combinación adecuada de cromatografía en columna, filtración, ultrafiltración, precipitación salina, precipitación en solvente, extracción en solvente, destilación, inmunoprecipitación, electroforesis en gel de SDS-poliacrilamida, isoelectroenfoque, diálisis, recristalización y similares.

Las cromatografías incluyen, por ejemplo, cromatografía de afinidad, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía hidrofóbica, filtración en gel, cromatografía de fase inversa y cromatografía de adsorción (Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual. Ed Daniel R. Marshak et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996). Los métodos cromatográficos descritos anteriormente pueden llevarse a cabo mediante el uso de cromatografía líquida, por ejemplo, HPLC y FPLC. Las columnas que pueden usarse para la cromatografía de afinidad incluyen columnas de proteína A y columnas de proteína G. Las columnas que usan
 20 proteína A incluyen, por ejemplo, Hyper D, POROS y Sepharose FF (GE Amersham Biosciences). La presente descripción incluye anticuerpos que se purifican en gran medida mediante el uso de estos métodos de purificación.

La actividad de unión del polipéptido de fusión de la presente invención de los anticuerpos obtenidos puede determinarse mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica. Los métodos para determinar la actividad de unión al antígeno de un anticuerpo incluyen, por ejemplo, ELISA (ensayo inmunoabsorbente unido a enzimas), EIA (inmunoensayo de enzimas), RIA (radioinmunoensayo) y método de anticuerpo fluorescente. Por ejemplo,
 30 cuando se utiliza el inmunoensayo de enzimas, las muestras que contienen anticuerpos, tales como anticuerpos purificados y sobrenadantes de cultivo de células de producción de anticuerpos se agregan a las placas recubiertas con antígeno. Un anticuerpo secundario etiquetado con una enzima, tal como fosfatasa alcalina, se agrega y las placas se incuban. Luego de lavar, un sustrato de enzimas, tal como fosfato de p-nitrofenilo, se agrega y la absorbancia se mide para evaluar la actividad de unión al antígeno.

En la presente invención, "cáncer" generalmente hace referencia a neoplasia maligna que puede ser metastásica o no metastásica. Por ejemplo, los ejemplos no taxativos del cáncer que se desarrolla a partir de tejidos epiteliales tal como el tracto gastrointestinal y la piel incluyen tumores cerebrales, cáncer de piel, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de esófago, cáncer de pulmón, cáncer gástrico, cáncer duodenal, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer cervical, cáncer del cuerpo uterino, cáncer pancreático, cáncer de hígado, cáncer colorrectal, cáncer de colon, cáncer de vejiga y cáncer de ovario. Mientras tanto, los ejemplos no taxativos de sarcoma que se desarrolla a partir de tejidos no epiteliales (estroma) tales como músculos incluyen, osteosarcoma, condrosarcoma, rhabdomyosarcoma, leiomyosarcoma, liposarcoma y angiosarcoma. Adicionalmente, los ejemplos no taxativos de cáncer hematológico derivados de órganos hematopoiéticos incluyen linfoma maligno que incluyen linfoma de Hodgkin y linfoma no Hodgkin que incluye leucemia mielocítica aguda, leucemia mielocítica crónica, leucemia linfática aguda y leucemia linfática crónica, y mieloma múltiple.
 40
 45

En la presente invención, el cáncer incluye cualquier tumor de tejido patológico recién desarrollado (neoplasma). En la presente invención, el neoplasma conduce a la formación de un tumor que se caracteriza mediante la neovascularización parcial. La neoplasia puede ser benigna, por ejemplo, angioma, glioma o teratoma, o maligna, por ejemplo, cáncer, sarcoma, tumor glial, astrocitoma, neuroblastoma y retinoblastoma.
 50

En la presente invención, los ejemplos preferidos de cáncer incluyen cáncer de vejiga, tumor cerebral, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de pulmón, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de células escamosas del pulmón, melanoma de piel, cáncer de esófago, cáncer gástrico y cáncer de hígado.

En la presente invención, "tejido canceroso" hace referencia a un tejido que contiene al menos una célula cancerosa. Por ejemplo, ya que los tejidos cancerosos pueden contener células cancerosas y vasos sanguíneos, el tejido canceroso hace referencia a la totalidad de tipos de células que contribuyen a la formación de una masa tumoral que contiene células cancerosas y células endoteliales. En la presente memoria, la masa tumoral hace referencia a focos de tejido tumoral. El término "tumor" es generalmente utilizado para hacer referencia a una neoplasia benigna o maligna.
 55

En la presente invención, la composición farmacéutica hace referencia, en general, a un agente farmacéutico para el tratamiento, prevención o examinación/diagnóstico de enfermedades.

Las composiciones farmacéuticas pueden formularse mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, pueden usarse de forma parenteral en una forma inyectable de soluciones o suspensiones estériles que incluyen agua u otro líquido farmacéuticamente aceptable. Por ejemplo, dichas composiciones pueden formularse mediante la mezcla en una forma de dosis unitaria exigida por la práctica de fabricación farmacéutica generalmente aprobada, mediante la combinación adecuada con portadores o medios farmacológicamente aceptables, específicamente agua estéril, salmuera fisiológica, aceite vegetal, emulsionante, suspensión, tensioactivo, estabilizador, agente saborizante, excipiente, vehículo, conservante, aglutinante o similares. La cantidad de ingrediente activo en dichas formulaciones se ajusta de forma tal que puede obtenerse una cantidad adecuada dentro de un intervalo específico.

Las composiciones estériles para la inyección pueden formularse de acuerdo con la práctica de formulación general mediante el uso de vehículos tal como agua destilada para inyección. Las soluciones acuosas para la inyección incluyen, por ejemplo, salmuera fisiológica y soluciones isotónicas que contienen glucosa u otros adyuvantes (p. ej., D-sorbitol, D-manosa, D-manitol y cloruro de sodio). Estos pueden usarse en combinación con solubilizantes adecuados, por ejemplo, alcohol (etanol, etc.), polialcohol (propilenglicol, polietilen glicol, etc.) y detergentes no iónicos (Polysorbate 80™, HCO-50, etc.).

Los aceites incluyen aceite de sésamo y aceites de soja. Pueden usarse benzoato de bencilo y/o alcohol bencílico en combinación con solubilizantes. También es posible combinar amortiguadores (por ejemplo, un amortiguador de fosfato y un amortiguador acetato de sodio), agentes suavizantes (por ejemplo, clorhidrato de procaína), estabilizadores (por ejemplo, alcohol bencílico y fenol) y/o antioxidantes. Se llenan ampollas adecuadas con las inyecciones preparadas.

Las composiciones farmacéuticas son preferiblemente administradas de forma parenteral. Por ejemplo, las composiciones se administran en una forma inyectable o en una forma para la administración transnasal, administración transpulmonar o administración transdérmica. Por ejemplo, pueden administrarse de forma sistemática o local mediante inyección intravenosa, inyección intramuscular, inyección intraperitoneal, inyección subcutánea o similar.

Los métodos de administración pueden seleccionarse de forma adecuada tomando en consideración la edad y los síntomas del paciente. La dosis de una composición farmacéutica que contiene una molécula de unión al antígeno puede ser, por ejemplo, 0,0001 mg a 1000 mg/kg para cada administración. Alternativamente, la dosis puede ser, por ejemplo, 0,001 a 100.000 mg por paciente. Sin embargo, la presente invención no se limita a los valores numéricos descritos anteriormente. La dosis y el método de administración varían de acuerdo con el peso, la edad, los síntomas y similares del paciente. Los expertos en la técnica pueden establecer una dosificación adecuada y el método de administración tomando en consideración los factores descritos anteriormente.

Los aminoácidos en las secuencias de aminoácidos descritos en la presente memoria pueden modificarse luego de la traducción (por ejemplo, modificación de glutamina del extremo N en ácido piroglutámico mediante piroglutamilación es conocida por los expertos en la técnica).

En cuanto al curso, dichos aminoácidos modificados de forma postransduccional son también incluidos en las secuencias de aminoácidos de la presente invención.

La presente invención también se relaciona con métodos para la detección de un polipéptido de fusión de la presente invención o un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión en muestras de sujetos (que incluyen pacientes de cáncer y personas saludables).

La presente o ausencia de un polipéptido de fusión de la presente invención en una muestra de un sujeto puede evaluarse y determinarse, por ejemplo, mediante el uso de la reacción antígeno-anticuerpo que se lleva a cabo mediante el contacto de un anticuerpo descrito anteriormente o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une a un polipéptido de fusión de la presente invención con una muestra (tejido tumoral, tejido normal y varios especímenes de fluido corporal que contienen células cancerosas o normales (sangre, suero, orina, saliva, ascitis, efusión pleural, etc.)) recolectados de un sujeto (paciente con cáncer, persona que puede estar afectada por el cáncer, persona con riesgo de contraer cáncer o persona saludable; sin embargo, no se limita a un ser humano).

El antígeno (es decir, un polipéptido de fusión de la presente invención) en una reacción de antígeno-anticuerpo puede detectarse, por ejemplo, mediante el uso de un inmunoensayo convencional.

En la presente invención, el inmunoensayo hace referencia a un método para detectar un polipéptido de fusión de la presente invención en una muestra (tejido tumoral, tejido normal y varios especímenes de fluidos corporales que contienen células cancerosas o normales (sangre, suero, orina, saliva, ascitis, efusión pleural, etc.)) en función del mecanismo de reacción entre un antígeno (es decir, un polipéptido de fusión de la presente invención) y un anticuerpo que se une al antígeno o un fragmento de unión al anticuerpo del mismo. Cualquier inmunoensayo se incluye en la presente invención siempre y cuando sea un método que pueda detectar los polipéptidos de fusión de

la presente invención.

Para el inmunoensayo en la presente invención, por ejemplo, pueden aplicarse los principios de varios métodos tales como los descritos en "Kousou Men-eki Sokutei Hou (Enzyme immunoassay)" (3.^a ed., eds., Eiji Ishikawa et ál., Igakushoin, 1987). Específicamente, estos diversos métodos pueden llevarse a cabo mediante el uso de uno o más anticuerpos que se unen a un antígeno de interés para capturar (atrapar) el antígeno para ser detectado en una muestra.

Los principios aplicables preferiblemente incluyen, por ejemplo, los métodos de fase sólida del anticuerpo simple, métodos de fase líquida de anticuerpo doble, métodos de fase sólida de anticuerpo doble, métodos sándwich y métodos de un solo proceso tal como los descritos en JP-B (Kokoku) H02-39747. Mientras tanto, los ensayos en función de la reacción de antígeno-anticuerpo también incluyen la técnica inmunoensayo enzimático multiplicado (EMIT, por sus siglas en inglés), inmunoensayo enzimático canalizado (EMMIA, por sus siglas en inglés), inmunoensayo enzimático inhibidor, ensayo inmunoenzimométrico, inmunoensayo enzimático potenciado e inmunoensayo de unión próxima.

En el presente invención, es posible seleccionar y utilizar cualquier principio de inmunoensayo adecuado tal como los descritos anteriormente dependiendo del objetivo de la prueba.

Los inmunoensayos de la presente invención también incluyen métodos sándwich mediante el uso de un anticuerpo etiquetado con biotina o una enzima, y placas de microtitulación de múltiples pocillos que tienen una cantidad de pocillos que incluye una microplaca de 96 pocillos, así como también métodos de un solo proceso mediante el uso de esferas y anticuerpos etiquetados con biotina o enzimas tal como peroxidasa.

Tal como se describe anteriormente, los anticuerpos que se unen a un polipéptido de fusión de la presente invención o fragmentos de unión al antígeno del mismo, que se utilizan en los inmunoensayos de la presente invención, pueden etiquetarse con una sustancia de etiquetado que pueda proporcionar una señal detectable en sí mismo o luego de la reacción con otras sustancias.

Dichas sustancias de etiquetado incluye, por ejemplo, enzimas, sustancias fluorescentes, sustancias quimioluminiscente, biotina, avidina y radioisótopos. Más específicamente, las sustancias incluyen enzimas tal como peroxidasa (p. ej., peroxidasa de rábano picante), fosfatasa alcalina, p-D-galactosidasa, oxidasa de glucosa, de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, alcohol de deshidrogenasa, malato deshidrogenasa, penicilinas, catalasa, apoglucoseoxidasa, ureasa, luciferasa y acetilcolinesterasa; sustancias fluorescentes tales como fluorescina, isotiocianato, ficobiliproteína, quelatos de metales de tierras raras, cloruro de densilo y isotiocianato de tetrametilrodamina; radioisótopos tales como ³H, ¹⁴C, ¹²⁵I y ¹³¹I; biotina; avidina; y sustancias quimioluminiscentes.

Dichos radioisótopos y sustancias fluorescentes pueden proporcionar una señal detectable por sí mismos.

Mientras tanto, las enzimas, las sustancias quimioluminiscentes, biotina y avidina no pueden proporcionar ninguna señal detectable en sí mismos, pero proporciona una señal detectable cuando se hace reaccionar con una o más sustancias diferentes.

Por ejemplo, cuando una enzima se utiliza, al menos un sustrato es necesario. Varios sustratos se utilizan de acuerdo con el tipo del método de ensayo de actividad enzimático (ensayo colorimétrico, ensayos de fluorescencia, ensayo de bioluminiscencia; ensayo de quimioluminiscencia, etc.). Por ejemplo, se utiliza el peróxido de hidrógeno como un sustrato para la peroxidasa. Mientras tanto, la biotina se hace reaccionar generalmente con al menos avidina o avidina modificada por enzimas, pero los sustratos no se limitan a estos. De ser necesario, también es posible utilizar varias sustancias cromogénicas de acuerdo con los sustratos.

La presencia o ausencia de un polinucleótido que codifica un polipéptido de fusión de la presente invención en una muestra de un sujeto puede evaluarse y determinarse, por ejemplo, de acuerdo con métodos de rutina mediante el uso de varios oligonucleótidos (un par de cebadores oligonucleótidos, sondas de oligonucleótidos, etc.) descritos anteriormente, y ARNm, ADNc preparados mediante el uso de ARNm como una plantilla, un ADN genómico, o similar en una muestra (tejido tumoral, tejido normal y varios especímenes de fluidos corporales que contienen células cancerosas o normales (sangre, suero, orina, saliva, ascitis, efusión pleural, etc.)) recolectadas de un sujeto (paciente con cáncer, persona que puede estar afectada por el cáncer, persona en riesgo de contraer cáncer o una persona saludable; sin embargo, no se limita a un humanos) mediante el uso de varios métodos de análisis genético. Dichos métodos de análisis genéticos incluyen, por ejemplo, transferencia Northern, reacción en cadena de la polimerasa (PCR), transferencia Southern, reacción en cadena de la ligasa (LCR), amplificación por desplazamiento de cadena (SDA), amplificación a base de secuencias de ácido nucleico (NASBA), amplificación iniciada mediante un cebador isotérmico y quimérico de ácidos nucleicos (ICAN), amplificación isotérmica mediada en bucle (LAMP), método TMA (sistema TMA de Gen- Probe), micromatrices y un método de secuenciación de última generación.

En estos ensayos, los oligonucleótidos se hibridan a un polinucleótido que codifica un polipéptido de fusión de la presente invención derivada de una muestra. Las condiciones rigurosas deseadas para dicha hibridación incluye, por ejemplo, las condiciones de urea 6 M, SDS al 0,4 %, SSC x 0,5 y 37 °C; y condiciones de hibridación de rigurosidad equivalente. Dependiendo del objetivo, es posible utilizar más condiciones rigurosas, por ejemplo, urea 6 M, SDS al

0.4 % y SSC x 0,1 y 42 °C.

La presente descripción también se relaciona con kits para detectar un polipéptido de fusión de la presente invención o un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión en muestras de sujetos descritos anteriormente (que incluyen pacientes con cáncer y personas saludables).

5 Específicamente, los kits de detección pueden contener un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo descrito anteriormente que se une a un polipéptido de fusión de la presente invención (que incluye anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos etiquetados con varias sustancias de etiquetado descritas anteriormente). Dependiendo del objetivo de cada inmunoensayo describe anteriormente, los kits también contienen varios reactivos de detección (enzimas, sustratos, etc.) y manuales de instrucción.

10 Específicamente, los kits de detección pueden contener diversos oligonucleótidos descritos anteriormente (un par de cebadores de oligonucleótidos, sondas de oligonucleótidos, etc.) que se hibridan a ARNm derivado de un polinucleótido que codifica un polipéptido de fusión de la presente invención, ADNc preparado mediante el uso de ARNm como plantilla, o ADN genómico. De acuerdo con el objetivo de cada análisis genético, los kits también pueden contener diversos reactivos (enzimas, otros oligonucleótidos, ácido nucleico, amortiguador de reacción, etc.) y manuales de instrucción.

La presente invención también se relaciona con métodos para evaluar la susceptibilidad al cáncer de un sujeto, si un sujeto se ve afectado por el cáncer, o si el cáncer progresó en un sujeto en función de la presencia o ausencia de un polipéptido de fusión de la presente invención o un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión en una muestra aislada del sujeto.

20 Específicamente, los métodos de la presente invención incluye métodos para evaluar la susceptibilidad al cáncer de un sujeto, si un sujeto se ve afectado por el cáncer o si el cáncer evolucionó en un sujeto mediante la evaluación/determinación de la presencia o ausencia de un polipéptido de fusión de la presente invención en una muestra (tejido tumoral, tejido normal y varios especímenes de fluido corporal que contienen células cancerosa o normales (sangre, suero, orina, saliva, etc.)) recolectada del sujeto (paciente con cáncer, persona que puede verse afectada con cáncer, persona con el riesgo de contraer cáncer, o persona saludable; sin embargo, no se limita a seres humanos) mediante el uso de los métodos descritos anteriormente y kits para la detección del polipéptido de fusión de la presente invención, en donde el método se basa en el criterio de que un sujeto tiene más posibilidades de desarrollar cáncer cuando se detectó el polipéptido de fusión.

30 Además, los métodos de la presente invención incluye métodos de evaluación la susceptibilidad al cáncer de un sujeto, si un sujeto se ve afectado con cáncer o si el cáncer evolucionó en un sujeto mediante la evaluación/determinación de la presencia o ausencia de un polinucleótido que codifica un polipéptido de fusión de la presente invención en una muestra (tejido tumoral, tejido normal y varios especímenes de fluido corporal que contienen células cancerosa o normales (sangre, suero, orina, saliva, etc.)) recolectada del sujeto (paciente con cáncer, persona que puede verse afectada con cáncer, persona con el riesgo de contraer cáncer, o persona saludable; sin embargo, no se limita a seres humanos) mediante el uso de los métodos descritos anteriormente y kits para la detección del polinucleótido que codifica del polipéptido de fusión de la presente invención, en donde el método se basa en el criterio de que un sujeto tiene más posibilidades de desarrollar cáncer, de ser afectado por el cáncer o sufrir de un cáncer evolucionado cuando se detecta el polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión.

40 La presente invención también se relaciona con métodos para la selección de un paciente al que es aplicable un agente anticancerígeno (como se describe más adelante) que comprende un compuesto que tiene una actividad inhibitoria de FGFR, en función de la presencia o ausencia de un polipéptido de fusión de la presente invención o un polinucleótido que codifica un polipéptido de fusión en una muestra aislada de un sujeto.

45 Específicamente, los métodos de la presente invención incluyen métodos que evalúan/determine la presencia o ausencia de un polipéptido de fusión de la presente invención en una muestra (tejido tumoral, tejido normal y varios especímenes de fluidos corporales que contienen células cancerosas o normales (sangre, suero, orina, saliva, etc.)) recolectados del sujeto (paciente o personas con cáncer que puede estar afectada con cáncer; sin embargo, no se limita al ser humano) mediante el uso de métodos y kits descritos anteriormente para detectar el polipéptido de fusión como un paciente al que un agente anticancerígeno (como se describe más adelante) que comprende un compuesto que tiene una actividad inhibitoria de FGFR es aplicable cuando el polipéptido de fusión de la presente invención.

50 Los métodos de la presente invención incluyen adicionalmente métodos que evalúan/determinen la presencia o ausencia de un polinucleótido que codifica polipéptido de fusión de la presente invención en una muestra (tejido tumoral, tejido normal y varios especímenes de fluidos corporales que contienen células cancerosas o normales (sangre, suero, orina, saliva, etc.)) recolectados del sujeto (paciente con cáncer o personas que pueden estar afectadas por el cáncer; sin embargo, no se limita al ser humano) mediante el uso de métodos y kits descritos anteriormente para detectar el polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión y seleccionar un sujeto como un paciente al que puede aplicársele un agente anticancerígeno (como se describe más adelante) que comprende un compuesto que tiene una actividad inhibitoria de FGFR cuando un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión

de la presente invención.

En la presente invención, "inhibidor de FGFR" y "compuesto que tiene una actividad inhibitoria de FGFR" se utilizan de forma intercambiable y hace referencia a un compuesto que tiene la actividad de inhibición de la actividad del FGFR mencionado anteriormente, específicamente, uno o más FGFR arbitrario que pertenece a la familia de FGFR que comprende FGFR1, FGFR2, FGFR3 y FGFR4, que son receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR) que pertenecen a la familia del receptor de tirosina cinasa. Preferiblemente, hacen referencia a un compuesto que tiene la actividad de inhibición de la actividad de FGFR humana y, más preferiblemente, un compuesto que tiene la actividad de inhibir la actividad de FGFR3 humano que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o 7 (secuencia de ADNc, SEQ ID NO: 10 y 11, respectivamente / n.º de acceso GenBank NM_001163213.1 y NM_000142.4, respectivamente).

Se incluye cualquier inhibidor de FGFR en los inhibidores de FGFR de la presente invención, siempre y cuando los compuestos tengan la actividad de inhibir la actividad de FGFR.

Específicamente, los inhibidores de FGFR de la presente invención incluyen cualquier compuesto, anticuerpo, productos farmacéuticos de ácidos nucleicos (ARNip, ácidos nucleicos antisentido, ribozimas y similares) que tienen un mecanismo de acción de:

(1) inhibir la actividad de la cinasa de FGFR;

(2) inhibir la dimerización entre FGFR, TACC3 y BAIAP2L1;

(3) inhibir la señalización mediada por FGFR (vía MAPK y vía PI3K/AKT) (por ejemplo, inhibidores MEK, inhibidores RAF, inhibidores ERK, inhibidores PI3K, inhibidores mTOR, inhibidores AKT, inhibidores PDK, inhibidores S6K, etc.);

(4) inhibir la expresión de FGFR (por ejemplo, ARNip, inhibidores HSP90, etc.).

Los anticuerpos que tienen la actividad de inhibición de la actividad de FGFR, que se incluyen como inhibidores de FGFR de la presente invención, comprenden anticuerpos identificados mediante los siguientes nombres en código: RG7444, FP-1039, AV370 y PRO-001.

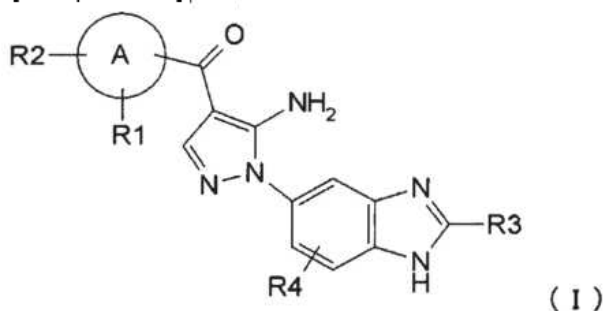
Los compuestos de bajo peso molecular que tiene de la actividad de FGFR, que se incluyen como inhibidores de FGFR de la presente invención, incluyen, por ejemplo:

(1) compuestos descritos en el documento de patente y documentos no relacionados con patentes que siguen: Cancer Research, 2012, 72: 2045-2056; J. Med. Chem., 2011, 54: 7066-7083; publicación internacional WO 2011/016528;

(2) compuestos identificados por los siguientes nombres genéricos o nombres en código: AZD- 4547 (compuesto C en la Tabla 2-1 descrita más adelante), BGJ-398 (compuesto D en la Tabla 2-2 descrita a continuación), LY-2874455, cediranib (AZD2171; compuesto E en Tabla 2-2 descrita anteriormente), PD173074 (compuesto B en la Tabla 2-1 descrita más adelante), regorafenib, ponatinib, orantinib, nintedanib, masitinib, lenvatinib, dovitinib (TKI258; compuesto F en la Tabla 2-2 descrita más adelante), brivanib, volasertib, golvatinib, ENMD-2076, E-3810, XL-999, XL-228, ARQ087, Tivozanib, motesanib y regorafenib; y

(3) compuestos ejemplificados más adelante; sin embargo, los inhibidores de FGFR no se limitan a los mismos:

[Compuesto 1]



en donde R₁, R₂, R₃ y R₄ representan, cada uno, independientemente el grupo enumerado a continuación:

R₁ representa hidrógeno, hidroxilo, halógeno, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, OR₅, -NR₆R₇, - (CR₈R₉)_nZ₁, -C(O)NR₁₂R₁₃, -SR₁₄, -SOR₁₅, -SO₂R₁₆, -

NR₁₇SO₂R₁₈, COOH, arilo C₆₋₁₀ que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra sustituido opcionalmente por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q, -COR₁₉, -COOR₂₀ -OC(O)R₂₁, -NR₂₂C(O)R₂₃, -NR₂₄C(S)R₂₅, -C(S)NR₂₆R₂₇, -SO₂NR₂₈R₂₉, -OSO₂R₃₀, -SO₃R₃₁, o -Si(R₃₂)₃;

- 5 R₂ representa hidrógeno, hidroxilo, halógeno, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, -OR₅, -NR₆R₇, - (CR₈R₉)_nZ₁, -C(O)NR₁₂R₁₃, -SR₁₄, -SOR₁₅, -SO₂R₁₆, -NR₁₇SO₂R₁₈, COOH, arilo C₆₋₁₀ que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q, -COR₁₉, -COOR₂₀, -OC(O)R₂₁, -NR₂₂C(O)R₂₃, -NR₂₄C(S)R₂₅, -C(S)NR₂₆R₂₇, -SO₂NR₂₈R₂₉, -OSO₂R₃₀, -SO₃R₃₁, o -Si(R₃₂)₃; o

R₁ y R₂, junto con un átomo unido a los mismos, forman heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros, en donde el heterociclilo o heteroarilo es opcionalmente sustituido por halógeno;

R₃ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₅, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₆ o haloalquilo C₁₋₄;

- 15 R₄ representa hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₃, haloalquilo C₁₋₄, hidroxilo, ciano, nitro, alcoxi C₁₋₄, -(CH₂)_nZ₁, -NR₆R₇, -OR₅, -C(O)NR₁₂R₁₃, -SR₁₄, -SOR₁₅, -SO₂R₁₆, NR₁₇SO₂R₁₈, COOH, -COR₁₉, -COOR₂₀, -OC(O)R₂₁, -NR₂₂C(O)R₂₃, -NR₂₄C(S)R₂₅, -C(S)NR₂₆R₂₇, -SO₂NR₂₈R₂₉, -OSO₂R₃₀, -SO₃R₃₁, o -Si(R₃₂)₃;

A representa un anillo heteroarilo de 5 a 10 miembros o un anillo arilo C₆₋₁₀;

- 20 R₅ representa alquilo C₁₋₅, cicloalquilo C₃₋₇, cicloalquilo C₃₋₇ alquilo C₁₋₃, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄ alquilo C₁₋₄, aminoalquilo C₁₋₄, alquilamino C₁₋₄ alquilo C₁₋₄, di(alquilo C₁₋₄)amino alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₃ o heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heterociclilo de 3 a 10 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, monohidroxilo alquilo C₁₋₆, dihidroxilo alquilo C₁₋₆ o trihidroxilo alquilo C₁₋₆ que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

- 25 R₆ y R₇, que pueden ser iguales o diferentes, cada uno representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₃, heterociclilo alquilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, monohidroxilo alquilo C₁₋₆, dihidroxilo alquilo C₁₋₆, trihidroxilo alquilo C₁₋₆, heterociclilo de 3 a 10 miembros, aminoalquilo C₁₋₄, alquilamino C₁₋₄ alquilo C₁₋₄, di(alquilo C₁₋₄)amino alquilo C₁₋₄, o ciano(alquilo C₁₋₃); o alternativamente R₆ y R₇, junto con un átomo de nitrógeno unido a los mismos, forman heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros;

n representa 1 a 3;

R₈ y R₉, que pueden ser iguales o diferentes, cada uno representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o halógeno; o alternativamente R₈ y R₉, junto con un átomo de carbono unido a los mismos, forman un anillo cicloalifático;

- 35 Z₁ representa hidrógeno, NR₁₀R₁₁, -OH, o heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

- 40 R₁₀ y R₁₁, que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, ciano(alquilo C₁₋₃), o alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄; o R₁₀ y R₁₁ alternativamente, junto con un átomo de nitrógeno unido a los mismos, forman un heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros;

- 45 R₁₂ y R₁₃, que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, ciano(alquilo C₁₋₃), alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, anillo cicloalifático de 3 a 10 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros; o alternativamente R₁₂ y R₁₃, junto con un átomo de nitrógeno unido a estos, forman un heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

- 50 R₁₄ representa alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

R₁₅ representa alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos

independientemente seleccionados del grupo Q;

R₁₆ representa alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

R₁₇ representa hidrógeno o alquilo C₁₋₄;

R₁₈ representa alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

R₁₉ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ o heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

R₂₀ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

R₂₁ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

R₂₂ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o haloalquilo C₁₋₄;

R₂₃ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclo de 3 a 10 miembros;

R₂₄ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o haloalquilo C₁₋₄;

R₂₅ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

R₂₆ y R₂₇, que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, ciano(alquilo C₁₋₃), alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, o un anillo cicloalifático de 3 a 10 miembros; o alternativamente R₂₆ y R₂₇, junto con un átomo de nitrógeno unido a estos, de heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros.

R₂₈ y R₂₉, que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, ciano(alquilo C₁₋₃), alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, o un anillo cicloalifático de 3 a 10 miembros; o alternativamente R₂₈ y R₂₉, junto con un átomo de nitrógeno unido a los mismos, forman un heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros;

R₃₀ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

R₃₁ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

R₃₂ representa alquilo C₁₋₄ o arilo C₆₋₁₀;

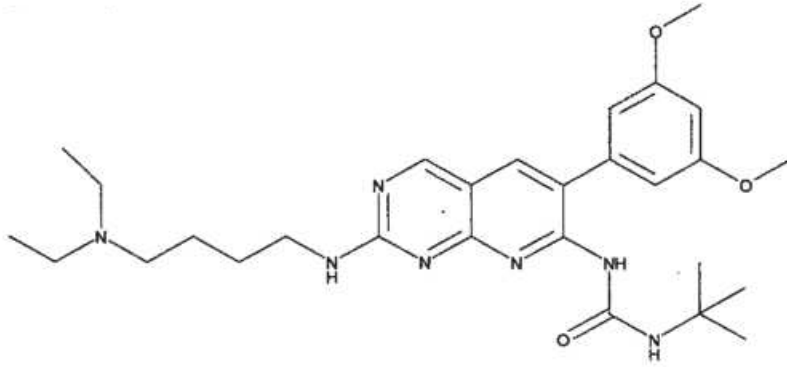
<grupo P>

halógeno, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, -OH, alcoxi C₁₋₃, haloalcoxi C₁₋₃, heterocicilamino de 3 a 10 miembros, -SO₂R₁₆, -CN, -NO₂ y heterociclilo de 3 a 10 miembros;

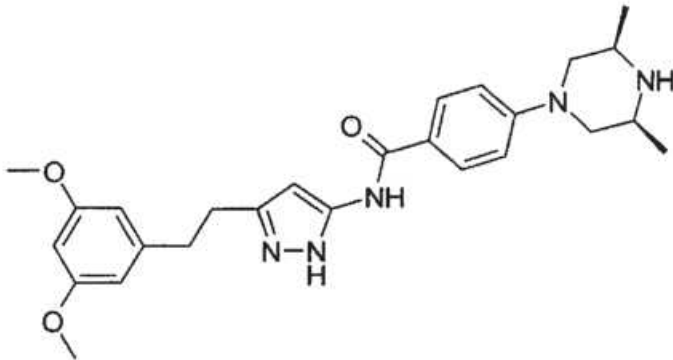
<grupo Q>

halógeno, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, -OH, alcoxi C₁₋₃, monohidroxi alquilo C₁₋₆, dihidroxi alquilo C₁₋₆, trihidroxialquilo C₁₋₆, heterocicil amina de 3 a 10 miembros, -SO₂R₁₆, -CN, -NO₂, cicloalquilo C₃₋₇, -COR₁₉ y heterociclilo de 3 a 10 miembros que es opcionalmente sustituido por alquilo C₁₋₄.

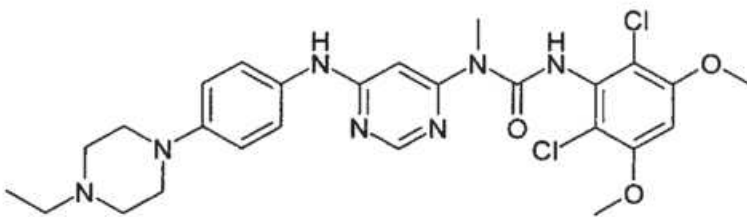
[Compuesto 2]



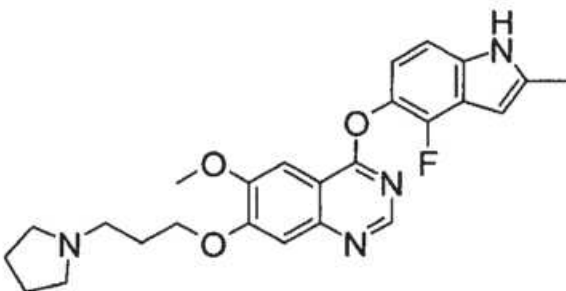
[Compuesto 3]



[Compuesto 4]

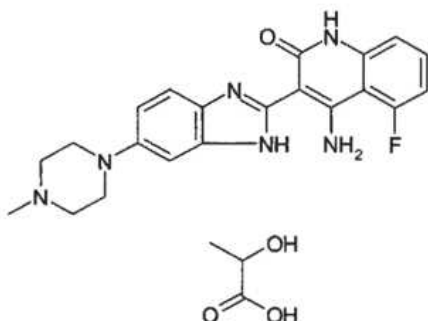


[Compuesto 5]



O

[Compuesto 6]



En la presente memoria, el "alquilo" hace referencia a un grupo monovalente derivado de un hidrocarburo alifático mediante la eliminación de un átomo de hidrógeno arbitrario. No contiene ningún heteroátomo o enlace carbono-carbono no saturado en la estructura principal y tiene un subconjunto de estructuras de grupo de hidrocarburo o hidrocarburo que contienen átomos de hidrógeno y carbono. El grupo alquilo incluye estructuras lineales y ramificadas. Los grupos alquilo preferidos incluyen grupos alquilo con uno a seis átomos de carbono (C₁₋₆; en adelante, "Cp-q" significa que la cantidad de átomos de carbono es p a q), grupos alquilo C₁₋₅, grupos alquilo C₁₋₄ y grupos alquilo C₁₋₃.

Específicamente, el alquilo incluye, por ejemplo, un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo n-propilo, grupo isopropilo, grupo n-butilo, grupo isobutilo, grupo s-butilo, grupo t-butilo, grupo pentilo, grupo isopentilo, grupo 2,3-dimetilpropilo, grupo 3,3-dimetilbutilo y grupo hexilo.

En la presente memoria, "alqueno" hace referencia a un grupo de hidrocarburo monovalente que tiene al menos un enlace doble (dos átomos de carbono SP² adyacentes) e incluye las formas lineales y ramificadas. Dependiendo de la configuración del enlace doble y sustituyentes (de existir), la geometría del enlace doble puede ser entgegen (E) o zusammen (Z), o una configuración cis o trans. Los grupos alqueno preferidos incluyen grupos alqueno C₂₋₆.

Específicamente, el alqueno incluye, por ejemplo, grupo vinilo, grupo alilo, grupo 1-propenilo, grupo 2-propenilo, grupo 1-butenilo, grupo 2-butenilo (que incluye cis y trans), grupo 3-butenilo, grupo pentenilo y grupo hexenilo.

En la presente memoria, "alquino" hace referencia a un grupo de hidrocarburo monovalente que tiene al menos un enlace triple (dos átomos de carbono SP adyacentes) e incluye las formas lineales y ramificadas. Los grupos alquino preferidos incluyen grupos alquino C₂₋₆.

Específicamente, el alquino incluye, por ejemplo, grupo etinilo, grupo 1-propinilo, grupo propargilo, grupo 3-butinilo, grupo pentinilo y grupo hexinilo.

El alqueno y alquino pueden tener, cada uno, dos o más enlaces dobles y enlaces triples.

En la presente memoria, "cicloalquilo" hace referencia a un grupo hidrocarburo alifático monovalente cíclico saturado o parcialmente saturado e incluye grupos monocíclicos, anillos bicílicos y anillos espiro. El cicloalquilo preferido incluye grupos cicloalquilo C₃₋₇. Específicamente, el grupo cicloalquilo incluye, por ejemplo, grupo ciclopropilo, un grupo ciclobutilo, un grupo ciclopentilo, un grupo ciclohexilo y un grupo cicloheptilo.

En la presente memoria, "cicloalquilalquilo" hace referencia a un grupo en el que un átomo de hidrógeno arbitrario de un "alquilo" definido anteriormente se encuentra sustituido con un "cicloalquilo" definido anteriormente. Los grupos cicloalquilalquilo preferidos incluyen cicloalquilo C₃₋₇ alquilo C₁₋₃ y específicamente incluyen, por ejemplo, un grupo ciclopropilmetilo y un grupo ciclopropiletilo.

En la presente memoria, "hetero átomo" hace referencia a un átomo de nitrógeno (N), átomo de oxígeno (O) o átomo de azufre (S).

En la presente memoria, "halógeno" hace referencia a un átomo de flúor, átomo de cloro, átomo de bromo o átomo de yodo.

En la presente memoria, "haloalquilo" hace referencia a un grupo en el que preferiblemente uno a nueve, más preferiblemente uno a cinco "átomos de halógeno" idénticos o diferentes definidos anteriormente se unen a un "alquilo" definido anteriormente.

Específicamente, el haloalquilo incluye, por ejemplo, un grupo clorometilo, grupo diclorometilo, grupo triclorometilo, grupo fluorometilo, grupo difluorometilo, grupo perfluoroalquilo (tal como un grupo trifluorometilo y $-\text{CF}_2\text{CF}_3$) y un grupo 2,2,2-trifluoroetilo.

5 En la presente memoria, "alcoxi" hace referencia a un grupo oxi unido con un "alquilo" definido anteriormente. El alcoxi preferido incluye grupos alcoxi C_{1-4} y grupos alcoxi C_{1-3} . Específicamente, el alcoxi incluye, por ejemplo, un grupo metoxi, un grupo etoxi, un grupo 1-propoxi, grupo 2-propoxi, grupo n-butoxi, un grupo i-butoxi, un grupo sec-butoxi y un grupo terc-butoxi.

10 En la presente memoria, "haloalcoxi" hace referencia a un grupo en el que preferiblemente uno a nueve, más preferiblemente, uno a cinco "átomos de halógeno" idénticos o diferentes definidos anteriormente se unen a un "alcoxi" definido anteriormente.

Específicamente, el haloalcoxi incluye, por ejemplo, un grupo clorometoxi, un grupo triclorometoxi y un grupo trifluorometoxi.

15 En la presente memoria, "arilo" hace referencia a un anillo hidrocarburo aromático. El arilo preferiblemente incluye arilo C_{6-10} . Específicamente, el arilo incluye, por ejemplo, un grupo fenilo y grupos naftilo (por ejemplo, un grupo 1-naftilo y un grupo 2-naftilo).

20 En la presente memoria, "anillo alicíclico" hace referencia a un anillo hidrocarburo no aromático monovalente. El anillo alicíclico puede tener enlaces no saturados dentro de su anillo y puede ser un grupo multicíclico que tiene dos o más anillos. Los átomos de carbono que constituyen el anillo pueden oxidarse para formar un carbonilo. La cantidad de átomos que constituyen un anillo alicíclico varía preferiblemente de tres a diez (anillo alifático de 3 a 10 miembros). El anillo alicíclico incluye, por ejemplo, anillos cicloalquilo, anillos cicloalqueno y anillos cicloalquino.

25 En la presente memoria, "heteroarilo" hace referencia a un grupo heterocíclico aromático monovalente en el que los átomos que constituyen anillos incluyen preferiblemente uno a cinco átomos de carbono. El heteroarilo puede ser parcialmente saturado y puede ser un anillo monocíclico o condensado (por ejemplo, un heteroarilo bicíclico condensado con un anillo benceno o anillo heteroarilo monocíclico). La cantidad de átomos de constituyen anillos preferiblemente varía de cinco a diez (heteroarilo de 5 a 10 miembros).

30 Específicamente, el heteroarilo incluye, por ejemplo, grupo furilo, grupo tienilo, grupo pirrolilo, grupo imidazolilo, grupo pirazolilo, grupo tiazolilo, grupo isotiazolilo, grupo oxazolilo, grupo isooxazolilo, grupo oxadiazolilo, grupo tiadiazolilo, grupo triazolilo, grupo tetrazolilo, grupo piridilo, grupo piridimilo, grupo piridazinilo, grupo pirazinilo, grupo triazinilo, grupo benzofuranilo, grupo benzotienilo, grupo benzotiadiazolilo, grupo benzotiazolilo, grupo benzoxazolilo, grupo benzoxadiazolilo, grupo benzoimidazolilo, grupo indolilo, grupo isoindolilo, grupo azaindolilo, grupo indazolilo, grupo quinolilo, grupo isoquinolilo, grupo cinnolinilo, grupo quinazolinil, grupo quinoxalinilo, grupo benzodioxolilo, grupo indolidinilo y grupo imidazopiridilo.

35 En la presente memoria, "heterociclilo" hace referencia a un grupo heterocíclico monovalente no aromático en el que los átomos que constituyen anillos incluyen preferiblemente uno a cinco átomos de carbono. El heterociclilo puede contener enlaces dobles o triples en su anillo. Los átomos de carbono pueden oxidarse para formar un carbonilo. El anillo puede ser un anillo monocíclico o condensado. La cantidad de átomos de constituyen anillos preferiblemente varía de tres a diez (heterociclilo de 3 a 10 miembros).

40 Específicamente, el heterociclilo incluye, por ejemplo, grupo oxetanilo, grupo dihidrofurilo, grupo tetrahidrofurilo, grupo dihidropirano, grupo tetrahidropirano, grupo tetrahidropiridilo, grupo morfolinilo, grupo tiomorfolinilo, grupo pirrolidinilo, grupo piperidinilo, grupo piperazinilo, grupo pirazolidinilo, grupo imidazolinilo, grupo imidazolidinilo, grupo oxazolidinilo, grupo isooxazolidinilo, grupo tiazolidinilo, grupo isotiazolidinilo, grupo tiadiazolidinilo, grupo azetidino, grupo oxazolidona, grupo benzodioxano, grupo benzoxazolilo, grupo dioxolano y grupo dioxano.

45 En la presente memoria, "arilalquilo" hace referencia a un grupo en el que un átomo de hidrógeno arbitrario en un "alquilo" definido anteriormente se encuentra sustituido con un "arilo" definido anteriormente. El arilalquilo preferiblemente incluye un arilo C_{6-10} alquilo C_{1-4} y arilo C_{6-10} y alquilo C_{1-3} . Específicamente, el arilalquilo incluye, por ejemplo, un grupo bencilo, un grupo fenetilo y un grupo naftilmetilo.

En la presente memoria, "heteroarilalquilo" hace referencia a un grupo en el que un átomo de hidrógeno arbitrario en un alquilo definido anteriormente se encuentra sustituido con un "heteroarilo" definido anteriormente.

50 El heteroarilalquilo preferiblemente incluye un heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C_{1-3} . Específicamente, el heteroarilalquilo incluye, por ejemplo, un grupo pirrolilmetilo, grupo imidazolilmetilo, grupo tienilmetilo, grupo piridilmetilo, grupo pirimidilmetilo, grupo quinolilmetilo y piridilmetilo.

55 En la presente memoria, "heterocicilalquilo" hace referencia a un grupo en el que un átomo de hidrógeno arbitrario en un alquilo definido anteriormente se encuentra sustituido con un "heterociclilo" definido anteriormente. El heterocicilalquilo preferiblemente incluye un heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C_{1-3} . Específicamente, el heterocicilalquilo incluye, por ejemplo, un grupo morfolinilmetilo, grupo morfolinilmetilo, grupo tiomorfolinilmetilo, grupo

pirrolidinilmetilo, grupo piperidinilmetilo, grupo piperazinilmetilo, grupo piperaziniletilo y grupo oxetanilmetilo.

5 En la presente memoria, "monohidroxiálquilo" hace referencia a un grupo en el que un átomo de hidrógeno arbitrario en un "álquilo" definido anteriormente se encuentra sustituido con un grupo hidroxilo. El monohidroxiálquilo preferiblemente incluye un monohidroxiálquilo C₁₋₆ y monohidroxiálquilo C₂₋₆. Específicamente, el monohidroxiálquilo incluye, por ejemplo, un grupo hidroximetilo, grupo 1-hidroxietilo y un grupo 2-hidroxietilo.

En la presente memoria, "dihidroxiálquilo" hace referencia a un grupo en el que dos átomos de hidrógeno arbitrarios en un "álquilo" definido anteriormente se encuentran sustituidos con dos grupos hidroxilo. El dihidroxiálquilo preferiblemente incluye dihidroxiálquilo C₁₋₆ y dihidroxiálquilo C₂₋₆. Específicamente, el hidroxiálquilo incluye, por ejemplo, un grupo 1,2-dihidroxietilo, un grupo 1,2-dihidroxipropilo y grupo 1,3-dihidroxipropilo.

10 En la presente memoria, "trihidroxiálquilo" hace referencia a un grupo en el que tres átomos de hidrógeno arbitrarios en un "álquilo" definido anteriormente se encuentran sustituidos con tres grupos hidroxilo. El trihidroxiálquilo preferiblemente incluye trihidroxiálquilo C₁₋₆ y trihidroxiálquilo C₂₋₆.

15 En la presente memoria, "alcoxiálquilo" hace referencia a un grupo en el que un átomo de hidrógeno arbitrario en un "álquilo" definido anteriormente se encuentra sustituido con un "alcoxi" definido anteriormente. El alcoxiálquilo preferiblemente incluye alcoxi C₁₋₃ álquilo C₁₋₄ y alcoxi C₁₋₃ y álquilo C₂₋₄. Específicamente, el alcoxiálquilo incluye, por ejemplo, metoxietilo.

20 En la presente memoria, "alcoxiálcoxiálquilo" hace referencia a un grupo en el que un átomo de hidrógeno arbitrario en el álquilo de extremo de un "alcoxiálquilo" definido anteriormente se encuentra sustituido con un "alcoxi" definido anteriormente. El alcoxiálcoxiálquilo preferiblemente incluye alcoxi C₁₋₃, alcoxi C₁₋₄ álquilo C₁₋₄ y alcoxi C₁₋₃ alcoxi C₂₋₄ álquilo C₂₋₄.

En la presente memoria, "aminoálquilo" hace referencia a un grupo en el que un átomo de hidrógeno arbitrario en un "álquilo" definido anteriormente se encuentra sustituido con un grupo amino. El grupo aminoálquilo preferiblemente incluye aminoálquilo C₁₋₄ y aminoálquilo C₂₋₄.

25 En la presente memoria, "alquilamino" hace referencia a un grupo amino unido con un "álquilo" definido anteriormente. El alquilamino preferiblemente incluye alquilamino C₁₋₄.

En la presente memoria, "dialquilamino" hace referencia a un grupo amino unido con dos "álquilos" definido anteriormente. Los dos grupos álquilo pueden ser iguales o diferentes. El dialquilamino preferiblemente incluye di(álquilo C₁₋₄)amino.

30 En la presente memoria, "alquilaminoálquilo" hace referencia a un grupo en el que un átomo de hidrógeno arbitrario en un "álquilo" definido anteriormente se encuentra sustituido con un "alquilamino" definido anteriormente. El alquilaminoálquilo preferiblemente incluye alquilamino C₁₋₄ álquilo C₁₋₄ y alquilamino C₁₋₄ álquilo C₂₋₄.

En la presente memoria, "dialquilaminoálquilo" hace referencia a un grupo en el que un átomo de hidrógeno arbitrario en un "álquilo" definido anteriormente se encuentra sustituido con un "dialquilamino" definido anteriormente. El dialquilamino preferiblemente incluye di(álquilo C₁₋₄)amino álquilo C₁₋₄ y di(álquilo C₁₋₄) álquilo C₂₋₄.

35 En la presente memoria, "heterocicilamino" hace referencia a un grupo amino unido con un "heterocicilo" definido anteriormente. El heterocicilamino preferiblemente incluye un heterocicilamino de 3 a 10 miembros.

En la presente memoria, "cianoálquilo" hace referencia a un grupo en el que un átomo de hidrógeno arbitrario en un "álquilo" definido anteriormente se encuentra sustituido con un grupo ciano. El cianoálquilo preferiblemente incluye ciano(álquilo C₁₋₃).

40 En la presente memoria, "alquilsulfonilo" hace referencia a un grupo amino unido con un "álquilo" definido anteriormente (es decir, alquil-SO₂-). El alquilsulfonilo preferiblemente incluye alquilsulfonilo C₁₋₃. Específicamente, el alquilsulfonilo incluye metilsulfonilo, etilsulfonilo, n-propilsulfonilo e i-propilsulfonilo.

45 En la presente memoria, "alquilsulfonilálquilo" hace referencia a un grupo en el que un átomo de hidrógeno arbitrario en un "álquilo" definido anteriormente se encuentra sustituido con un "alquilsulfonilo" definido anteriormente. El alquilsulfonilálquilo preferiblemente incluye alquilsulfonilo C₁₋₃ álquilo C₁₋₄ y alquilsulfonilo C₁₋₃ álquilo C₂₋₄.

Preferiblemente, los compuestos representados por la fórmula (I) mostrados anteriormente son la siguiente manera:

50 R₁ mostrado anteriormente representa, preferiblemente, hidrógeno, hidroxilo, halógeno, ciano, nitro, haloálquilo C₁₋₄, álquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, cicloálquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀ álquilo C₁₋₄, -OR₅, -NR₆R₇, - (CR₈R₉)_nZ₁, - C(O)NR₁₂R₁₃, -SR₁₄, -SOR₁₅, -SO₂R₁₆, -NR₁₇SO₂R₁₈, COOH, arilo C₆₋₁₀ que es opcionalmente sustituido con uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterocicilo de 3 a 10 miembros que se encuentra sustituido opcionalmente por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q, -COR₁₉, -COOR₂₀ -OC(O)R₂₁, -NR₂₂C(O)R₂₃, -NR₂₄C(S)R₂₅, - C(S)NR₂₆R₂₇, -SO₂NR₂₈R₂₉, -OSO₂R₃₀, - SO₃R₃₁, o -Si(R₃₂)₃;

- 5 R₁ mostrado anteriormente representa, más preferiblemente, hidrógeno, hidroxilo, halógeno, ciano, haloalquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₆, alquino C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, -OR₅, -NR₆R₇, - (CR₈R₉)_nZ₁, -C(O)NR₁₂R₁₃, -SR₁₄, -SO₂R₁₆, -NR₁₇SO₂R₁₈, COOH, arilo C₆₋₁₀ que es opcionalmente sustituido con uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P o heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra sustituido opcionalmente con uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q. Específicamente, el heteroarilo anterior de 5 a 10 miembros es particularmente, de forma preferible, un grupo imidazolilo, grupo tienilo, grupo piridilo, grupo piridazinilo o grupo pirazolilo. El heterociclilo de 3 a 10 miembros anterior es particularmente, de forma preferible, un grupo morfolinilo, un grupo tetrahidropiridilo o grupo piperidinilo.
- 10 R₂ mostrado anteriormente representa, preferiblemente, hidrógeno, hidroxilo, halógeno, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₆, alquino C₂₋₆, alquino C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, -OR₅, -NR₆R₇, - (CR₈R₉)_nZ₁, -C(O)NR₁₂R₁₃, -SR₁₄, -SOR₁₅, -SO₂R₁₆, -NR₁₇SO₂R₁₈, COOH, arilo C₆₋₁₀ que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra sustituido opcionalmente por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q, -COR₁₉, -COOR₂₀ -OC(O)R₂₁, -NR₂₂C(O)R₂₃, -NR₂₄C(S)R₂₅, -C(S)NR₂₆R₂₇, -SO₂NR₂₈R₂₉, -OSO₂R₃₀, -SO₃R₃₁, o -Si(R₃₂)₃;
- 15 R₂ mostrado anteriormente representa, más preferiblemente, hidrógeno, halógeno, haloalquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₆, -OR₅, arilo C₆₋₁₀ que es opcionalmente sustituido con uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P o heteroarilo de 5 a 10 miembros que es opcionalmente sustituido con uno o más grupos independientemente seleccionado del grupo Q. Específicamente, este heteroarilo de 5 a 10 miembros es particularmente, más preferiblemente, un grupo piridilo.
- 20 R₁ y R₂ mostrados anteriormente pueden preferiblemente tomarse junto con los átomos a los que se unen para formar un heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros. El heterociclilo o heteroarilo pueden tener un átomo de halógeno como un sustituyente. Específicamente, el heterociclilo de 3 a 10 miembros formado junto con los átomos a los que se unen R₁ y R₂, es particularmente, de forma preferible, un grupo dioxolanilo o grupo dioxanilo.
- 25 R₃ mostrado anteriormente preferiblemente, representa hidrógeno, alquilo C₁₋₅, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₆ o haloalquilo C₁₋₄, más preferiblemente, hidrógeno, alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄ o perfluoroalquilo C₁₋₃ y particularmente, de forma preferible, alquilo C₁.
- 30 R₄ mostrado anteriormente, preferiblemente, representa hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₃, haloalquilo C₁₋₄, hidroxilo, ciano, nitro, alcoxi C₁₋₄, -(CH₂)_nZ₁, -NR₆R₇, -OR₅, -C(O)NR₁₂R₁₃, -SR₁₄, -SOR₁₅, -SO₂R₁₆, NR₁₇SO₂R₁₈, COOH, -COR₁₉, -COOR₂₀, -OC(O)R₂₁, -NR₂₂C(O)R₂₃, -NR₂₄C(S)R₂₅, -C(S)NR₂₆R₂₇, -SO₂NR₂₈R₂₉, -OSO₂R₃₀ -SO₃R₃₁ o -Si(R₃₂)₃.
- R₄ mostrado anteriormente más preferiblemente representa hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₃, perfluoroalquilo C₁₋₃, ciano, metanosulfonilo, hidroxilo, alcoxi o amino y particularmente, de forma preferible, hidrógeno o halógeno.
- 35 El anillo A mencionado anteriormente es preferiblemente un anillo heteroarilo de 5 a 10 miembros o anillo arilo C₆₋₁₀, más preferiblemente, benceno, indol, azaindol, benzofurano, benzotiofeno, benzotiazol, quinolina o pirrol y particularmente, de forma preferible, indol o pirrol.
- 40 R₅ mostrado anteriormente preferiblemente representa alquilo C₁₋₅, cicloalquilo C₃₋₇, cicloalquilo C₃₋₇ alquilo C₁₋₃, alquino C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alcoxi C₁₋₄ alquilo C₁₋₄, aminoalquilo C₁₋₄, alquilamino C₁₋₄ alquilo C₁₋₄, di(alquilo C₁₋₄)amino alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₃ o heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heterociclilo de 3 a 10 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, cada uno de los cuales se encuentra opcionalmente sustituido con uno o más grupos independientemente seleccionado del grupo Q, monohidroxialquilo C₁₋₆, dihidroxialquilo C₁₋₆ o trihidroxialquilo C₁₋₆.
- 45 R₅ mostrado anteriormente representa, más preferiblemente, alquilo C₁₋₅, cicloalquilo C₃₋₇ alquilo C₁₋₃, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃, alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₃ o heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃ o heterociclilo 3 a 10 miembros cada uno de los cuales se encuentra opcionalmente sustituido con uno o más grupo independientemente seleccionados del grupo Q. Específicamente, el heterociclilo de 3 a 10 miembros es particularmente, de forma preferible, un grupo piperaziniletilo, grupo oxetanilmetilo o grupo morfoliniletilo. El heterociclilo de 3 a 10 miembros anteriormente es particularmente, de forma preferible, un grupo oxetanilo o grupo tetrahidropirranilo.
- 50 R₆ y R₇ mostrados anteriormente pueden ser iguales o diferentes y cada uno, preferiblemente, representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alquino C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₂₋₄, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₃, heterociclilo alquilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, monohidroxialquilo C₁₋₆, dihidroxialquilo C₁₋₆, trihidroxialquilo C₁₋₆, heterociclilo de 3 a 10 miembros, aminoalquilo C₁₋₄, alquilamino C₁₋₄ alquilo C₁₋₄, di(alquilo C₁₋₄)amino alquilo C₁₋₄, o ciano(alquilo C₁₋₃).
- 55 R₆ y R₇ mostrados anteriormente, de forma preferible, representan independientemente hidrógeno, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃ o dihidroxialquilo C₁₋₆.

Específicamente, el heterociclicilalquilo de 3 a 10 miembros es particularmente, de forma preferible, un grupo morfoliniletilo y el heteroarilalquilo de 5 a 10 miembros es particularmente, de forma preferible, un grupo piridiletilo.

Alternativamente, R₆ y R₇ mostrados anteriormente pueden, preferiblemente, tomarse con los átomos de nitrógeno a los que se unen para formar un heterocicilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros.

5 "n" mostrado anteriormente representa una forma entera de 1 a 3. Preferiblemente, n es 1.

R₈ y R₉ mostrados anteriormente preferiblemente pueden ser iguales o diferentes y cada uno representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o halógeno y más preferiblemente hidrógeno.

Alternativamente, R₈ y R₉ mostrados anteriormente pueden preferiblemente tomarse con los átomos de carbono a los que se unen para formar un anillo alicíclico.

10 Z₁ mostrado anteriormente, de forma preferible, representa hidrógeno, NR₁₀R₁₁, -OH o heterocicilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros, cada uno de los cuales es opcionalmente sustituido con uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q, más preferiblemente NR₁₀R₁₁ u OH o heterocicilo de 3 a 10 miembros que es opcionalmente sustituido con uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q.
15 Específicamente, el heterocicilo de 3 a 10 miembros es particularmente, de forma preferible, un grupo pirrolidinilo, grupo piperazinilo, grupo piperidinilo o grupo morfolinilo.

R₁₀ y R₁₁ mostrados anteriormente, de forma preferible, puede ser igual o diferente, y cada uno representa preferiblemente alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, ciano(alquilo C₁₋₃) o alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, más preferiblemente, alquilo C₁₋₄, alquinilo C₂₋₆, o alcoxi C₁₋₃ alquilo C₂₋₄.

20 Alternativamente, R₁₀ y R₁₁ mostrados anteriormente pueden preferiblemente tomarse con los átomos de nitrógeno a los que se unen para formar un heterocicilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros.

R₁₂ y R₁₃ mostrados anteriormente, preferiblemente, pueden ser iguales o diferentes, y representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterocicilo de 3 a 10 miembros, arilo C⁶⁻¹⁰ alquilo C₁₋₄, heterocicilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, ciano(alquilo C₁₋₃), alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, o un anillo alicíclico de 3 a 10 miembros, más preferiblemente, hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o haloalquilo C₁₋₄.

25 Alternativamente, R₁₂ y R₁₃ mostrados anteriormente, de forma preferible, pueden tomarse en conjunto con los átomos de nitrógeno a los que se unen para formar heterocicilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros cada uno de los cuales es opcionalmente sustituido con uno o más grupos independientemente seleccionado del grupo Q, y particularmente, de forma preferible, de heterociclicilalquilo de 3 a 10 miembros.
30 Específicamente, son más preferibles un grupo piperazinilo, un grupo morfolinilo, un grupo pirrolidinilo y un grupo piperidinilo.

R₁₄ mostrados anteriormente preferiblemente representa alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ que se encuentra opcionalmente sustituido con uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterocicilo de 3 a 10 miembros cada uno de los cuales se encuentra opcionalmente sustituido con uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q, y más preferiblemente representa un alquilo C₁₋₄ o haloalquilo C₁₋₄.

35 R₁₅ mostrado anteriormente de forma preferible representa alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ que se encuentra opcionalmente sustituido con uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterocicilo de 3 a 10 miembros cada uno de los cuales se encuentra opcionalmente sustituido con uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q.

R₁₆ mostrado anteriormente representa, preferiblemente, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ que se encuentra opcionalmente sustituido con uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterocicilo de 3 a 10 miembros cada uno de los cuales se encuentra opcionalmente sustituido con uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q, y, más preferiblemente, representa un alquilo C₁₋₄.

R₁₇ mostrado anteriormente representa, de forma preferible, hidrógeno o alquilo C₁₋₄ y, más preferiblemente, hidrógeno.

50 R₁₈ mostrado anteriormente representa, preferiblemente, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ que se encuentra opcionalmente sustituido con uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterocicilo de 3 a 10 miembros cada uno de los cuales se encuentra opcionalmente sustituido con uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q, y, más preferiblemente, representa un alquilo C₁₋₄.

R₁₉ mostrado anteriormente representa, preferiblemente, hidrógeno, alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀ o heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterocicilo de 3 a 10 miembros cada uno de los cuales se encuentra

- sustituido opcionalmente con uno o dos grupos independientemente seleccionados del grupo Q y más preferiblemente representa hidrógeno, o heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros cada uno de los cuales se encuentra sustituido opcionalmente con uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q. Específicamente, este heterociclo de 3 a 10 miembros es más preferiblemente un grupo piperazinilo, un grupo morfolinilo, un grupo pirrolidinilo o un grupo piperidinilo.
- 5 R₂₀ mostrado anteriormente representa preferiblemente alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros.
- R₂₁ mostrado anteriormente preferiblemente representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;
- 10 R₂₂ mostrado anteriormente representa, preferiblemente, hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o haloalquilo C₁₋₄.
- R₂₃ mostrado anteriormente representa, preferiblemente, hidrógeno, alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros.
- R₂₄ mostrado anteriormente, representa, preferiblemente, hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o haloalquilo C₁₋₄.
- 15 R₂₅ mostrado anteriormente representa, preferiblemente, alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;
- R₂₆ y R₂₇ mostrados anteriormente, preferiblemente, pueden ser iguales o diferentes, y representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, ciano(alquilo C₁₋₃), alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, o un anillo alicíclico de 3 a 10 miembros.
- 20 Alternativamente, R₂₆ y R₂₇ mostrados anteriormente pueden preferiblemente tomarse con los átomos de nitrógeno a los que se unen para formar un heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros.
- R₂₈ y R₂₉ mostrados anteriormente, preferiblemente, pueden ser iguales o diferentes, y cada uno representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, ciano(alquilo C₁₋₃), alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, o un anillo alicíclico de 3 a 10 miembros.
- 25 Alternativamente, R₂₈ y R₂₉ mostrados anteriormente pueden preferiblemente tomarse con los átomos de nitrógeno a los que se unen para formar un heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros.
- 30 R₃₀ mostrado anteriormente representa, preferiblemente, alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros.
- R₃₁ mostrado anteriormente representa, preferiblemente, alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros.
- R₃₂ mostrado anteriormente representa, de forma preferible, alquilo C₁₋₄ o arilo C₆₋₁₀.
- 35 Los sustituyentes preferidos incluidos en los grupos P definidos anteriormente son halógeno, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, -OH, alcoxi C₁₋₃, haloalcoxi C₁₋₃, heterocicilamino de 3 a 10 miembros, -SO₂R, -CN, -NO₂ y heterociclilo de 3 a 10 miembros; y más preferiblemente halógeno, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃, haloalcoxi C₁₋₃ y heterociclilo de 3 a 10 miembros. Específicamente, este heterociclilo de 3 a 10 miembros anterior es particularmente, de forma preferible, un grupo morfolinilo.
- 40 Los sustituyentes preferidos incluidos en el grupo Q definido anteriormente son halógeno, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, -OH, alcoxi C₁₋₃, monohidroalquilo C₁₋₆, dihidroalquilo C₁₋₆, trihidroalquilo C₁₋₆, heterocicilamino de 3 a 10 miembros, heterocicilamino, -SO₂R, -CN, -NO₂, cicloalquil C₃₋₇, -COR₁₉, y heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₄; y, más preferiblemente, halógeno, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, -OH, alcoxi C₁₋₃, monohidroalquilo C₁₋₆, -SO₂R₁₆, cicloalquilo C₃₋₇, -COR₁₉ y heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido con un alquilo C₁₋₄. Específicamente, este heterociclilo de 3 a 10 miembros es más preferiblemente un grupo piperazinilo, un grupo piperidinilo o un grupo morfolinilo.
- 45 Los ejemplos específicos de los compuestos incluyen:
- (1) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(1H-indol-2-il)-metanona;
- (2) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-pirrolidin-1-ilmetil-1H-indol-2-il)-metanona;
- 50 (3) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(4-hidroxi-piperidin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;

- (4) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(1H-pirrol[3,2-c]piridin-2-il)-metanona;
- (5) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-piperazin-1-ilmetil-1H-indol-2-il)-metanona;
- (6) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(2-morfolin-4-il-etoxi)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (7) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(tetrahidro-piran-4-iloxi)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 5 (8) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(4-cloro-1H-indol-2-il)-metanona;
- (9) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-bromo-1H-indol-2-il)-metanona;
- (10) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(4-yodo-1H-indol-2-il)-metanona;
- (11) 2-[5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]-1H-indol-5-carbonitrilo;
- (12) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-bromo-5-fluoro-1H-indol-2-il]-metanona;
- 10 (13) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-etinil-1H-indol-2-il)-metanona;
- (14) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(2-fluoro-fenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (15) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(3-fluoro-fenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (16) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(4-fluoro-fenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (17) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(2-cloro-fenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 15 (18) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(3-cloro-fenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (19) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(4-cloro-fenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (20) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(2-trifluorometil-fenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (21) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(3-trifluorometil-fenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (22) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(4-trifluorometil-fenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 20 (23) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(4-bromo-1H-indol-2-il)-metanona;
- (24) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(3-fluoro-piridin-2-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (25) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-metil-1H-indol-2-il)-metanona;
- (26) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(4,4-difluoro-piperidina-1-carbonil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 25 (27) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(3,3-difluoro-piperidina-1-carbonil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (28) (2,2,2-trifluoro-etil)-amida de ácido 2-[5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]-1H-indol-5-carboxílico;
- (29) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(5-trifluorometil-piridin-2-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 30 (30) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(6-trifluorometil-piridin-2-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (31) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(5-cloro-piridin-2-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (32) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(4-metil-piridin-2-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (33) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(3-cloro-4-fluoro-fenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (34) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 35 (35) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(4-trifluorometil-piridin-2-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (36) [5-amino-1-(6-fluoro-2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(1H-indol-2-il)-metanona;
- (37) ácido 2-[5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]-1H-indol-6-carboxílico;
- (38) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-hidroxi-metil-1H-indol-2-il]-metanona;

- (39) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-etoxa]-1H-indol-2-il]-metanona;
- (40) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(3-metil-oxetan-3-ilmetoxi)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (41) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(3-fluoro-piperidin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 5 (42) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-[[bis(2-metoxi-etil)-amino]-metil]-1H-indol-2-il]-metanona;
- (43) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-[(metil-prop-2-inil-amino)-metil]-1H-indol-2-il]-metanona;
- 10 (44) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(3,3-difluoro-pirrolidin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (45) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(2,5-dimetil-pirrolidin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (46) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(3,3-difluoro-piperidin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 15 (47) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-((S)-3-metil-morfolin-4-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (48) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-bromo-1H-indol-2-il]-metanona;
- (49) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-yodo-1H-indol-2-il]-metanona;
- (50) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[1H-pirrololo[3,2-b]piridin-2-il]-metanona;
- 20 (51) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-bromo-6-trifluorometil-1H-indol-2-il]-metanona;
- (52) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-yodo-1H-indol-2-il]-metanona;
- (53) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-metil-1H-indol-2-il]-metanona;
- (54) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-isopropil-1H-indol-2-il]-metanona;
- (55) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(2-fluoro-fenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 25 (56) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-bencil-1H-indol-2-il]-metanona;
- (57) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(2-trifluorometil-fenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (58) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(3-fluorofenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (59) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(3-trifluorometil-fenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (60) [5-amino-1-(2-metil-1 H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-etinil-1H-indol-2-il]-metanona;
- 30 (61) [5-amino-1-(2-meil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5H-[1,3]dioxolo[4,5-f]indol-6-il]-metanona;
- (62) [5-amino-1-(7-fluoro-2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[1H-indol-2-il]-metanona;
- (63) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(4-trifluorometil-fenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (64) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-butoxi-1H-indol-2-il]-metanona;
- (65) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(1-metil-piperidin-4-il)-1H-indol-2-il]metanona;
- 35 (66) N-{2-[5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]-1H-indol-6-il}-metanosulfonamida;
- (67) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(6-morfolin-4-il-piridin-3-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (68) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-butil-1H-indol-2-il]-metanona;
- (69) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (70) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(5-metoxi-piridin-3-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 40 (71) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(2-metoxi-piridin-3-il)-1H-indol-2-il]-metanona;

- (72) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-ciclopropil-1H-indol-2-il)-metanona;
- (73) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(2-metoxi-fenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (74) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-fenil-1H-indol-2-il)-metanona;
- 5 (75) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(5-metanosulfonil-piridin-3-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (76) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-isopropil-1H-indol-2-il)-metanona;
- (77) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-piridin-2-il-1H-indol-2-il)-metanona;
- (78) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-ciclopropil-1H-indol-2-il)-metanona;
- (79) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-piridazin-3-il-1H-indol-2-il)-metanona;
- 10 (80) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-isopropoxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- (81) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(2-metoxi-etoxi)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (82) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-ciclopropilmetoxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- (83) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(2,2-difluoro-5H-[1,3]dioxolo[4,5-f]indol-6-il)-metanona;
- (84) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(3-cloro-piridin-2-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 15 (85) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(5-fluoro-piridin-2-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (86) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(6-morfolin-4-il-piridazin-3-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (87) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-cloro-6-ciclopropilmetoxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- (88) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(2,4-difluoro-fenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 20 (89) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-piridazin-4-il-1H-indol-2-il)-metanona;
- (90) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(3-fluoro-1H-indol-2-il)-metanona;
- (91) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(1-isopropil-piperidin-4-il)-6-trifluorometil-1H-indol-2-il]-metanona;
- (92) 2-[5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]-1H-indol-6-carbonitrilo;
- 25 (93) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(1,2,3,6-tetraidro-piridin-4-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (94) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-piperidin-4-il-1H-indol-2-il)-metanona;
- (95) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-((R)-3-fluoro-pirrolidin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 30 (96) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-fluoro-5-piperidin-4-il-1H-indol-2-il)-metanona;
- (97) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-fluoro-5-(1-metil-piperidin-4-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (98) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(1-isopropil-piperidin-4-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 35 (99) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-fluoro-5-(1-isopropil-piperidin-4-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (100) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-piridin-3-il-1H-indol-2-il)-metanona;
- (101) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(6-morfolin-4-il-piridin-3-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (102) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-piridin-3-il-1H-indol-2-il)-metanona;
- 40 (103) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(6-piperazin-1-il-piridin-3-il)-1H-indol-2-il]-metanona;

- (104) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(6-idroxi-piridin-3-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (105) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-fluoro-5-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (106) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-fluoro-5-pirrolidin-1-ilmetil-1H-indol-2-il]-metanona;
- 5 (107) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(1-metil-piperidin-4-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (108) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(4-morfolin-4-il-fenil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (109) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(3,4,5,6-tetraidro-2H-[1,2']bipiridin-5'-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 10 (110) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(6-piperazin-1-il-piridin-3-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (111) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(6-metoksi-piridin-3-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (112) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-((S)-3-metil-morfolin-4-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 15 (113) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-((R)-3-fluoro-pirrolidin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (114) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(2,5-dimetil-pirrolidin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (115) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(3-fluoro-piperidin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 20 (116) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(3,3-difluoro-piperidin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (117) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-[2-(4-metil-piperazin-1-il)piridin-4-il]-1H-indol-2-il]-metanona;
- (118) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-piridin-4-il-1H-indol-2-il]-metanona;
- 25 (119) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(4-fluoropiperidin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (120) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(4,4-difluoro-piperidin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (121) [5-amino-1-(2-difluorometil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(1-metil-piperidin-4-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 30 (122) [5-amino-1-(2-difluorometil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[1H-indol-2-il]-metanona;
- (123) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(3,3-difluoro-pirrolidin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (124) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(1-ciclopentil-piperidin-4-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (125) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(1-ciclohexil-piperidin-4-il)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 35 (126) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-bromo-1H-pirrol-2-il]-metanona;
- (127) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[1H-pirrol-2-il]-metanona;
- (128) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-fenil-1H-pirrol-2-il]-metanona;
- (129) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-(3-cloro-fenil)-1H-pirrol-2-il]-metanona;
- (130) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-(4-fluoro-fenil)-1H-pirrol-2-il]-metanona;
- 40 (131) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-(3-fluoro-fenil)-1H-pirrol-2-il]-metanona;
- (132) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-morfolin-4-ilmetil-1H-indol-2-il]-metanona;
- (133) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-(2-morfolin-4-il-etilamino)-1H-indol-2-il]-metanona;

- (134) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(4-metil-piperazina-1-carbonil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (135) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(2-morfolin-4-il-etilamino)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (136) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(piperazina-1-carbonil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 5 (137) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-(2-metoxi-etilamino)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (138) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-(2-hidroxi-1-hidroximetil-etilamino)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (139) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-(2-piridin-4-il-etilamino)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (140) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(2-metoxi-etilamino)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 10 (141) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-morfolin-4-il-1H-indol-2-il]-metanona;
- (142) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-morfolin-4-il-1H-indol-2-il]-metanona;
- (143) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-morfolin-4-ilmetil-1H-indol-2-il]-metanona;
- (144) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-morfolin-4-ilmetil-1H-indol-2-il]-metanona;
- (145) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(morfolina-4-carbonil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 15 (146) [5-amino-1-(2-isopropil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[1H-indol-2-il]-metanona;
- (147) [5-amino-1-(2-propil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[1H-indol-2-il]-metanona;
- (148) [5-amino-1-(1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[1H-indol-2-il]-metanona;
- (149) [5-amino-1-(2-trifluorometil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[1H-indol-2-il]-metanona;
- (150) [5-amino-1-(2-etil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[1H-indol-2-il]-metanona;
- 20 (151) [5-amino-1-(2-bencil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[1H-indol-2-il]-metanona;
- (152) 1-(4-{2-[5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]-1H-indol-5-ilmetil}-piperazin-1-il)-etanona;
- (153) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(4-metanosulfonol-piperazin-1-olmetol)-1H-indol-2-ol]-metanona;
- 25 (154) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-piperazin-1-ilmetil-1H-indol-2-il]-metanona;
- (155) 1-(4-{2-[5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]-1H-indol-6-ilmetil}-piperazin-1-il)-etanona;
- (156) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- 30 (157) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il]-metanona;
- (158) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-pirrolidin-1-ilmetil-1H-indol-2-il]-metanona;
- (159) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-fluoro-1H-indol-2-il]-metanona;
- (160) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-fluoro-1H-indol-2-il]-metanona;
- 35 (161) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[6-fluoro-1H-indol-2-il]-metanona;
- (162) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[1H-pirrololo[2,3-b]piridin-2-il]-metanona;
- (163) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-fluoro-6-morfolin-4-ilmetil-1H-indol-2-il]-metanona;
- (164) ácido 2-[5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]-1H-indol-5-carboxílico;
- (165) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-metoxi-1H-indol-2-il]-metanona;
- 40 (166) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4,6-dimetoxi-1H-indol-2-il]-metanona;

- (167) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(4-metoxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- (168) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-metoxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- (169) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(4,6-dimetil-1H-indol-2-il)-metanona;
- (170) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-*terc*-butil-1H-indol-2-il)-metanona;
- 5 (171) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-isopropil-1H-indol-2-il)-metanona;
- (172) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-benciloxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- (173) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(4-benciloxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- (174) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5,6-dimetoxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- (175) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-*terc*-butil-1H-indol-2-il)-metanona;
- 10 (176) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-fluoro-4-trifluorometil-1H-indol-2-il)-metanona;
- (177) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-fenoxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- (178) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-metilsulfanil-1H-indol-2-il)-metanona;
- (179) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(4-*terc*-butil-1H-indol-2-il)-metanona;
- (180) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-metil-1H-indol-2-il)-metanona;
- 15 (181) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-etil-1H-indol-2-il)-metanona;
- (182) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-fluoro-6-trifluorometil-1H-indol-2-il)-metanona;
- (183) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-fluoro-5-metoxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- (184) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-cloro-5-metoxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- (185) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-cloro-6-metoxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- 20 (186) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-isopropoxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- (187) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-benciloxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- (188) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(4-isopropoxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- (189) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(2,3-dihidro-6H-[1,4]dioxino[2,3-f]indol-7-il)-metanona;
- (190) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(4,6-di-*terc*-butil-1H-indol-2-il)-metanona;
- 25 (191) 2-[5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-carbonil]-1H-indol-4-carbonitrilo;
- (192) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-imidazol-1-il-1H-indol-2-il)-metanona;
- (193) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-trifluorometilsulfanil-1H-indol-2-il)-metanona;
- (194) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-metilsulfanil-1H-indol-2-il)-metanona;
- (195) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-metanosulfonyl-1H-indol-2-il)-metanona;
- 30 (196) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-(4,4-difluoro-piperidin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il)-metanona;
- (197) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-(4-fluoro-piperidin-1-ilmetil)-1H-indol-2-il)-metanona;
- (198) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-(oxetan-3-iloxi)-1H-indol-2-il)-metanona;
- 35 (199) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-hidroxil-1H-indol-2-il)-metanona;
- (200) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-metanosulfonyl-1H-indol-2-il)-metanona;
- (201) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(4,5-dibromo-1H-pirrol-2-il)-metanona;

- (202) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(4,5-difenil-1H-pirrol-2-il)-metanona; y
- (203) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(4,5-dipiridin-3-il-1H-pirrol-2-il)-metanona.
- (204) [5-amino-1-(2-metil-3H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-cloro-1H-indol-2-il)-metanona;
- (205) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-cloro-1H-indol-2-il)-metanona;
- 5 (206) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(1H-indol-3-il)-metanona;
- (207) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(1H-indol-6-il)-metanona;
- (208) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-bromo-6-fluoro-1H-indol-2-il)-metanona;
- (209) [5-amino-1-(2-etil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-bromo-6-fluoro-1H-indol-2-il)-metanona;
- (210) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-trifluorometil-1H-indol-2-il)-metanona;
- 10 (211) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-trifluorometoxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- (212) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(4,6-dicloro-1H-indol-2-il)-metanona;
- (213) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-bromo-4-fluoro-1H-indol-2-il)-metanona;
- (214) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-trifluorometoxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- (215) [5-amino-1-(2-etil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-trifluorometoxi-1H-indol-2-il)-metanona;
- 15 (216) [5-amino-1-(2-etil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-trifluorometil-1H-indol-2-il)-metanona;
- (217) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5,6-dicloro-1H-indol-2-il)-metanona;
- (218) [5-amino-1-(2-etil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-bromo-5-fluoro-1H-indol-2-il)-metanona;
- (219) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(4,5-dicloro-1H-indol-2-il)-metanona;
- (220) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(4,6-difluoro-1H-indol-2-il)-metanona;
- 20 (221) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-(3-cloro-piridin-4-il)-1H-indol-2-il)-metanona;
- (222) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-(6-metil-piperidina-3-il)-1H-indol-2-il)-metanona;
- (223) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-(5-fluoro-piridin-3-il)-1H-indol-2-il)-metanona;
- (224) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-(2-trifluorometil-piridin-3-il)-1H-indol-2-il)-metanona;
- 25 (225) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-(5-cloro-2-metoxi-piridin-3-il)-1H-indol-2-il)-metanona;
- (226) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-(5-cloro-piridin-3-il)-1H-indol-2-il)-metanona;
- (227) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-tiofen-3-il-1H-indol-2-il)-metanona;
- (228) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-(4-cloropiridin-3-il)-1H-indol-2-il)-metanona;
- (229) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-tiofen-2-il-1H-indol-2-il)-metanona;
- 30 (230) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-(3-fluoro-piridin-4-il)-1H-indol-2-il)-metanona;
- (231) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(6-(2-trifluorometil-piperazin-4-il)-1H-indol-2-il)-metanona;
- (232) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-(3,3-difluoro-pirrolidina-1-carbonil)-1H-indol-2-il)-metanona;
- 35 (233) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-(2,6-dimetil-morfolina-4-carbonil)-1H-indol-2-il)-metanona;
- (234) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-(1,4'-bipiperidinil-1'-carbonil)-1H-indol-2-il)-metanona;
- (235) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-(5-[4-(2,2,2-trifluoro-etil)-piperazina-1-carbonil]-1H-

indol-2-il)-metanona;

(236) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-[4-(2-hidroxi-etil)-piperazina-1-carbonil]-1H-indol-2-il]-metanona;

5 (237) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-(3,3,4,4-tetrafluoro-pirrolidina-1-carbonil)-1H-indol-2-il]-metanona;

(238) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-((R)-3-fluoro-pirrolidina-1-carbonil)-1H-indol-2-il]-metanona;

(239) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[5-((S)-3-fluoro-pirrolidina-1-carbonil)-1H-indol-2-il]-metanona;

10 (240) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-(4-metoxi-fenil)-1H-pirrol-2-il]-metanona;

(241) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-(3-metoxi-fenil)-1H-pirrol-2-il]-metanona;

(242) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4,5-bis-(3-fluoro-fenil)-1H-pirrol-2-il]-metanona;

(243) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4,5-bis-(4-metoxi-fenil)-1H-pirrol-2-il]-metanona;

(244) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-(2,4-difluoro-fenil)-1H-pirrol-2-il]-metanona;

15 (245) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-(4-trifluorometoxi-fenil)-1H-pirrol-2-il]-metanona;

(246) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4,5-bis-(3-metoxi-fenil)-1H-pirrol-2-il]-metanona;

(247) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-benzofuran-2-il-metanona;

(248) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-benzo[b]tiofen-2-il-metanona;

(249) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-benzotiazol-2-il-metanona;

20 (250) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[4-fluoro-fenil]-metanona;

(251) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-[3-cloro-fenil]-metanona;

(252) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-quinolin-3-il-metanona;

(253) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-quinolin-7-il-metanona; y

(254) [5-amino-1-(2-metil-1H-benzimidazol-5-il)-1H-pirazol-4-il]-quinolin-6-il-metanona;

25 Ejemplos más específicos incluyen compuestos en los que la A es indol y R₃ y R₄ son ambos hidrógenos en la fórmula (I) descrita anteriormente, y los compuestos mostrados en las Tablas 1 y 2 en los Ejemplos descritos posteriormente pueden incluirse como ejemplos.

Los compuestos mencionados anteriormente pueden producirse de acuerdo con el método de producción descrito en la publicación internacional WO 2011/016528.

30 En la presente invención, los compuestos que tienen actividad inhibitoria de FGFR como se describe anteriormente incluyen no solamente formas libres, sino que también sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Dichas "sales" incluyen, por ejemplo, sales de ácidos inorgánicos, sales orgánicas, sales de base inorgánica, sales de base orgánica y sales de aminoácidos básicas o ácidas.

35 Las sales ácidas inorgánicas preferidas incluyen, por ejemplo, clorhidrato, bromhidrato, sulfato, nitrato y fosfato. Las sales orgánicas preferidas incluyen, por ejemplo, acetato, succinato, fumarato, maleato, tartrato, citrato, lactato, malato, estearato, benzoato, metanosulfonato y p-toluenosulfonato. Una sal particularmente preferida en la presente invención es maleato.

40 Las sales de base inorgánica preferidas incluyen, por ejemplo, sales de metales alcali tales como sales de sodio y sales de potasio; sales de metal de tierras alcali tales como sales de calcio y sales de magnesio; sales de aluminio; y sales de amonio. Las sales de base orgánica preferidas incluyen, por ejemplo, sales dietilamina, sales dietanolamina, sales de megalumina y sales de N,N-dibenciletilendiamina.

Las sales de aminoácidos preferidas incluyen, por ejemplo, aspartato y glutamato. Las sales de aminoácidos básicas preferidas incluyen, por ejemplo, sales de arginina, sales de lisina y sales de ornitina.

En la presente invención, los compuestos que tienen actividad inhibitoria de FGFR también incluyen hidratos de los

mismos. Adicionalmente, en la presente invención, los compuestos que tienen actividad inhibitoria de FGFR pueden absorber algunos tipos de solventes para formar solvatos. Dichos solvatos también se incluyen.

Además, los compuestos que tienen actividad inhibitoria de FGFR en la presente invención incluye todos los posibles isómeros estructurales (isómeros geométricos, isómeros ópticos, estereoisómeros, tautómeros, etc.) y las mezclas de isómeros.

Los compuestos que tienen actividad inhibitoria de FGFR en la presente invención también incluyen cualquier polimorfismo cristalino del mismo.

En la presente invención, los compuestos que tienen actividad inhibitoria de FGFR también incluyen profármacos de los mismos. "Profármacos" hace referencia a los derivados de los compuestos de la presente invención que tienen un grupo degradable desde el punto de vista químico o metabólico y que, luego administración al cuerpo vivo, regresan a los compuestos originales y exhiben la eficacia del fármaco original. Los profármacos incluyen los complejos y sales no covalentes.

En la presente invención, los compuestos que tienen la actividad inhibitoria de FGFR incluyen aquellos en los que uno o más átomos dentro de la molécula fueron sustituidos con isótopos. En la presente memoria, "isótopo" hace referencia a un átomo que tiene la misma cantidad atómica (cantidad de protones), pero diferente cantidad de masa (suma de protones y neutrones). Los átomos objetivos a ser sustituidos con un isótopo en los compuestos de la presente invención incluyen, por ejemplo, un átomo de hidrógeno, un átomo de carbono, un átomo de nitrógeno, un átomo de oxígeno, un átomo de fósforo, un átomo de azufre, un átomo de flúor y un átomo de cloro. Sus isótopos incluyen ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F y ^{36}Cl . En particular, los radioisótopos tal como ^3H y ^{14}C , que emiten radiación y decaimiento, son útiles en estudios de distribución de tejido in vivo o similares de productos farmacéuticos o compuestos. Los isótopos estables no sufren decaimiento y, por lo tanto, su cantidad raramente cambia; ya que no existe emisión de radiación, pueden usarse isótopos estables de forma segura. Los compuestos de la presente invención pueden convertirse en compuestos sustituidos con isótopos de acuerdo con métodos de rutina mediante la sustitución de reactivos utilizados en la síntesis con reactivos que contienen los isótopos correspondientes.

En la presente memoria, "el agente anticancerígeno" o "composición farmacéutica para el tratamiento del cáncer" que comprende un inhibidor de FGFR se utilizan de forma intercambiable, y hace referencia a una composición terapéutica contra el cáncer que comprende un compuesto descrito anteriormente que tiene una actividad inhibitoria de FGFR y portadores farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos que tienen una actividad inhibidora de FGFR de la presente invención pueden formularse en tabletas, polvos, gránulos finos, gránulos, tabletas recubiertas, cápsulas, jarabes, caramelos, inhalantes, supositorios, inyecciones, ungüentos, ungüentos oculares, colirios, gotas nasales, gotas óticas, cataplasmas, lociones y similares mediante métodos de rutina. Para la formulación, pueden usarse excipientes, aglutinantes, lubricantes, colorantes, agentes saborizantes y, de ser necesario, estabilizadores, emulsionantes, promotores de la absorción, tensioactivos, agentes de ajuste del pH, conservantes, antioxidantes convencionales y similares. Los compuestos de la presente invención se formulan mediante el uso de métodos de rutina, mediante la combinación de ingredientes que son generalmente utilizados como materiales para la preparación farmacéutica.

Por ejemplo, para producir formulaciones orales, los compuestos de la presente invención o sales farmacológicamente aceptables de los mismos se combinan con excipientes y, de ser necesario, aglutinantes, agentes desintegrantes, lubricantes, agentes colorantes, agentes saborizantes y similares; y luego se formulan en polvos, gránulos finos, gránulos, tabletas, tabletas recubiertas, cápsulas y similares mediante métodos de rutina.

Los ingredientes incluyen, por ejemplo, aceites animales y vegetales tal como aceites de soja, sebo bovino y glicéridos sintéticos; hidrocarburos tal como parafina líquida, escualeno y parafina sólida; aceites de ésteres tales como miristato de cotildodecilo y miristato de isopropilo; alcoholes superiores tales como alcohol cetosteárico y alcohol behenilo; resinas de silicio; tensioactivos tales como ésteres de ácidos grasos de polioxietileno; ésteres de ácidos grasos de sorbitano, ésteres de ácidos grasos de glicerina, ésteres de ácidos grasos de sorbitano de polioxietileno, aceites de colza y copolímeros en bloque de polioxietileno/polioxipropileno; polímeros solubles en agua tales como hidroxietil celulosa, ácidos poliacrílicos, polímeros carboxivinilo, polietilenglicol, polivinilpirrolidona, y metilcelulosa; alcoholes inferiores tales como etanol e isopropanol; polialcoholes tales como glicerina, propilenglicol, dipropilenglicol y sorbitol; sacáridos tales como glucosa y sacarosa; polvos inorgánicos tales como anhídrido silícico, silicato de magnesio aluminio y silicato de aluminio; y agua purificada.

Los excipientes incluyen, por ejemplo, lactosa, almidón de maíz, sacarosa, glucosa, manitol, sorbitol, celulosa cristalina y dióxido de silicio.

Los aglutinantes incluyen, por ejemplo, alcohol polivinílico, éter polivinílico, metil celulosa, etil celulosa, goma arábiga, tragacanto, gelatina, goma laca, hidropropil metil celulosa, hidroxipropil celulosa, polivinilpirrolidona, polipropilén glicol/polímero en bloque de polioxietileno y meglumina.

Los agentes desintegrantes incluyen, por ejemplo, almidón, goma agar, polvo de gelatina, celulosa cristalina,

carbonato de calcio, bicarbonato de sodio, citrato de calcio, dextrano, pectina y carboximetilcelulosa de calcio.

Los lubricantes incluyen, por ejemplo, estearato de magnesio, talco, polietilen glicol, sílice y aceite vegetal endurecido.

5 Se utilizan agentes colorantes aprobados para el uso como aditivos para productos farmacéuticos. Los agentes saborizantes utilizados incluyen, por ejemplo, polvo de cacao, mentol, polvo aromático, aceite de menta, borneol y polvo de canela.

10 Por supuesto, estas tabletas y gránulos pueden recubrirse con azúcar o, de ser necesario, otros recubrimientos adecuados. Alternativamente, cuando se producen preparaciones líquidas tales como jarabes e inyecciones, los compuestos de la presente invención o sales farmacológicamente aceptables de los mismos se combinan con agentes de ajuste de pH, solubilizantes, agentes isotónicos, o similares y, de ser necesario, agentes solubilizantes, estabilizadores y similares, y luego formularse mediante el uso de métodos de rutina.

15 Los métodos para producir preparaciones externas no se encuentran limitados y cualquiera puede producirse mediante métodos convencionales. Pueden utilizarse materiales para productos farmacéuticos, cuasi fármacos, cosméticos y estos pueden utilizarse como materiales de base en la producción. Específicamente, los materiales de base utilizados incluyen, por ejemplo, aceites animales y vegetales, aceites minerales, aceites de éster, ceras, alcoholes superiores, ácidos grasos, aceites de silicio, tensioactivos, fosfolípidos, alcoholes, polialcoholes, polímeros solubles en agua, minerales de arcilla y agua purificada. Adicionalmente, de forma necesaria, es posible agregar los agentes de ajuste de pH, antioxidantes, agentes quelantes, conservantes, colorantes, agentes saborizantes y similares. Sin embargo, los materiales de base para las preparaciones externas de la presente invención no se encuentran limitados a estos.

20 Adicionalmente, de ser necesario, las preparaciones pueden combinarse con componentes que tienen una actividad de inducir diferenciación o componentes tales como agentes de potenciamiento del flujo sanguíneo, agentes antimicrobianos, agentes antiflogísticos, agentes de activación celular, vitaminas, aminoácidos, humectantes y agentes queratolíticos. La cantidad de materiales de base descritos anteriormente es una cantidad que proporciona una concentración típicamente seleccionada en la producción de preparaciones externas.

25 Los agentes anticancerígenos (composiciones farmacéuticas granulares para el tratamiento del cáncer) para la administración de un compuesto que tiene una actividad inhibitoria de FGFR en la presente invención no se ven particularmente limitadas en su forma de dosificación; y los agentes pueden administrarse oralmente o parenteralmente mediante métodos comúnmente utilizados. Pueden formularse y administrarse como, por ejemplo, 30 tabletas, polvos, gránulos, cápsulas, jarabes, caramelos, inhalantes, supositorios, inyecciones, ungüentos, ungüentos oculares, colirios, gotas nasales, gotas óticas, cataplasmas, lociones, etc.

35 En la presente invención, la dosificación de un inhibidor de FGFR contenido en un agente anticancerígeno o una composición farmacéutica para el tratamiento del cáncer puede seleccionarse adecuadamente de acuerdo con la gravedad de los síntomas, edad, sexo, peso, forma de dosificación, tipo de sal, tipo específico de la enfermedad y similares.

40 La dosificación varía considerablemente dependiendo del tipo de la enfermedad del paciente, gravedad del síntoma, edad, sexo, sensibilidad al agente y similares. Típicamente, el agente se administra a un adulto una vez o varias veces al día en una dosis diaria de aproximadamente 0,03 a 1000 mg, preferiblemente 0,1 a 500 mg y más preferiblemente 0,1 a 100 mg. Los agentes o composiciones de la presente invención se administran una vez o varias veces al día. Cuando se utiliza una inyección, la dosis diaria es generalmente aproximadamente 1 µg/kg a 3,000 µg/kg, y preferiblemente aproximadamente 3 µg/kg a 1.000 µg/kg.

45 La presente invención también se relaciona con las composiciones farmacéuticas para el tratamiento del cáncer que comprende un compuesto descrita anteriormente que tienen actividad inhibitoria de FGFR y se caracterizan por su uso en la administración a pacientes que expresan un polipéptido de fusión de la presente invención o por que tienen un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión.

50 La presente invención se relaciona adicionalmente con métodos para tratar o evitar el cáncer que comprenden administrar una cantidad eficaz de los compuestos mencionados anteriormente que tienen una actividad inhibitoria de FGFR o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos a pacientes que expresan los polipéptidos de fusión o que tienen los polinucleótidos; el uso de los compuestos que tienen una actividad inhibitoria de FGFR o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos en la producción de composiciones farmacéuticas para el tratamiento del cáncer para la administración de pacientes que expresan los polipéptidos de fusión o que portan los polinucleótidos; compuestos que tienen una actividad inhibitoria del FGFR o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para el uso en el tratamiento o prevención para pacientes que expresan los polipéptidos de fusión o que portan los polinucleótidos; y similares.

55 Específicamente, el uso de las composiciones farmacéuticas para el tratamiento del cáncer se caracterizan por que si un paciente expresa el polipéptido de fusión o tiene un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión se evalúa mediante el uso de un polipéptido de fusión de la presente invención como un biomarcador antes de un

5 agente anticancerígeno descrito anteriormente que comprende un inhibidor de FGFR se administra al paciente, y el agente anticancerígeno que contiene un inhibidor de FGFR se administra al paciente solamente si el paciente expresa el polipéptido de fusión o porta un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión. Esto permite que se eviten los efectos secundarios en las terapias mediante el uso del agente y el control de la condición terapéutica para producir el mejor efecto terapéutico, lo que permite, por lo tanto, la medicina personalizada.

En la presente invención, específicamente, en caso de cáncer de vejiga, se descubrió que los genes de fusión de la presente invención se expresan de forma significativa cuando el cáncer de vejiga avanza a la etapa 3 o más adelante en la clasificación en etapas.

10 La clasificación en etapas del cáncer de vejiga es, específicamente, una clasificación mediante la clasificación de TNM. La clasificación de TNM se compone de un factor T (inicial de tumor) que muestra la extensión del tumor, un factor N (inicial de nodo linfático) que muestra la presencia o ausencia de la metástasis en el nodo linfático del tumor y un factor M (inicial de metástasis) que muestra la presencia o ausencia de metástasis distal distinta a la metástasis de nodo linfático. Entre estos, los cánceres en los que el tumor se infiltró en el tejido conectivo subepitelial se clasifica como etapa 1, aquellos en los que el tumor se infiltró en la capa muscular se clasifica como etapa 2, aquellos en los que el tumor se infiltró en el tejido graso que rodea la vejiga a aquellos en que el tumor se infiltró en cualquiera del intersticio de la próstata, útero o vagina se clasifican como etapa 3 y aquellos en los que el tumor se infiltró en la pared pélvica o la pared abdominal, o aquellos que muestran metástasis de nodo linfático o metástasis distal se clasifican como etapa 4.

20 Si un paciente expresa un polipéptido de fusión de la presente invención o tiene un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión puede evaluarse mediante el uso de métodos de la presente invención descritos anteriormente.

La presente descripción también se relaciona con métodos para identificar los compuestos que tienen la actividad inhibitoria del FGFR.

Específicamente, los métodos para la identificación de compuestos que tienen actividad inhibitoria de FGFR incluyen métodos que comprenden las etapas de:

- 25 (a) cultivo de células que expresan un polipéptido de fusión de la presente invención en presencia o ausencia de un compuesto de prueba y la determinación del nivel de proliferación celular;
- (b) comparación del nivel de proliferación de la célula cultivada entre cuando se encuentra presente y cuando se encuentra ausente el compuesto de prueba; y
- 30 (c) discernir si el compuesto de prueba tiene actividad inhibitoria de FGFR cuando el nivel de proliferación de la célula cultivada en presencia del compuesto de evaluación es menor que la de la célula cultivada en ausencia del compuesto de prueba.

35 Las células utilizadas para el método anterior pueden ser células vivas, líneas celulares establecidas o células recombinantes, siempre y cuando expresen un polipéptido de fusión de la presente invención. Dichas células recombinantes incluyen aquellas introducidas con un vector descrito anteriormente que tienen un polinucleótido que codifican un polipéptido de fusión de la presente invención.

Mientras tanto, las células vivas incluyen células recolectadas de pacientes con cáncer. Las líneas celulares establecidas incluyen líneas celulares cancerosas establecidas a partir de células cancerosas recolectadas del paciente con cáncer.

El cáncer incluye cualquier cáncer descrito anteriormente.

40 Los métodos para identificar los compuestos que tienen una actividad inhibitoria de FGFR también incluyen aquellos que comprenden las etapas de:

- (a) administración de un compuesto de prueba a un mamífero no humano trasplantado con células que expresan un polipéptido de fusión descrito anteriormente de la presente invención y la determinación del nivel de proliferación de las células;
- 45 (b) comparación del nivel de proliferación celular determinada en la etapa (a) con aquella determinada mediante el uso de un mamífero no humano al que se le trasplantaron las células, pero que no se le administró el compuesto de prueba; y
- (c) discernir que el compuesto de prueba tiene una actividad inhibitoria de FGFR cuando el nivel de proliferación celular determinado en la etapa (a) es menor que aquella determinada mediante el uso de un mamífero humano al que se le trasplantaron las células, pero al que no se le administró el compuesto de prueba.
- 50

Las células utilizadas para el método anterior pueden ser células vivas, líneas celulares establecidas o células recombinantes, siempre y cuando expresen un polipéptido de fusión de la presente invención. Dichas células recombinantes incluyen aquellas introducidas con un vector descrito anteriormente que tienen un polinucleótido que

codifican un polipéptido de fusión de la presente invención.

Mientras tanto, las células vivas incluyen células recolectadas de pacientes con cáncer. Las líneas celulares establecidas incluyen líneas celulares cancerosas establecidas a partir de células cancerosas recolectadas del paciente con cáncer.

5 El cáncer incluye cualquier cáncer descrito anteriormente.

En los métodos de la presente invención, el nivel de proliferación celular puede evaluarse de acuerdo con métodos de rutina, por ejemplo, mediante métodos colorimétricos que miden la actividad enzimática de la reducción de un tinte (MTT, XTT, MTS, WST, etc.) a una tinta de formazan (púrpura).

10 Cuando las células descritas anteriormente son células cancerosas, el nivel de proliferación celular también puede ser determinado mediante la medición del volumen o peso del tumor formado como resultado de la proliferación celular.

Los métodos para identificar los compuestos que tienen actividad inhibitoria de FGFR también comprenden realizaciones que utilizan ensayos de gen informante.

15 Los genes informantes incluyen genes utilizados comúnmente que codifican proteínas fluorescentes arbitrarias, por ejemplo, la proteína fluorescente verde (GFP, por sus siglas en inglés) derivadas de *Aequorea coerulescens*, luciferasa derivada de *Renilla reniformis* o similares, proteínas fluorescentes de coral (RCFP, por sus siglas en inglés) derivada de coral hermatípico, proteínas fluorescentes frutales y variantes de las mismas.

El ensayo de genes informantes puede llevarse a cabo, por ejemplo, de la siguiente manera.

20 Las células recombinantes se preparan mediante las células transformantes que son típicamente utilizadas para la producción de proteínas recombinantes con un vector de expresión insertado con un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión de la presente invención y un gen que codifica una proteína informante, de forma tal que el gen que codifica la proteína informante se transcribe en un ARNm dependientemente de la señal que transcribe el polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión en ARNm. Un compuesto de prueba entra en contacto con las células transformadas obtenidas. Si el compuesto afecta la expresión del polipéptido de fusión se analiza indirectamente mediante la determinación del nivel de expresión del polipéptido de fusión, que depende de la actividad del compuesto, mediante la medición de la intensidad de fluorescencia emitida mediante la proteína informante expresada de forma simultánea con el polipéptido de fusión (por ejemplo, la patente estadounidense n° 5,436,128; patente estadounidense n° 5,401,629).

25 La identificación de los compuestos mediante el uso del ensayo descrito anteriormente puede lograrse mediante la operación manual; sin embargo, puede también llevarse a cabo fácil y simplemente mediante el denominado "análisis de alto rendimiento" a través del uso de robots automáticos (Soshiki Baiyou Kougaku (The Tissue Culture Engineering), Vol. 23, n° 13, p.521-524; n° de patente estadounidense 5,670,113).

En adelante, la presente invención se describe específicamente mediante el uso de los Ejemplos, pero no debe interpretarse como que se encuentra limitada a los mismos.

35 A menos que se especifique lo contrario, cada etapa del análisis puede llevarse a cabo de acuerdo con los métodos conocidos.

Mientras tanto, cuando se utilizan los reactivos, kits o similares, comercialmente disponibles, los ensayos pueden llevarse a cabo de acuerdo con manuales incluidos en los productos comerciales.

[Ejemplo 1]

40 Expresión de los polipéptidos de fusión entre FGFR3 y otros polipéptidos en varias células cancerosas

(1) Análisis de ARN

45 El ARN se extrajo con el Mini Kit miRNeasy (QIAGEN) de cada uno de las cuatro líneas celulares humanas que expresan FGFR3 derivadas de cáncer de vejiga, RT112/84 (disponibles en la Colección Europea de Cultivos Celulares (ECACC, por sus siglas en inglés); catálogo n.º 85061106), RT4 (disponibles en la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC, por sus siglas en inglés); catálogo n.º HTB-2), SW780 (disponibles de ATCC; catálogo n.º CRL-2169) y BFTC-905 (disponible en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ); catálogo n.º ACC 361). Las secuencias se determinaron mediante el uso de lecturas de extremos en pares (longitud de lectura: 2x75bp) del sistema de secuenciación HiSeq™ (Illumina).

50 Las secuencias de nucleótidos determinadas se mapearon con respecto a transcripciones Refseq a través de la referencia a un método existente (Maher et ál., PNAS, 28 de julio de 2009, 106(30): 12353-12358) para buscar genes de fusión candidatos mediante la búsqueda de pares de secuencias de nucleótidos que se mapearon con respecto a diferentes genes. Adicionalmente, los sitios de fusión se identificaron mediante el uso de secuencias de

nucleótidos que no se mapearon con respecto a cualquier transcripción Refseq, en el que un compañero del par se mapea en un compañero en un gen de fusión candidato.

Como resultado, se identificaron los polinucleótidos que codifican un polipéptido de fusión de FGFR3 y TACC3, un polipéptido de fusión de FGFR3 y TACC3 y un polipéptido de fusión de FGFR3 y BAIAP2L1 a partir de tres tipos de líneas celulares de cáncer de vejiga: RT112/84, RT4 y SW780. Esto sugiere que los polipéptidos de fusión se expresaron en estas líneas celulares. Mientras tanto, un polinucleótido que codifica un polipéptido FGFR3 de tipo salvaje se confirmó en células BFTC-905.

(2) Análisis de ADNc

Se sintetizaron ADNc mediante transcripción inversa a través del uso de un kit de transcripción inversa, Transcriptor Universal cDNA Master (Roche), de acuerdo con el protocolo manual de instrucciones adjunto al kit. Los ARN utilizados en el Ejemplo 1(1), que fueron extraídos de tres tipos de células que se sugiere que expresan un polipéptido de fusión de FGFR3 y TACC3 o un polipéptido de fusión de FGFR3 y BAIAP2L1, cada uno utilizado como una plantilla.

Se llevó a cabo una PCR (35 ciclos de 15 segundos a 94 °C, 30 segundos a 55 °C, y un minuto a 68 °C) mediante el uso de cada uno de los ADNc preparados como una plantilla con polimerasa ADN polimerasa KOD-Plus-Ver. 2 (Toyobo) y un par de cebadores de oligonucleótidos (conjunto 1) que tiene las secuencias de nucleótidos de SEQ ID NO: 1 (F3fu-F3: gtgcacaacctcgactactacaag) y SEQ ID NO: 2 (RT112-R3: gtaatctccacgcactcttc), un par de cebadores de oligonucleótidos (conjunto 2) que tiene las secuencias de nucleótidos SEQ ID NO: 1 (F3fu-F3: gtgcacaacctcgactactacaag) y SEQ ID NO: 5 (RT4-R3: ggggtgtcactcttctgtctaagga), o un par de cebadores oligonucleótidos (conjunto 3) que tiene las secuencias de nucleótidos de SEQ ID NO: 3 (F3fu-F2) tgtttgaccgagtctactacc) y SEQ ID NO: 4 (SW780-R2: gacatgtcccagttcagttgac). Luego, se llevó a cabo la electroforesis.

Los resultados mostraron que con el conjunto 1 de cebadores, se observó una banda de aproximadamente 670 bp solamente cuando se utilizó el ADNc sintetizado de ARN de RT112/84 como una plantilla. En la amplificación con el conjunto 2 de cebadores, se observó una banda de aproximadamente 610 bp solamente cuando se utilizó el ADNc sintetizado de ARN de RT4 como una plantilla. En la amplificación con el conjunto 3 de cebadores, se observó una banda de aproximadamente 450 bp solamente cuando se utilizó el ADNc sintetizado de ARN de SW780 como una plantilla.

La secuencia se llevó a cabo mediante el método de secuenciación de Sanger con el kit de secuenciación por ciclos BigDye™ Terminator v3.1 (Life Technologies) mediante el uso de cada producto de PCR como una plantilla para determinar la secuencia de nucleótido (SEQ ID NO: 14) del sitio de fusión en el polinucleótido de fusión de FGFR3 y TACC3 (polinucleótido v1 FGFR3-TACC3) expresado en RT112/84, la secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO: 15) del sitio de fusión en el polinucleótido de fusión de FGFR3 y TACC3 (polinucleótido v2 FGFR3-TACC3) expresado en RT4 y la secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO: 16) del sitio de fusión en el polinucleótido de fusión de FGFR3 y BAIAP2L1 (polinucleótido FGFR3-BAIAP2L1) expresado en SW780.

En función de la información obtenida como se describe anteriormente, las secuencias de nucleótidos de los ADNc que codifican cada polipéptido de fusión (longitud completa) se determinaron mediante un método común.

La secuencia de nucleótidos del ADNc que codifica el polipéptido de fusión (longitud completa) de FGFR3 y TACC3 expresado en RT112/84 y su secuencia de aminoácido se muestran en SEQ ID NOS: 27 y 28, respectivamente.

La secuencia de nucleótidos del ADNc que codifica el polipéptido de fusión (longitud completa) de FGFR3 y TACC3 expresada en RT4 y su secuencia de aminoácido se muestran en SEQ ID NOS: 29 y 30, respectivamente.

Los resultados del análisis de la secuencia de nucleótidos del ADNc mostró que la secuencia de nucleótidos en las posiciones 2281 a 2379 de SEQ ID NO: 29 en una secuencia de ácido nucleico derivado de un intrón de un gen que codifica FGFR3 y codifica la secuencia de aminoácido en las posiciones 761 a 793 de SEQ ID NO: 30.

La secuencia de nucleótidos del ADNc que codifica el polipéptido de fusión (longitud completa) de FGFR3 y BAIAP2L1 expresada en SW780 y su secuencia de aminoácido se muestran en SEQ ID NOS: 31 y 32, respectivamente.

Tal como se describe anteriormente, mientras que existen dos tipos de polipéptidos de tipo salvaje para el FGFR3 humano que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOS: 6 y 7, respectivamente, las partes derivadas de FGFR3 del extremo N en estos polipéptidos de fusión son aquellos de FGFR3 de tipo salvaje que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

En función de los resultados de esta prueba, se asumió que los dos tipos de polipéptidos de fusión de TACC3 y el otro FGFR3 de tipo salvaje que tiene la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO: 7, un polipéptido de fusión de BAIAP2L1 y el otro FGFR3 de tipo salvaje que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 se expresa en varios tipos de células cancerosas derivadas de seres humanos.

La secuencia de nucleótidos del ADNc que codifica el polipéptido de fusión (longitud completa) de TACC3 y FGFR3 de tipo salvaje que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y se muestra la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NOS: 33 y 34, respectivamente.

5 La secuencia de nucleótidos del ADNc que codifica otro polipéptido de fusión (longitud completa) de TACC3 y FGFR3 de tipo salvaje que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y se muestra la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NOS: 35 y 36, respectivamente.

En este caso, la secuencia de nucleótidos en las posiciones 2275 a 2373 de la secuencia de nucleótidos de ADNc de SEQ ID NO: 35 es una secuencia de aminoácidos derivada de un intrón de un gen que codifica el gen FGFR3 y que codifica la secuencia de aminoácidos en posiciones 759 a 791 de SEQ ID NO: 36.

10 La secuencia de nucleótidos del ADNc que codifica otro polipéptido de fusión (longitud completa) de BAIAP2L1 y FGFR3 de tipo salvaje que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y se muestra la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NOS: 37 y 38, respectivamente.

15 Adicionalmente, se sospecha la presencia de un polinucleótido FGFR3-TACC3 en el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, el adenocarcinoma de pulmón y carcinoma de células escamosas de pulmón, mientras que se sospecha la presencia de un polinucleótido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 en el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma de células escamosas del pulmón y melanoma de piel.

[Ejemplo 2]

20 Análisis de varios inhibidores de FGFR para determinar sus actividades de inhibición de la actividad de cinasa de FGFR1, FGFR2 y FGFR3 e inhibir la proliferación celular de líneas celulares que expresan el polipéptido de fusión FGFR3-TACC3.

1. El análisis de varios inhibidores de FGFR para determinar su actividad de inhibición de la actividad de cinasa de FGFR1, FGFR2 y FGFR3 (in vitro)

(1) Actividad inhibitoria contra la enzima de FGFR1

25 Las actividades inhibitorias contra FGFR1 de los compuestos enumerados en las Tablas 1-1 a 1-5 se midieron en función de su actividad para inhibir la fosforilación del péptido biotinilado (EGPWLEEEEEAYGWMDf; SEQ ID NO: 39) mediante una enzima de FGFR1 humana (Carna Biosciences, cat 08-133). Se detectó el péptido biotinilado fosforilado mediante la fluorometría resuelta en el tiempo mediante el uso de un anticuerpo antifosfotirosina unido a criptato de europio y estreptavidina unida a un derivado de aloficocianina, XL665. La concentración inhibitoria máxima media (IC50) se calculó en función de la tasa de inhibición contra el grupo de control que no contiene la sustancia de prueba.

El resultado de prueba para cada compuesto se muestra en las Tablas 1-1 a 1-5.

(2) Actividad inhibitoria contra la enzima de FGFR2

35 Las actividades inhibitorias contra FGFR2 de los compuestos enumerados en las Tablas 1-1 a 1-5 se midieron en función de su actividad para inhibir la fosforilación del péptido biotinilado (EGPWLEEEEEAYGWMDf; SEQ ID NO: 39) mediante la enzima de FGFR2 humana preparada mediante el uso de un sistema de expresión de baculovirus. Se detectó el péptido biotinilado fosforilado mediante la fluorometría resuelta en el tiempo mediante el uso de un anticuerpo antifosfotirosina unido a criptato de europio y estreptavidina unida a un derivado de aloficocianina XL665. La concentración inhibitoria máxima media (IC50) se calculó en función de la tasa de inhibición contra el grupo de control que no contiene la sustancia de prueba.

40 El resultado de prueba para cada compuesto se muestra en las Tablas 1-1 a 1-5.

(3) Actividad inhibitoria contra la enzima de FGFR3

45 Las actividades inhibitorias contra FGFR3 de los compuestos enumerados en las Tablas 1-1 a 1-5 se midieron en función de su actividad para inhibir la fosforilación del péptido biotinilado (EGPWLEEEEEAYGWMDf; SEQ ID NO: 39) mediante una enzima de FGFR3 humana (Carna Biosciences, cat 08-135). Se detectó el péptido biotinilado fosforilado mediante la fluorometría resuelta en el tiempo mediante el uso de un anticuerpo antifosfotirosina unido a criptato de europio y estreptavidina unida a un derivado de aloficocianina, XL665. La concentración inhibitoria máxima media (IC50) se calculó en función de la tasa de inhibición contra el grupo de control que no contiene la sustancia de prueba.

El resultado de prueba para cada compuesto se muestra en las Tablas 1-1 a 1-5.

50 (4) Actividad inhibitoria de inhibidores de FGFR en la proliferación celular de las líneas celulares (in vitro)

Las células de una línea celular derivada del cáncer de vejiga RT-4 que expresa un polipéptido de fusión de FGFR3-

5 TACC3 y las células de una línea celular derivada del cáncer de colon HCT116 que no expresa un polipéptido de fusión de FGFR3, se colocaron en placas de 96 pocillos y se cultivaron durante cuatro días en presencia de DMSO (utilizado como control) o cada uno de los compuestos enumerados en las Tablas 1-1 a 1-5 en diluciones seriales en 2 veces (18 etapas) a una concentración máxima de 50 µM. Cuatro días después, se determinó el nivel de proliferación celular mediante el uso de WST-8 (DOJINDO LABORATORIES).

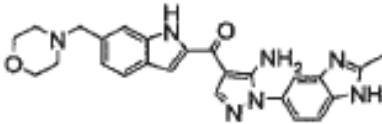
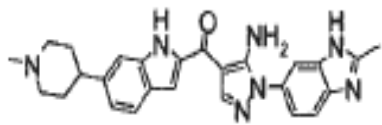
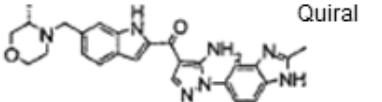
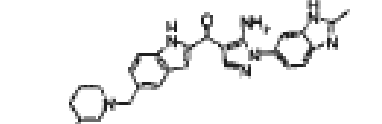
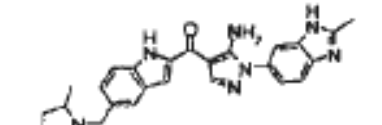
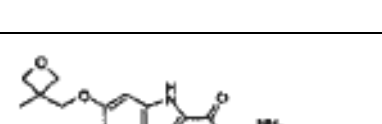
La actividad inhibitoria de cada compuesto en la proliferación celular de cada línea celular se calculó de acuerdo con:

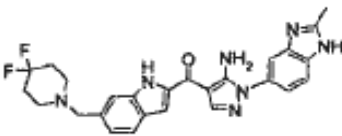
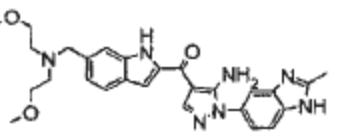
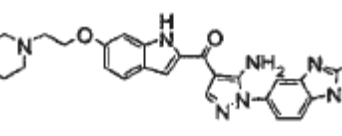
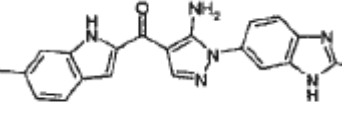
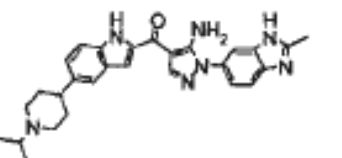
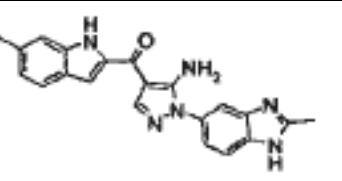
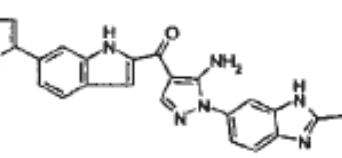
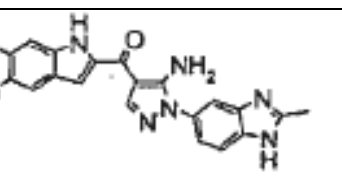
$$(1-T/C) \times 100 (\%)$$

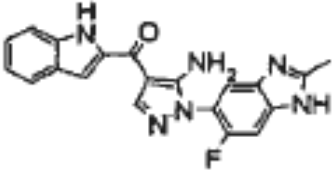
10 donde T representa la absorbancia a 450 nM en pocillos donde se incubaron las células en presencia de un compuesto en varias concentraciones y C representa la absorbancia a 450 nM en pocillos donde se incubaron las células en presencia de DMSO. Se calculó la IC50 mediante el uso del método de mínimos cuadrados.

Tal como se muestran en las Tablas 1-1 a 1-5, el resultado mostró que la concentración inhibitoria del 50 % de la proliferación celular (IC50) para las células que expresan el polipéptido de fusión fue significativamente inferior que la de las células que no expresan el polipéptido de fusión.

15 Tabla 1-1

COMPUESTO	FGFR1 IC ₅₀ (µmol/L)	FGFR2 IC ₅₀ (µmol/L)	FGFR3 IC ₅₀ (µmol/L)	HCT116 (CRC) IC ₅₀ (µmol/L)	RT-4 (Vejiga) IC ₅₀ (µmol/L)
1 	0,0014	0,0034	0,0035	4,1	0,02
2 	0,0069	0,0084	0,018	2,7	0,016
3  Quiral	0,0027	0,0043	0,0054	2,9	0,018
4 	0,00067	0,0085	0,030	9,5	0,018
5 	0,00032	0,012	0,012	11	0,021
6 	0,00081	0,012	0,0037	12	0,024

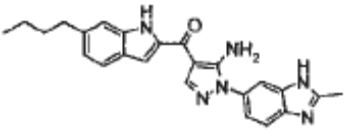
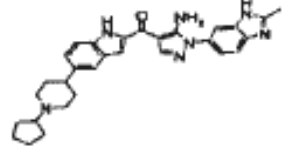
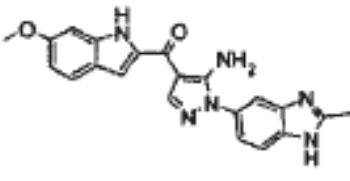
7		0,0029	0,0094	0,13	3,2	0,024
8		0,0096	0,023	0,034	11	0,029
9		0,010	0,015	0,046	6,3	0,030
10		0,009	0,0062	0,032	>50	0,039
11		0,011	0,017	0,065	5,7	0,052
12		0,045	0,021	0,082	7,2	0,058
13		0,036	0,010	0,35	0,39	0,065
14		0,038	0,0076	0,10	3,1	0,075

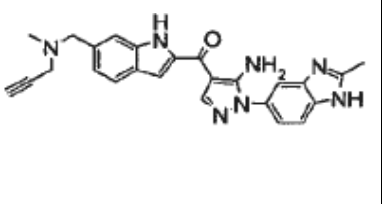
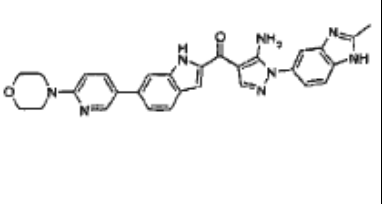
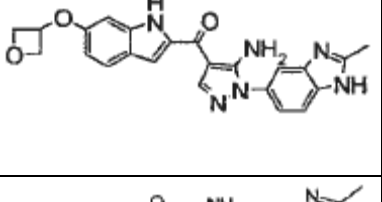
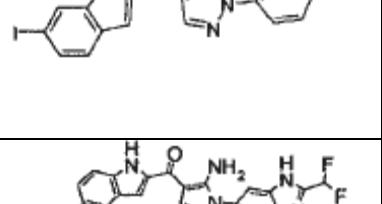
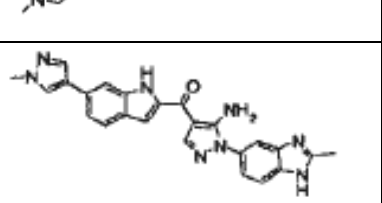
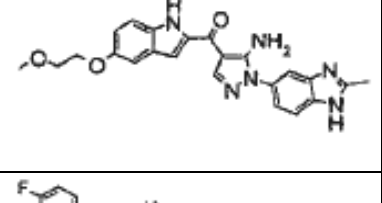
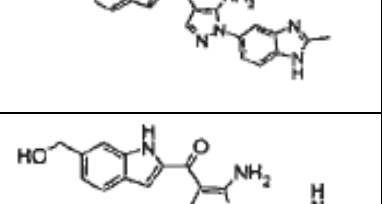

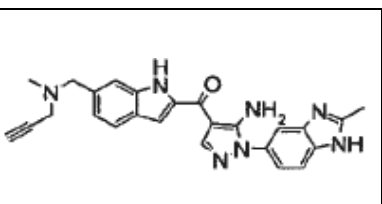
15		0,035	0,016	0,36	19	0,076
----	---	-------	-------	------	----	-------

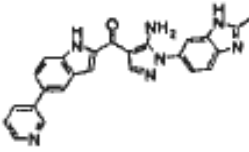
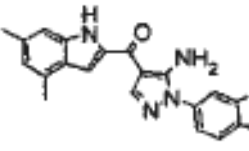
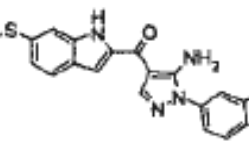
5

10

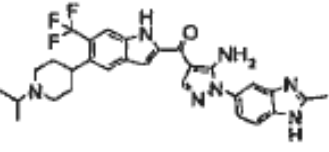
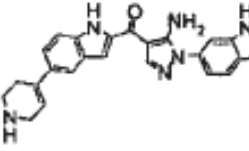
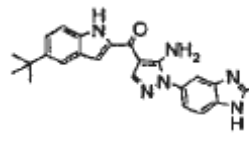
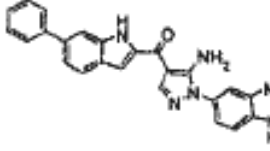
[Tabla 1 -2]

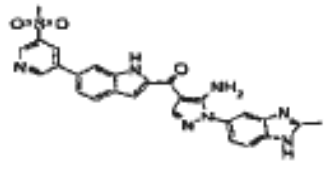
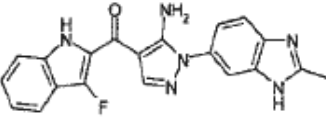
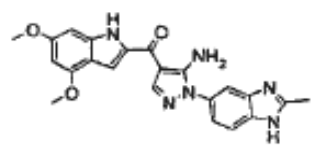
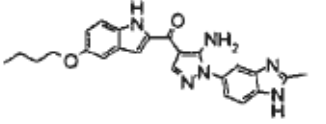
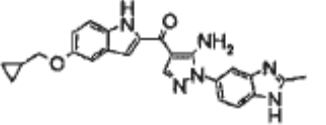
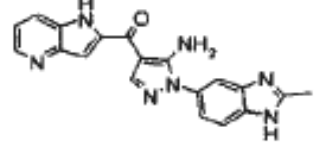
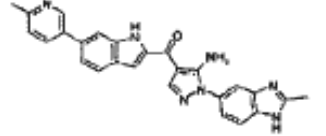
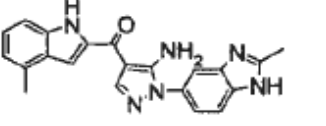
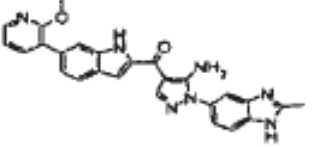
COMPUESTO		FGFR1 IC ₅₀ (μmol/L)	FGFR2 IC ₅₀ (μmol/L)	FGFR3 IC ₅₀ (μmol/L)	HCT116 (CRC) IC ₅₀ (μmol/L)	RT-4 (Vejiga) IC ₅₀ (μmol/L)
16		0,23	0,20	0,40	17	0,076
17		0,011	0,012	0,041	3,8	0,077
18		0,048	0,021	0,079	11	0,082

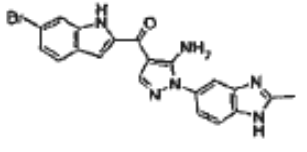
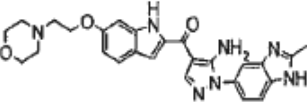
19		0,017	0,017	0,070	2,5	0,084
20		0,029	0,025	0,082	>50	0,088
21		0,021	0,020	0,090	21	0,088
22		0,016	0,0086	0,21	1,2	0,089
23		0,087	0,11	0,13	10	0,09
24		0,023	0,016	0,060	>50	0,092
25		0,018	0,012	0,045	>100	0,098
26		0,022	0,0055	0,094	11	0,13
27		0,015	0,023	0,077	25	0,15

28		0,048	0,039	0,16	21	0,2
29		0,03	0,015	0,14	8,5	0,16
30		0,033	0,020	0,077	13	0,16

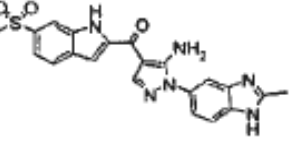
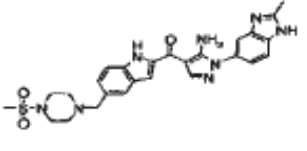
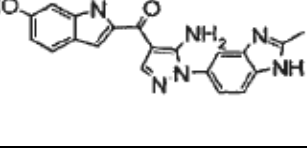
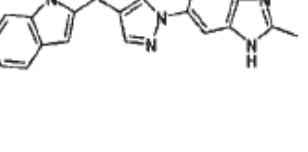
[Tabla 1 -3]

COMPUESTO		FGFR1 IC ₅₀ (μmol/L)	FGFR2 IC ₅₀ (μmol/L)	FGFR3 IC ₅₀ (μmol/L)	HCT116 (CRC) IC ₅₀ (μmol/L)	RT-4 (Vejiga) IC ₅₀ (μmol/L)
31		0,039	0,018	0,077	2	0,17
32		0,043	0,039	0,015	8,7	0,18
33		0,15	0,056	0,95	4,4	0,18
34		0,050	0,026	0,23	3,8	0,19

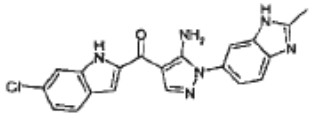
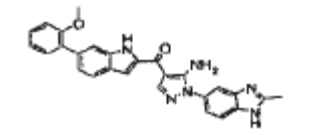
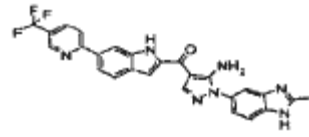
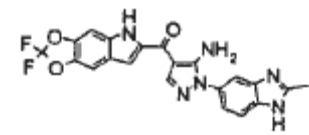
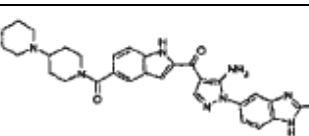
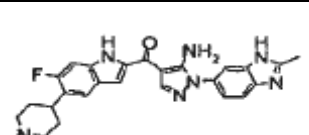
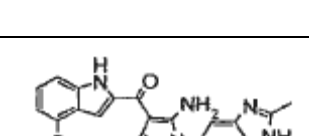
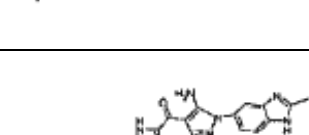
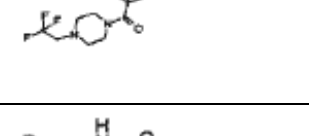
35		0,043	0,022	0,086	7,8	0,19
36		0,075	0,040	0,38	4,8	0,19
37		0,040	0,015	0,080	8,9	0,19
38		0,022	0,012	0,16	6,1	0,21
39		0,024	0,0083	0,37	11	0,21
40		0,042	0,026	0,15	19	0,22
41		0,053	0,017	0,21	>20	0,24
42		0,043	0,021	0,15	15	0,25
43		0,060	0,027	0,13	>50	0,25

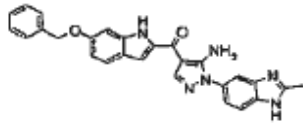
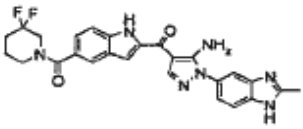
44		0,030	0,0089	0,11	10	0,26
45		0,0027	0,0032	0,0054	9,4	0,29

5 [Tabla 1 -4]

COMPUESTO		FGFR1 IC ₅₀ (μmol/L)	FGFR2 IC ₅₀ (μmol/L)	FGFR3 IC ₅₀ (μmol/L)	HCT116 (CRC) IC ₅₀ (μmol/L)	RT-4 (Vejiga) IC ₅₀ (μmol/L)
46		0,056	0,021	0,068	37	0,3
47		0,0079	0,011	0,036	14	0,320
48		0,027	0,018	0,12	37	0,32
49		0,0050	0,023	0,018	13	0,350

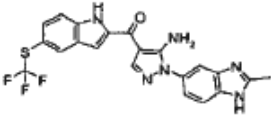
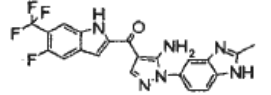
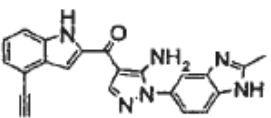
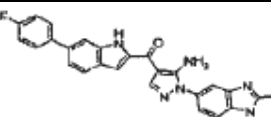
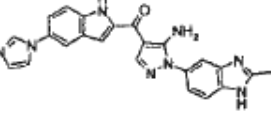
ES 2 643 571 T3

50		0,091	0,057	0,37	34	0,39
51		0,076	0,036	0,80	5,1	0,41
52		0,093	0,019	0,35	10	0,44
53		0,057	0,014	0,67	>20	0,44
54		0,038	0,022	0,082	>20	0,46
55		0,033	0,038	0,068	16	0,48
56		0,091	0,026	1,3	19	0,49
57		0,095	0,040	0,32	>20	0,51
58		0,0055	0,0040	0,029	12	0,56

59		0,046	0,016	0,25	3,3	0,58
60		0,030	0,0054	0,0031	17	0,6

5

[Tabla 1 -5]

COMPUESTO		FGFR1 IC ₅₀ (μmol/L)	FGFR2 IC ₅₀ (μmol/L)	FGFR3 IC ₅₀ (μmol/L)	HCT116 (CRC) IC ₅₀ (μmol/L)	RT-4 (Vejiga) IC ₅₀ (μmol/L)
61		0,14	0,078	0,37	9,1	0,62
62		0,060	0,029	0,18	1,7	0,64
63		0,077	0,022	0,32	13	0,67
64		0,042	0,031	<u>0,36</u>	1,2	0,68
65		0,031	0,020	0,11	23	0,68

66		0,025	0,048	0,043	>50	0,74
67		0,0030	0,0043	0,0067	7,3	0,75
68		0,092	0,037	0,33	>2	0,91
69		0,12	0,11	0,38	4,3	0,92
70		0,031	0,0085	0,50	9	0,97
71		0,051	0,034	0,18	3,8	0,99

[Ejemplo 3]

Análisis de inhibidores de FGFR sobre su actividad inhibitoria de proliferación celular contra diversas líneas celulares que expresan el polipéptido de fusión FGFR3-TACC3 o el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1

5 (1) Actividad inhibitoria de la proliferación celular de los inhibidores de FGFR contra diversas líneas celulares (in vitro)

Se evaluaron seis compuestos A a F (Tablas 2-1 y 2-2), que constituyen sustancias que eliminan la actividad cinasa de FGFR, para determinar sus efectos en la proliferación celular en un total de seis tipos de líneas celulares derivadas del cáncer de vejiga humanas: tres tipos de líneas celulares que expresan un polipéptido de fusión FGFR3-TACC3 o FGFR3-BAIAP2L1: RT112/84 (disponible de ECACC; n.º de catálogo 85061106), RT4 (disponible de ATCC; n.º de catálogo HTB-2) y SW780 (disponible de ATCC; n.º de catálogo CRL-2169); línea celular BFTC-905 (disponible de DSMZ; n.º de catálogo ACC 361) que expresa el polipéptido FGFR de tipo salvaje, pero no expresa los polipéptidos de fusión; línea celular UM-UC-14 (disponible de ECACC; n.º de catálogo 08090509) que expresa el polipéptido FGFR de tipo mutado, pero no expresa los polipéptidos de fusión; y la línea celular HT-1376 (disponible de ATCC; n.º de catálogo CRL-1472) que no expresa FGFR3.

Las células colocadas en placas de 96 pocillos (RT112/84, BFTC-905 y UM-UC-14: 3,0E+03 células/pocillo; SW780, RT4 y HT-1376: 5,0E+03 células/pocillo) se cultivaron durante cuatro días en presencia de DMSO (utilizado como un control) o cada compuesto en diluciones seriales en tres veces (9 etapas) a una concentración máxima de 20 µM. Cuatro días después, se determinó el nivel de proliferación celular mediante el uso de WST-8 (DOJINDO LABORATORIES).

La actividad inhibitoria de la proliferación celular de cada compuesto contra cada línea celular se calculó según:

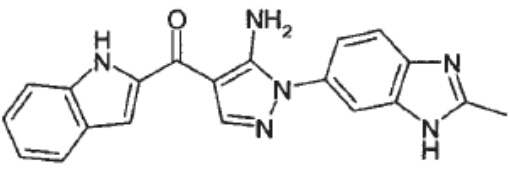
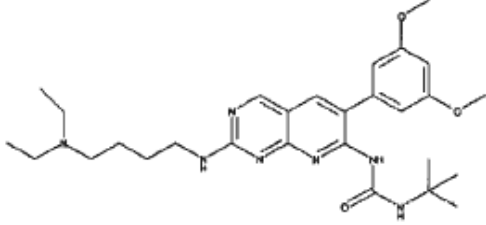
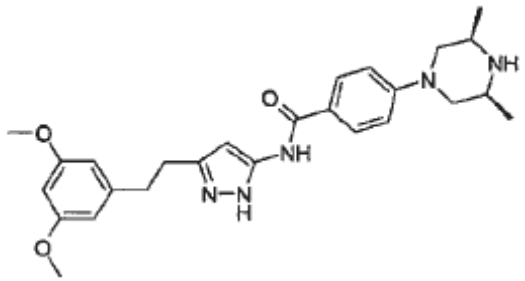
$$(1-T/C) \times 100 (\%)$$

en donde T representa la absorbancia a 450 nm en pocillos donde se incubaron las células en presencia de un compuesto en varias concentraciones y C representa la absorbancia a 450 nm en pocillos donde se incubaron las células en presencia de DMSO. Se calculó la IC50 mediante el uso del método de mínimos cuadrados.

Tal como se muestran en la Tabla 3, el resultado mostró que la concentración inhibitoria del 50 % de la proliferación celular (IC50) contra las células que expresan los polipéptidos de fusión fue significativamente inferior que aquella con respecto a las células que no expresan los polipéptidos de fusión.

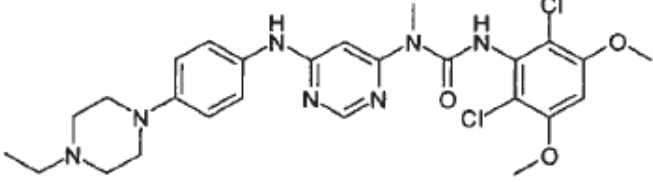
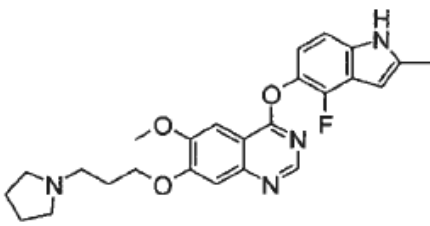
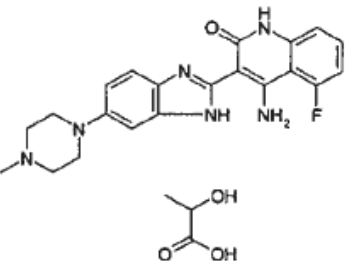
[Tabla 2 -1]

5

CÓDIGO	FÓRMULA ESTRUCTURAL/NOMBRE QUÍMICO
A	
B	<p>COMPUESTO REPRESENTADO POR [COMPUESTO 2]</p> 
C	<p>COMPUESTO REPRESENTADO POR [COMPUESTO 3]</p> 

[Tabla 2 -2]

CÓDIGO	FÓRMULA ESTRUCTURAL/NOMBRE QUÍMICO

D	COMPUESTO REPRESENTADO POR [COMPUESTO 4] 
E	COMPUESTO REPRESENTADO POR [COMPUESTO 5] 
F	COMPUESTO REPRESENTADO POR [COMPUESTO 6] 

[Tabla 3]

NOMBRE DE LA CÉLULA	IC ₅₀ (μ mol/L)					
	COMPUESTO A	COMPUESTO B	COMPUESTO C	COMPUESTO D	COMPUESTO E	COMPUESTO F
UM-UC-14	0,11	0,010	0,016	0,017	0,066	0,075
RT112/84	0,018	0,014	0,017	0,018	0,15	0,13
SW780	0,12	0,069	0,16	1,1	0,53	0,57
RT4	0,35	0,18	0,25	0,23	0,24	0,25
BFTC-905	>10	14	11	>20	2,5	2,8

HT-1376	>10	11	6,7	10	1,1	0,62
---------	-----	----	-----	----	-----	------

(2) Actividad inhibitoria de la proliferación celular de los inhibidores de FGFR contra células que expresan el polipéptido de fusión FGFR3-TACC3 (in vivo)

5 Se evaluó el efecto antitumoral mediante el uso de ratones con cáncer preparados mediante el trasplante de células de la línea celular de cáncer de vejiga humana RT112/84 (ECACC) de forma subcutánea en la región inguinal de ratones lampiños BALB/c (Charles River Japan, Inc.).

Los ratones lampiños se colocaron en cuarentena durante aproximadamente una semana antes del uso y se sometieron a un trasplante subcutáneo de aproximadamente 1×10^7 células RT112/84 en la región inguinal. Cuando el tamaño del tumor alcanzó aproximadamente 200 mm³, los ratones se utilizaron en los experimentos.

10 El Compuesto A se suspendió en una solución que contiene DMSO al 10 %, Cremophor EL al 10 %, PEG400 al 15 % y HOCD al 15 % y se administró oralmente a los ratones a una dosis de 20 mL/kg una vez al día.

Se determinó el efecto antitumoral mediante la comparación del crecimiento del tumor durante 11 días luego del primer día de administración (día 10 cuando se estableció el primer día de administración en el día 0) con el del grupo de control.

15 El efecto inhibitorio del crecimiento tumoral (TGI) = $(1 - [\text{nivel de crecimiento tumoral promedio del grupo tratado}] / [\text{nivel del crecimiento tumoral promedio del grupo de control}]) \times 100$ (%).

Se muestra el resultado en la Tabla 4.

Los inhibidores de FGFR exhibieron un crecimiento tumoral notablemente significativo en ratones con células tumorales que expresan el polipéptido de fusión FGFR3-TACC3 en una forma dependiente de la concentración.

20 [Tabla 4]

	EFECTO ANTITUMORAL	
	DOSIS (mg/kg)	TGI LUEGO DE 11 DÍAS (%)
Vehículo		-
COMPUESTO A	25	61
	50	86
	100	125

[Ejemplo 4]

Detección de los polinucleótidos que codifican los polipéptidos de fusión FGFR3-TACC3 o FGFR3-BAIAP2L1 en especímenes clínicos

25 (1) Detección del polinucleótido v1 que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-TACC3

30 Con el fin de detectar el ADNc del polinucleótido v1 que codifica el polipéptido de fusión FGFR3T-TACC3 en muestras clínicas, se llevó a cabo una PCR (42 ciclos de 10 segundos a 98 °C, 15 segundos a 60 °C y un minuto a 68 °C) con ADN polimerasa Tks Gflex™ (Takara bio) mediante el uso, como cebadores, oligonucleótidos que tienen las secuencias de nucleótidos de SEQ ID NO: 1 y 2, y como sustrato, ADNc (Origene) derivado de las muestras de cáncer de vejiga recolectadas de los pacientes con cáncer de vejiga (20 pacientes) o ADNc sintetizado de ARN de RT112/84 (ECACC). Cada una de las muestras amplificadas se sometió a electroforesis en conjunto con ADN marcador de tamaño (Invitrogen).

Tal como se muestra en la Figura 1, el resultado mostró que los fragmentos de ADNc del polinucleótido v1 que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-TACC3 no se detectó en las muestras clínicas.

(2) Detección del polinucleótido v2 que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-TACC3

Con el fin de detectar el ADNc del polinucleótido v2 que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-TACC3 en muestras clínicas, se llevó a cabo una PCR (42 ciclos de 10 segundos a 98 °C, 15 segundos a 60 °C y un minuto a 68 °C) con ADN polimerasa Tks Gflex™ (Takara bio) mediante el uso, como cebadores, oligonucleótidos que tienen las secuencias de nucleótidos de SEQ ID NO: 1 y 5, y como sustrato, ADNc (Origene) derivado de las muestras de cáncer de vejiga recolectadas de los pacientes con cáncer de vejiga (20 pacientes) o ADNc sintetizado de ARN de RT4 (ATCC). Cada una de las muestras amplificadas se sometió a electroforesis en conjunto con ADN marcador de tamaño (Invitrogen).

Tal como se muestra en la Figura 2, el resultado mostró que un fragmento de ADNc del polinucleótido v2 que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-TACC3 se detectó en un único caso.

El hallazgo anterior muestra que el método descrito anteriormente permite la detección del polinucleótido v2 que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-TACC3 en muestras derivadas de especímenes clínicos de cáncer de vejiga y, por lo tanto, permite la selección de pacientes que son positivos para el polinucleótido v2 que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-TACC3.

(3) Detección de un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1

Con el fin de detectar el ADNc para un polinucleótido FGFR3-BAIAP2L1 en muestras clínicas, se llevó a cabo una PCR (42 ciclos de 10 segundos a 98 °C, 15 segundos a 60 °C y un minutos de 68 °C) con ADN polimerasa Tks Gflex™ (Takara bio) mediante el uso, como cebadores, oligonucleótidos que tienen las secuencias de nucleótidos de SEQ ID NO: 3 y 4, y como sustrato, ADNc (Origene) derivado de las muestras de cáncer de vejiga recolectadas de los pacientes con cáncer de vejiga (20 pacientes) o ADNc sintetizado de ARN de SW780(ATCC). Cada una de las muestras amplificadas se sometió a electroforesis en conjunto con ADN marcador de tamaño (Invitrogen).

Tal como se muestra en la Figura 3, el resultado mostró que un fragmento de ADNc del polinucleótido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 se detectó en un total de dos casos.

El hallazgo anterior muestra que el método descrito anteriormente permite la detección de un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 en muestras derivadas de especímenes clínicos del cáncer de vejiga y, por lo tanto, permite la selección de pacientes que son positivos para un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1.

[Ejemplo 5]

Detección de polinucleótidos que codifican el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 y polipéptido de fusión FGFR3-TACC3 en especímenes clínicos de varios tipos de cáncer

(1) Detección de un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 en especímenes clínicos de cáncer de pulmón (cáncer distinto al de vejiga) (Prueba 1).

Con el fin de detectar el ADNc para un polinucleótido FGFR3-BAIAP2L1 a partir de especímenes clínicos de cáncer distinto al de vejiga, se llevó a cabo una PCR (42 ciclos de 98 °C durante 10 segundos, 60 °C durante 15 segundos y 68 °C durante un minuto) con ADN polimerasa Tks Gflex(tm) (TAKARA BIO INC) mediante el uso de un par de cebadores oligonucleótidos que tienen las secuencias de nucleótidos de SEQ ID NO: 3 (F3fu-F2: tgtttgaccgagtctacactcacc) y SEQ ID NO: 4 (SW780-R2: gacatgtcccagttcagttgac), y, como sustrato, 40 muestras de ADNc derivado de especímenes clínicos de cáncer de pulmón (OriGene) y ADNc sintetizado de ARN de SW780. Las muestras amplificadas se sometieron a electroforesis en conjunto con ADN marcador de tamaño (Invitrogen).

Tal como se muestra en la Figura 4A, el resultado mostró que un fragmento de un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 se detectó en un caso en total.

Adicionalmente, con el fin de confirmar la capacidad de reproducción, se llevó a cabo una PCR (42 ciclos de 98 °C durante 10 segundos, 60 °C durante 15 segundos y 68 °C durante un minuto) con ADN polimerasa Tks Gflex(tm) (TAKARA BIO INC) mediante el uso de un par de cebadores oligonucleótidos que tienen las secuencias de nucleótidos de SEQ ID NO: 17 (F3fu-F1: ccaactgcacacacgacctgta) y SEQ ID NO: 18 (SW780-R1: ccatcgtagtaggcttttctctg) y, como un sustrato, los ADNc derivados de los mismo especímenes clínicos de cáncer de pulmón y el ADNc sintetizado de ARN de SW780. Las muestras amplificadas se sometieron a electroforesis en conjunto con ADN marcador de tamaño (Invitrogen).

Tal como se muestra en la Figura 4B, el resultado mostró que un fragmento de un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 se detectó en un caso en total. El hallazgo anterior muestra que el método descrito anteriormente permite la detección de un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 en ARNc derivados de especímenes clínicos del cáncer distinto al de vejiga con diferentes tipos de cebadores y, por lo tanto, permite la selección de pacientes que son positivos para un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1.

(2) Detección de polinucleótidos que codifican los polipéptidos de fusión FGFR3-BAIAP2L1 en especímenes clínicos de cáncer de pulmón (cáncer distinto al de vejiga) (Prueba 2).

Se llevó a cabo una PCR (35 ciclos de 98 °C durante 10 segundos, 60 °C durante 15 segundos y 68 °C durante un minuto) con ADN polimerasa Tks Gflex™ (TAKARA BIO INC) mediante el uso de un par de cebadores oligonucleótidos (conjunto 3) que tienen las secuencias de nucleótidos de SEQ ID NO: 3 (F3fu-F2: tgtttgaccgagtctactacc) y SEQ ID NO: 4 (SW780-R2: gacatgtcccagttcagttgac), y, como sustrato, 83 muestras de ADNc derivado de especímenes clínicos de cáncer de pulmón (OriGene). La presencia o ausencia de amplificación de ADN se confirmó para cada muestra mediante electroforesis en gel de agarosa. Las bandas de ADN que tienen el mismo interés se detectaron en dos especímenes y se determinó mediante análisis de secuencia de ADN (método Sanger) que son secuencias de fragmentos de ADNc derivadas de los polinucleótidos de fusión FGFR3-BAIAP2L1. Por consiguiente, se confirmó la existencia del polinucleótido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 en ADNc derivados de especímenes clínicos de cáncer.

(3) Detección de polinucleótidos que codifican los polipéptidos de fusión FGFR3-TACC3 en especímenes clínicos de cáncer de pulmón, cáncer de esófago, cáncer gástrico y cáncer de hígado (todos cánceres distintos al cáncer de vejiga).

Se llevó a cabo una PCR (35 ciclos de 98 °C durante 10 segundos, 60 °C durante 15 segundos y 68 °C durante un minuto) con ADN polimerasa Tks Gflex™ (TAKARA BIO INC) mediante el uso de un par de cebadores oligonucleótidos (conjunto 1) que tienen las secuencias de nucleótidos de SEQ ID NO: 1 (F3fu-F3: gtgcacaacctcgactactacaag) y SEQ ID NO: 2 (RT112-R3: gtaatcctccacgcacttctc), y, como sustrato, 83 muestras de ADNc derivado de especímenes clínicos de cáncer de pulmón (OriGene), 18 muestras de ADNc derivados de especímenes clínicos de cáncer de esófago (OriGene), cinco muestras de ADNc derivado de especímenes clínicos de cáncer gástrico (OriGene) y cinco muestras de ADNc derivados de especímenes clínicos de cáncer de hígado (OriGene). La presencia o ausencia de amplificación de ADN se confirmó para cada muestra mediante electroforesis en gel de agarosa. Las bandas de ADN que tienen el tamaño de interés se detectaron en los especímenes de dos casos de cáncer de pulmón, dos casos de cáncer de esófago, un caso de cáncer gástrico y un caso de cáncer de hígado, y se determinó mediante análisis de la secuencia de ADN (método Sanger) que son secuencias de fragmentos de ADNc derivados de polinucleótidos de fusión FGFR3-TACC3. Por consiguiente, se confirmó la existencia de los polinucleótidos de fusión FGFR3-TACC3 en ADNc derivados de especímenes clínicos de varios tipos de cánceres.

(4) Detección de polinucleótidos que codifican los polipéptidos de fusión FGFR3-BAIAP2L1 en líneas celulares de cáncer de vejiga mediante el uso del método FISH

Con el fin de detectar los genes de fusión de FGFR3-BAIAP2L1 en las líneas celulares de cáncer de vejiga mediante el uso de fluorescencia en el método de hibridación in situ (FISH), se llevó a cabo un experimento mediante el uso de dos conjuntos de cebadores y muestras incrustadas en parafina y fijadas con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de líneas celulares de cáncer de vejiga RT112/84 y SW780.

Se llevó a cabo un análisis FISH mediante el uso de una sonda FISH de color dual para la división de FGFR3 (conjunto de sondas de señal dividida, GSP, Lab., Inc.) para detectar la translocación de una parte del gen FGFR3 en el cromosoma humano 4 a otro cromosoma, y mediante el uso de una sonda FISH de FGFR3 y BAIAP2L1 (conjunto de sonda de señal de fusión, GSP Lab., Inc) para detectar la integración del gen FGFR3 en el cromosoma humano 4 y el gen BAIAP2L1 en el cromosoma humano 7 en el mismo cromosoma.

Tal como se muestra en la Figura 5, los resultados confirmaron que, en las muestras de FFPE preparadas a partir de SW780, se detectaron señales de dos colores de forma individual mediante el análisis de FISH con una sonda de señal dividida (A2 en la Figura 5) y se detectó una señal fusionada en dos colores mediante el análisis FISH con un conjunto de sondas de señal de fusión (B2 en la Figura 5). Por consiguiente, el método mencionado anteriormente mostró que la separación del gen FGFR3 y la fusión de los genes FGFR3 y BAIAP2L1 puede detectarse mediante el método FISH.

[Ejemplo 6]

Evaluación de diversas líneas celulares que expresan un polipéptido de fusión FGFR3-TACC3 o un polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1.

(1) Evaluación de la dependencia de FGFR3 de diversas líneas celulares.

Se agregó ARNip contra FGFR3 o BAIAP2L1 a un total de cuatro tipos de células: líneas celulares humanas de cáncer de vejiga RT4 y SW780 que expresan un polipéptido de fusión FGFR3-TACC3 o un polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1; la línea celular UM-UC-14 que expresa un polipéptido FGFR3, pero que no expresa los polipéptidos de fusión; y la línea celular BFTC-905 que expresa el polipéptido FGFR3 de tipo salvaje, pero que no expresa los polipéptidos de fusión y se examinaron los efectos de cada tipo de ARNip en la proliferación celular.

Se utilizaron los reactivos de ARNip ON-TARGETplus (Thermo Fisher Scientific) para los ARNip.

Las células colocadas en placas de 96 pocillos (UM-UC-14 y BFTC-905: 1,5E+03 células/pocillo; y SW780 y RT4: 2,5E+03 células/pocillo) se cultivaron durante siete días en presencia de cada ARNip o ARNip de simulación (utilizado como control) en diluciones seriales en diez veces (3 etapas) a una concentración máxima de 10 nM. La proliferación celular luego de siete días se midió mediante el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo™ (Promega).

Tal como se muestra en la Figura 6, el resultado mostró que la actividad de proliferación de células que expresan un polipéptido FGFR3 de tipo salvaje, pero que no expresan los polipéptidos de fusión no fue inhibida por ARNip contra FGFR3 y BAIAP2L1. Por otra parte, la actividad de proliferación de la línea celular que expresa un polipéptido FGFR3 mutante, pero que no expresa los polipéptidos de fusión y la actividad de proliferación de células que expresan un polipéptido de fusión FGFR3-TACC3 se inhibieron solamente mediante ARNip con respecto FGFR3. Por otra parte, se confirmó que la proliferación de células que expresan un polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 fue inhibida por cualquiera de los ARNip con respecto a cada uno de los FGFR3 y BAIAP2L1.

(2) Evaluación de la inducción de apoptosis mediante un inhibidor de FGFR contra las células cancerosas que expresan un polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1

Cada uno de los seis compuestos A a F (Tablas 2-1 y 2-2), que constituyen sustancias que eliminan la actividad cinasa de FGFR, se agregaron a un total de cuatro tipos de células: línea celular humana derivada del cáncer de vejiga SW780 que expresa un polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1; la línea celular BFTC-905 que expresa el polipéptido FGFR de tipo salvaje, pero que no expresa los polipéptidos de fusión; la línea celular UM-UC-14 que expresa el polipéptido FGFR3 mutante, pero que no expresa los polipéptidos de fusión; y la línea celular HT-1376 que no expresa FGFR3 para evaluar si se indujo la apoptosis.

Las células colocadas en placas PrimeSurface™ 96U (Sumitomo Bakelite Co. Ltd.) (UM-UC-14 y BFTC-905: 3,0E+03 células/pocillos; y SW780 y HT-1376: 5,0E+03 células/pocillo) se cultivaron durante cuatro días en presencia de DMSO (utilizado como un control) o cada compuesto en diluciones seriales en tres veces (4 etapas) a una concentración máxima de 20 µM. Se midió la proliferación celular y la actividad de caspasa luego de cuatro días mediante un ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo™ (Promega), ensayo Caspase-Glo™ 3/7 (Promega, respectivamente). La suma de la actividad de caspasa en un único pocillo medida mediante Caspase-Glo™ 3/7 se dividió entre el conteo de células viables relativo en un pocillo único calculado a partir del valor de Caspase-Glo™ para calcular el valor de apoptosis. La inducción de apoptosis en cada célula se evaluó mediante la división del valor de apoptosis entre el valor de apoptosis para cada célula calculado en condiciones con DMSO agregado.

Tal como se muestra en la Figura 7, los resultados confirmaron que mientras no se indujo la apoptosis por el inhibidor en células que no respondieron a un inhibidor de FGFR, se indujo la apoptosis mediante el inhibidor de FGFR en células que respondieron a un inhibidor de FGFR.

(3) Actividad inhibitoria de la proliferación celular de los inhibidores de FGFR in vivo con respecto a células que expresan el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1

Se evaluó el efecto antitumoral mediante el uso de ratones con cáncer preparados mediante el trasplante de células de la línea celular de cáncer de vejiga humanas SW780 (ATCC) de forma subcutánea en la región inguinal de ratones lampiños BALB/c (Charles River Japan, Inc.). Los ratones lampiños se colocaron en cuarentena durante aproximadamente una semana antes del uso y se sometieron a un trasplante subcutáneo de 5×10^6 células SW780 en la región inguinal. Cuando el tamaño del tumor alcanzó alrededor de 200 mm³, los ratones se utilizaron en los experimentos. El compuesto A se suspendió en una solución que contiene DMSO al 10 %, Cremophor EL al 10 %, PEG400 al 15 % y HOCD al 15 % y se administró oralmente a los ratones a 20 mL/kg una vez al día. Se determinó el efecto antitumoral mediante la comparación del crecimiento del tumor durante 11 días luego del primer día de administración (día 10 cuando se estableció el primer día de administración en el día 0) con el del grupo de control.

El efecto inhibitorio del crecimiento tumoral (TGI) = $(1 - [\text{nivel de crecimiento tumoral promedio del grupo tratado}] / [\text{nivel del crecimiento tumoral promedio del grupo de control}]) \times 100$ (%).

Se muestra el resultado en la Tabla 5.

Los inhibidores de FGFR exhibieron un crecimiento tumoral notablemente significativo en ratones con células tumorales que expresan el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 en una forma dependiente de la concentración.

[Tabla 5]

	EFECTO ANTITUMORAL	
	DOSIS (mg/kg)	TGI LUEGO DE 11 DÍAS (%)
Vehículo		-
COMPUESTO A	25	47
	50	79
	100	111

[Ejemplo 7]

Examinación de la capacidad de transformación y capacidad tumorigénica de los polipéptidos de fusión FGFR3-BAIAP2L1

5 (1) Evaluación de la capacidad de transformación de un polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1

Un ADNc (SEQ ID NO: 10) que codifica FGFR3 (SEQ ID NO: 6) y un ADNc (SEQ ID NO: 31) que codifica FGFR3-BAIAP2L1 (SEQ ID NO: 32) se subclonaron, cada una, en un vector de expresión lentiviral pReceiver-Lv156 (GeneCopoeia); y se produjo un lentivirus para la expresión de cada polipéptido mediante el uso de Lenti-Pac™ Lentiviral Packaging Systems (GeneCopoeia).

10 Las células RAT-2 derivadas de fetos de rata se infectaron con cada lentivirus y las células se cultivaron en una condición con un marcador de selección Puomicina para establecer células RAT-2 que expresan de forma estable el polipéptido FGFR3 o el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1. Tal como se muestra en la Figura 8, los cambios monoclonales de las células establecidas que expresan el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 se observaron en un cultivo de monocapa.

15 Las células RAT-2 sin tratamiento (células originales), las células RAT-2 que expresan de forma estable el polipéptido FGFR3 o las células RAT-2 que expresan de forma estable el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 colocadas en placas a $2,0 \times 10^3$ células/pocillos en una placa PrimeSurface™ 96U (Sumitomo Bakelite Co. Ltd.) se cultivaron durante 14 días. Tal como se muestra en la Figura 9, cuando se observaron y fotografiaron las células luego de 14 días, se descubrió que la proliferación celular dependiente del andamiaje fue potenciada solamente en
20 células RAT-2 que expresan de forma estable el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1.

A partir del resultado, se confirmó que el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 tiene una capacidad de transformación en células normales.

(2) Evaluación de la capacidad de transformación de un polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 que no tiene una región de promoción de la dimerización

25 Un ADNc que codifica FGFR3-BAIAP2L1 Δ BAR, que no tiene el dominio BAR, que es una región que promueve la dimerización del polipéptido BAIAP2L1 (secuencia de aminoácidos: SEQ ID NO: 8 / secuencia de ácido nucleico: SEQ ID NO: 12), se produjo mediante un método de mutagénesis dirigida al sitio mediante el uso del método de PCR, se subclonaron los ADNc que codifican cada uno del FGFR3 (igual que anteriormente), FGFR3-BAIAP2L1 (igual que anteriormente) y FGFR3-BAIAP2L1 Δ BAR en el vector pCXND3 (KAKETSUKEN) para producir vectores
30 para la expresión de cada uno de los polipéptidos.

El vector pCXND3 (vehículo) o un vector para la expresión de cada uno de los polipéptidos se introdujo en células 293 embrionarias del riñón humanas mediante el uso del reactivo de transfección FuGENE™ HD (Promega). Un día después, las células se recolectaron como lisados celulares mediante el uso de un amortiguador de lisis celular (Cell Signaling Technology). Tal como se muestra en la Figura 10, cuando cada lisado celular se analizó mediante transferencia Western mediante el uso de un anticuerpo receptor Phospho-FGF (Tyr653/654) (Cell Signaling Technology) o un anticuerpo anti-FGFR3 (Santa Cruz), se confirmó que la fosforilación del FGFR, que fue
35 potenciada en el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1, se vio atenuada en el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 Δ BAR que no tiene el dominio BAR que es una región que promueve la dimerización del polipéptido BAIAP2L1.

40 Adicionalmente, mediante un método similar al del examen anteriormente mencionado (1) se establecieron células

RAT-2 que expresan de forma estable el polipéptido BAIAP2L1 (igual que anteriormente) o el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 ΔBAR (igual que anteriormente) mediante el uso de lentivirus.

Las células RAT-2 sin tratamiento (células originales), las células RAT-2 que expresan de forma estable el polipéptido FGFR3, células RAT-2 que expresan de forma estable el polipéptido BAIAP2L1 o células RAT-2 que expresan de forma estable el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 o las células RAT-2 que expresan de forma estable el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 ΔBAR se colocaron en placas a $2,0 \times 10^3$ células/pocillos en una placa PrimeSurface™ 96U (Sumitomo Bakelite Co. Ltd.) y se cultivaron durante 14 días. El conteo celular luego de 14 días se determinó mediante el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo™ (Promega). Tal como se muestra en la Figura 11, se observó que las células RAT-2, que expresan de forma estable el polipéptido BAIAP2L1, no tienen una capacidad de proliferación celular independiente del andamiaje y la capacidad de proliferación celular independiente del andamiaje, observada en células RAT-2 que expresan de forma estable el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 se perdió en las células RAT-2 que expresan de forma estable el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 ΔBAR.

Por consiguiente, se confirmó que la capacidad de transformación de un polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 en células normales es causada por la transautofosforilación potenciada del polipéptido FGFR3 debido al dominio que promueve la dimerización en el polipéptido BAIAP2L1.

(3) Evaluación de la capacidad tumorigénica de un polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 y la actividad de supresión de la ampliación tumoral de un inhibidor de FGFR

Las células RAT-2 que expresan, de forma estable, el polipéptido FGFR3, el polipéptido BAIAP2L1, el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 o el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 ΔBAR, establecidas en los experimentos mencionados anteriormente (1) y (2), se inocularon de forma subcutánea en la región inguinal de ratones lampiños BALB/c (Charles River Laboratories Japan) a $4,8 - 5,4 \times 10^6$ células y los ratones fueron observados durante 15 días. Tal como se muestra en la Figura 12, se confirmó la ampliación del tumor solamente en ratones inoculados con células RAT-2 que expresan de forma estable el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1.

Adicionalmente, las células RAT-2 que expresan de forma estable FGFR3-BAIAP2L1 se inocularon en ratones lampiños a $5,04 \times 10^6$ células. A partir de siete días luego de colocar las células, se administró de forma oral un compuesto A inhibidor de FGFR (igual que anteriormente) suspendido en una solución que contiene DMSO al 10 %, Cremphor EL al 10 %, PEG400 al 15 % y HPCD al 15 % una vez al día a ratones a una concentración de 20 mL/kg. Tal como se muestra en la Figura 13, se observó que la ampliación del tumor potenciada por el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 fue significativamente suprimida por el inhibidor de FGFR en una forma dependiente de la concentración.

Se confirmó que el polipéptido de fusión FGFR3-BAIAP2L1 tiene una capacidad tumorigénica muy potente y esta capacidad tumorigénica se vio suprimida por el inhibidor de FGFR.

Aplicación industrial

Los polipéptidos de fusión que comprenden un polipéptido FGFR3 y otro polipéptido de la presente invención se expresan específicamente en varios tipos de células cancerosas que incluyen células del cáncer de vejiga. La proliferación de células que expresan dichos polipéptidos de fusión se ve significativamente inhibida mediante compuestos que tienen una actividad inhibitoria de FGFR. Por lo tanto, el uso de un polipéptido de fusión de la presente invención como un biomarcador para la terapia del cáncer en función del inhibidor de FGFR permite evaluar a cada paciente para determinar la aplicabilidad o modo de uso del inhibidor de FGFR y permite evitar los efectos secundarios y controlar el modo de terapia para producir el mejor efecto terapéutico en la terapia en función del inhibidor de FGFR. Por lo tanto, esto permite una medicina personalizada.

Además, el uso de polipéptidos de fusión de la presente invención como un objetivo en el desarrollo de agentes terapéuticos contra el cáncer que se dirijan a FGFR, es decir, agentes terapéuticos direccionados de forma molecular, permite proporcionar inhibidores de FGFR con altos niveles de especificidad y actividad antitumoral a células cancerosas objetivo, así como también agentes terapéuticos contra el cáncer que comprenden los inhibidores.

Los inhibidores de FGFR obtenidos como se describen anteriormente tienen una especificidad alta hacia las células cancerosas objetivo y, por lo tanto, es posible proporcionar agentes terapéuticos contra el cáncer con una gran actividad antitumoral, pero pocos efectos secundarios.

Adicionalmente, polipéptidos de fusión de la presente invención tiene una correlación estrecha con varios tipos de cáncer y, por lo tanto, puede evaluarse la susceptibilidad al cáncer (sensibilidad al cáncer) de los sujetos, si los sujetos se encuentran afectados por el cáncer o si el cáncer avanzó en los sujetos mediante la determinación de la presencia o ausencia del polipéptido de fusión de la presente invención o un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión en muestras de sujetos que incluyen no solamente pacientes con cáncer, sino también personas saludables.

Además, los polipéptidos de fusión de la presente invención tienen una correlación estrecha con varios tipos de cánceres y, por lo tanto, pueden proporcionarse inhibidores de FGFR con alta especificidad en FGFR mediante la identificación de un compuesto de evaluación que inhibe la proliferación de células (tal como células cancerosas) que expresan los polipéptidos de fusión de la presente invención mediante la comparación del nivel de proliferación celular entre cuando se encuentra presente y cuando se encuentra ausente el compuesto de prueba.

5

LISTA DE SECUENCIAS

- <110> CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA
- 5 <120> Genes de fusión FGFR3 y fármaco que se dirige a los mismos
 <130> C1-A1210Y1P
 <150> JP 2012-214739
 10 <151> 27-09-2012
 <150> JP 2013-149217
 <151> 18-07-2013
- 15 <160> 39
 <170> PatentIn versión 3.5
- 20 <210> 1
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
- 25 <220>
 <223> Una secuencia de cebador sintetizada artificialmente
- <400> 1
 30 ggcacaacc tcgactacta caag 24
- <210> 2
 <211> 22
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia Artificial
- <220>
 <223> Una secuencia de cebador sintetizada artificialmente
- 40 <400> 2
 gtaatcctcc acgcactct tc 22
- <210> 3
 <211> 24
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
- <220>
 <223> Una secuencia de cebador sintetizada artificialmente
- 50 <400> 3
 tgtttgaccg agtctacact cacc 24
- <210> 4
 <211> 22
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia Artificial
- <220>
 <223> Una secuencia de cebador sintetizada artificialmente
- 60 <400> 4
 gacatgtccc agttcagttg ac 22
- 65 <210> 5
 <211> 24

ES 2 643 571 T3

<212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>

5 <223> Una secuencia de cebador sintetizada artificialmente

<400> 5

gggtgtcact cttctgtcta agga 24

10 <210> 6

<211> 808

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 6

Met Gly Ala Pro Ala Cys Ala Leu Ala Leu Cys Val Ala Val Ala Ile
 1 5 10 15

Val Ala Gly Ala Ser Ser Glu Ser Leu Gly Thr Glu Gln Arg Val Val
 20 25 30

Gly Arg Ala Ala Glu Val Pro Gly Pro Glu Pro Gly Gln Gln Glu Gln
 35 40 45

Leu Val Phe Gly Ser Gly Asp Ala Val Glu Leu Ser Cys Pro Pro Pro
 50 55 60

Gly Gly Gly Pro Met Gly Pro Thr Val Trp Val Lys Asp Gly Thr Gly
 65 70 75 80

Leu Val Pro Ser Glu Arg Val Leu Val Gly Pro Gln Arg Leu Gln Val
 85 90 95

Leu Asn Ala Ser His Glu Asp Ser Gly Ala Tyr Ser Cys Arg Gln Arg
 100 105 110

Leu Thr Gln Arg Val Leu Cys His Phe Ser Val Arg Val Thr Asp Ala
 115 120 125

Pro Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Gly Glu Asp Glu Ala Glu Asp Thr
 130 135 140

Gly Val Asp Thr Gly Ala Pro Tyr Trp Thr Arg Pro Glu Arg Met Asp
 145 150 155 160

Lys Lys Leu Leu Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Arg Phe Arg Cys

ES 2 643 571 T3

165
 Pro Ala Ala Gly Asn Pro Thr Pro Ser Ile Ser Trp Leu Lys Asn Gly
 180 185 190

Arg Glu Phe Arg Gly Glu His Arg Ile Gly Gly Ile Lys Leu Arg His
 195 200 205

Gln Gln Trp Ser Leu Val Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Arg Gly
 210 215 220

Asn Tyr Thr Cys Val Val Glu Asn Lys Phe Gly Ser Ile Arg Gln Thr
 225 230 235 240

Tyr Thr Leu Asp Val Leu Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln
 245 250 255

Ala Gly Leu Pro Ala Asn Gln Thr Ala Val Leu Gly Ser Asp Val Glu
 260 265 270

Phe His Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Leu
 275 280 285

Lys His Val Glu Val Asn Gly Ser Lys Val Gly Pro Asp Gly Thr Pro
 290 295 300

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

Val Arg Leu Arg Leu Ala Asn Val Ser Glu Arg Asp Gly Gly Glu Tyr
 325 330 335

Leu Cys Arg Ala Thr Asn Phe Ile Gly Val Ala Glu Lys Ala Phe Trp
 340 345 350

Leu Ser Val His Gly Pro Arg Ala Ala Glu Glu Glu Leu Val Glu Ala
 355 360 365

Asp Glu Ala Gly Ser Val Tyr Ala Gly Ile Leu Ser Tyr Gly Val Gly
 370 375 380

Phe Phe Leu Phe Ile Leu Val Val Ala Ala Val Thr Leu Cys Arg Leu
 385 390 395 400

Arg Ser Pro Pro Lys Lys Gly Leu Gly Ser Pro Thr Val His Lys Ile
 405 410 415

ES 2 643 571 T3

Ser Arg Phe Pro Leu Lys Arg Gln Val Ser Leu Glu Ser Asn Ala Ser
 420 425 430

Met Ser Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile Ala Arg Leu Ser Ser Gly
 435 440 445

Glu Gly Pro Thr Leu Ala Asn Val Ser Glu Leu Glu Leu Pro Ala Asp
 450 455 460

Pro Lys Trp Glu Leu Ser Arg Ala Arg Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu
 465 470 475 480

Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Met Ala Glu Ala Ile Gly Ile
 485 490 495

Asp Lys Asp Arg Ala Ala Lys Pro Val Thr Val Ala Val Lys Met Leu
 500 505 510

Lys Asp Asp Ala Thr Asp Lys Asp Leu Ser Asp Leu Val Ser Glu Met
 515 520 525

Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys His Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu
 530 535 540

Gly Ala Cys Thr Gln Gly Gly Pro Leu Tyr Val Leu Val Glu Tyr Ala
 545 550 555 560

Ala Lys Gly Asn Leu Arg Glu Phe Leu Arg Ala Arg Arg Pro Pro Gly
 565 570 575

Leu Asp Tyr Ser Phe Asp Thr Cys Lys Pro Pro Glu Glu Gln Leu Thr
 580 585 590

Phe Lys Asp Leu Val Ser Cys Ala Tyr Gln Val Ala Arg Gly Met Glu
 595 600 605

Tyr Leu Ala Ser Gln Lys Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn
 610 615 620

Val Leu Val Thr Glu Asp Asn Val Met Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu
 625 630 635 640

Ala Arg Asp Val His Asn Leu Asp Tyr Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly
 645 650 655

Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val
 660 665 670

ES 2 643 571 T3

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

Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu
690 695 700

Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn
705 710 715 720

Cys Thr His Asp Leu Tyr Met Ile Met Arg Glu Cys Trp His Ala Ala
725 730 735

Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg
740 745 750

Val Leu Thr Val Thr Ser Thr Asp Glu Tyr Leu Asp Leu Ser Ala Pro
755 760 765

Phe Glu Gln Tyr Ser Pro Gly Gly Gln Asp Thr Pro Ser Ser Ser Ser
770 775 780

Ser Gly Asp Asp Ser Val Phe Ala His Asp Leu Leu Pro Pro Ala Pro
785 790 795 800

Pro Ser Ser Gly Gly Ser Arg Thr
805

<210> 7

<211> 806

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Met Gly Ala Pro Ala Cys Ala Leu Ala Leu Cys Val Ala Val Ala Ile
1 5 10 15

Val Ala Gly Ala Ser Ser Glu Ser Leu Gly Thr Glu Gln Arg Val Val
20 25 30

Gly Arg Ala Ala Glu Val Pro Gly Pro Glu Pro Gly Gln Gln Glu Gln
35 40 45

Leu Val Phe Gly Ser Gly Asp Ala Val Glu Leu Ser Cys Pro Pro Pro
50 55 60

Gly Gly Gly Pro Met Gly Pro Thr Val Trp Val Lys Asp Gly Thr Gly
65 70 75 80

10

ES 2 643 571 T3

Leu Val Pro Ser Glu Arg Val Leu Val Gly Pro Gln Arg Leu Gln Val
 85 90 95
 Leu Asn Ala Ser His Glu Asp Ser Gly Ala Tyr Ser Cys Arg Gln Arg
 100 105 110
 Leu Thr Gln Arg Val Leu Cys His Phe Ser Val Arg Val Thr Asp Ala
 115 120 125
 Pro Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Gly Glu Asp Glu Ala Glu Asp Thr
 130 135 140
 Gly Val Asp Thr Gly Ala Pro Tyr Trp Thr Arg Pro Glu Arg Met Asp
 145 150 155 160
 Lys Lys Leu Leu Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Arg Phe Arg Cys
 165 170 175
 Pro Ala Ala Gly Asn Pro Thr Pro Ser Ile Ser Trp Leu Lys Asn Gly
 180 185 190
 Arg Glu Phe Arg Gly Glu His Arg Ile Gly Gly Ile Lys Leu Arg His
 195 200 205
 Gln Gln Trp Ser Leu Val Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Arg Gly
 210 215 220
 Asn Tyr Thr Cys Val Val Glu Asn Lys Phe Gly Ser Ile Arg Gln Thr
 225 230 235 240
 Tyr Thr Leu Asp Val Leu Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln
 245 250 255
 Ala Gly Leu Pro Ala Asn Gln Thr Ala Val Leu Gly Ser Asp Val Glu
 260 265 270
 Phe His Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Leu
 275 280 285
 Lys His Val Glu Val Asn Gly Ser Lys Val Gly Pro Asp Gly Thr Pro
 290 295 300
 Tyr Val Thr Val Leu Lys Thr Ala Gly Ala Asn Thr Thr Asp Lys Glu
 305 310 315 320
 Leu Glu Val Leu Ser Leu His Asn Val Thr Phe Glu Asp Ala Gly Glu
 325 330 335

ES 2 643 571 T3

Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Phe Ser His His Ser Ala
 340 345 350

Trp Leu Val Val Leu Pro Ala Glu Glu Glu Leu Val Glu Ala Asp Glu
 355 360 365

Ala Gly Ser Val Tyr Ala Gly Ile Leu Ser Tyr Gly Val Gly Phe Phe
 370 375 380

Leu Phe Ile Leu Val Val Ala Ala Val Thr Leu Cys Arg Leu Arg Ser
 385 390 395 400

Pro Pro Lys Lys Gly Leu Gly Ser Pro Thr Val His Lys Ile Ser Arg
 405 410 415

Phe Pro Leu Lys Arg Gln Val Ser Leu Glu Ser Asn Ala Ser Met Ser
 420 425 430

Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile Ala Arg Leu Ser Ser Gly Glu Gly
 435 440 445

Pro Thr Leu Ala Asn Val Ser Glu Leu Glu Leu Pro Ala Asp Pro Lys
 450 455 460

Trp Glu Leu Ser Arg Ala Arg Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu Gly Glu
 465 470 475 480

Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Met Ala Glu Ala Ile Gly Ile Asp Lys
 485 490 495

Asp Arg Ala Ala Lys Pro Val Thr Val Ala Val Lys Met Leu Lys Asp
 500 505 510

Asp Ala Thr Asp Lys Asp Leu Ser Asp Leu Val Ser Glu Met Glu Met
 515 520 525

Met Lys Met Ile Gly Lys His Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu Gly Ala
 530 535 540

Cys Thr Gln Gly Gly Pro Leu Tyr Val Leu Val Glu Tyr Ala Ala Lys
 545 550 555 560

Gly Asn Leu Arg Glu Phe Leu Arg Ala Arg Arg Pro Pro Gly Leu Asp
 565 570 575

Tyr Ser Phe Asp Thr Cys Lys Pro Pro Glu Glu Gln Leu Thr Phe Lys

ES 2 643 571 T3

580 585 590

Asp Leu Val Ser Cys Ala Tyr Gln Val Ala Arg Gly Met Glu Tyr Leu
595 600 605

Ala Ser Gln Lys Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu
610 615 620

Val Thr Glu Asp Asn Val Met Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg
625 630 635 640

Asp Val His Asn Leu Asp Tyr Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly Arg Leu
645 650 655

Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val Tyr Thr
660 665 670

His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe
675 680 685

Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu Leu Phe
690 695 700

Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn Cys Thr
705 710 715 720

His Asp Leu Tyr Met Ile Met Arg Glu Cys Trp His Ala Ala Pro Ser
725 730 735

Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg Val Leu
740 745 750

Thr Val Thr Ser Thr Asp Glu Tyr Leu Asp Leu Ser Ala Pro Phe Glu
755 760 765

Gln Tyr Ser Pro Gly Gly Gln Asp Thr Pro Ser Ser Ser Ser Gly
770 775 780

Asp Asp Ser Val Phe Ala His Asp Leu Leu Pro Pro Ala Pro Pro Ser
785 790 795 800

Ser Gly Gly Ser Arg Thr
805

<210> 8
 <211> 511
 5 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 8

ES 2 643 571 T3

Met Ser Arg Gly Pro Glu Glu Val Asn Arg Leu Thr Glu Ser Thr Tyr
1 5 10 15

Arg Asn Val Met Glu Gln Phe Asn Pro Gly Leu Arg Asn Leu Ile Asn
20 25 30

Leu Gly Lys Asn Tyr Glu Lys Ala Val Asn Ala Met Ile Leu Ala Gly
35 40 45

Lys Ala Tyr Tyr Asp Gly Val Ala Lys Ile Gly Glu Ile Ala Thr Gly
50 55 60

Ser Pro Val Ser Thr Glu Leu Gly His Val Leu Ile Glu Ile Ser Ser
65 70 75 80

Thr His Lys Lys Leu Asn Glu Ser Leu Asp Glu Asn Phe Lys Lys Phe
85 90 95

His Lys Glu Ile Ile His Glu Leu Glu Lys Lys Ile Glu Leu Asp Val
100 105 110

Lys Tyr Met Asn Ala Thr Leu Lys Arg Tyr Gln Thr Glu His Lys Asn
115 120 125

Lys Leu Glu Ser Leu Glu Lys Ser Gln Ala Glu Leu Lys Lys Ile Arg
130 135 140

Arg Lys Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ala Leu Lys Tyr Glu His Lys Glu
145 150 155 160

Ile Glu Tyr Val Glu Thr Val Thr Ser Arg Gln Ser Glu Ile Gln Lys
165 170 175

Phe Ile Ala Asp Gly Cys Lys Glu Ala Leu Leu Glu Glu Lys Arg Arg
180 185 190

Phe Cys Phe Leu Val Asp Lys His Cys Gly Phe Ala Asn His Ile His
195 200 205

Tyr Tyr His Leu Gln Ser Ala Glu Leu Leu Asn Ser Lys Leu Pro Arg
210 215 220

Trp Gln Glu Thr Cys Val Asp Ala Ile Lys Val Pro Glu Lys Ile Met
225 230 235 240

ES 2 643 571 T3

Asn Met Ile Glu Glu Ile Lys Thr Pro Ala Ser Thr Pro Val Ser Gly
 245 250 255

Thr Pro Gln Ala Ser Pro Met Ile Glu Arg Ser Asn Val Val Arg Lys
 260 265 270

Asp Tyr Asp Thr Leu Ser Lys Cys Ser Pro Lys Met Pro Pro Ala Pro
 275 280 285

Ser Gly Arg Ala Tyr Thr Ser Pro Leu Ile Asp Met Phe Asn Asn Pro
 290 295 300

Ala Thr Ala Ala Pro Asn Ser Gln Arg Val Asn Asn Ser Thr Gly Thr
 305 310 315 320

Ser Glu Asp Pro Ser Leu Gln Arg Ser Val Ser Val Ala Thr Gly Leu
 325 330 335

Asn Met Met Lys Lys Gln Lys Val Lys Thr Ile Phe Pro His Thr Ala
 340 345 350

Gly Ser Asn Lys Thr Leu Leu Ser Phe Ala Gln Gly Asp Val Ile Thr
 355 360 365

Leu Leu Ile Pro Glu Glu Lys Asp Gly Trp Leu Tyr Gly Glu His Asp
 370 375 380

Val Ser Lys Ala Arg Gly Trp Phe Pro Ser Ser Tyr Thr Lys Leu Leu
 385 390 395 400

Glu Glu Asn Glu Thr Glu Ala Val Thr Val Pro Thr Pro Ser Pro Thr
 405 410 415

Pro Val Arg Ser Ile Ser Thr Val Asn Leu Ser Glu Asn Ser Ser Val
 420 425 430

Val Ile Pro Pro Pro Asp Tyr Leu Glu Cys Leu Ser Met Gly Ala Ala
 435 440 445

Ala Asp Arg Arg Ala Asp Ser Ala Arg Thr Thr Ser Thr Phe Lys Ala
 450 455 460

Pro Ala Ser Lys Pro Glu Thr Ala Ala Pro Asn Asp Ala Asn Gly Thr
 465 470 475 480

Ala Lys Pro Pro Phe Leu Ser Gly Glu Asn Pro Phe Ala Thr Val Lys
 485 490 495

Leu Arg Pro Thr Val Thr Asn Asp Arg Ser Ala Pro Ile Ile Arg
 500 505 510

5 <210> 9
 <211> 838
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 9

ES 2 643 571 T3

Met Ser Leu Gln Val Leu Asn Asp Lys Asn Val Ser Asn Glu Lys Asn
 1 5 10 15

Thr Glu Asn Cys Asp Phe Leu Phe Ser Pro Pro Glu Val Thr Gly Arg
 20 25 30

Ser Ser Val Leu Arg Val Ser Gln Lys Glu Asn Val Pro Pro Lys Asn
 35 40 45

Leu Ala Lys Ala Met Lys Val Thr Phe Gln Thr Pro Leu Arg Asp Pro
 50 55 60

Gln Thr His Arg Ile Leu Ser Pro Ser Met Ala Ser Lys Leu Glu Ala
 65 70 75 80

Pro Phe Thr Gln Asp Asp Thr Leu Gly Leu Glu Asn Ser His Pro Val
 85 90 95

Trp Thr Gln Lys Glu Asn Gln Gln Leu Ile Lys Glu Val Asp Ala Lys
 100 105 110

Thr Thr His Gly Ile Leu Gln Lys Pro Val Glu Ala Asp Thr Asp Leu
 115 120 125

Leu Gly Asp Ala Ser Pro Ala Phe Gly Ser Gly Ser Ser Ser Glu Ser
 130 135 140

Gly Pro Gly Ala Leu Ala Asp Leu Asp Cys Ser Ser Ser Ser Gln Ser
 145 150 155 160

Pro Gly Ser Ser Glu Asn Gln Met Val Ser Pro Gly Lys Val Ser Gly
 165 170 175

Ser Pro Glu Gln Ala Val Glu Glu Asn Leu Ser Ser Tyr Ser Leu Asp
 180 185 190

Arg Arg Val Thr Pro Ala Ser Glu Thr Leu Glu Asp Pro Cys Arg Thr
 195 200 205

ES 2 643 571 T3

Glu Ser Gln His Lys Ala Glu Thr Pro His Gly Ala Glu Glu Glu Cys
 210 215 220

Lys Ala Glu Thr Pro His Gly Ala Glu Glu Glu Cys Arg His Gly Gly
 225 230 235 240

Val Cys Ala Pro Ala Ala Val Ala Thr Ser Pro Pro Gly Ala Ile Pro
 245 250 255

Lys Glu Ala Cys Gly Gly Ala Pro Leu Gln Gly Leu Pro Gly Glu Ala
 260 265 270

Leu Gly Cys Pro Ala Gly Val Gly Thr Pro Val Pro Ala Asp Gly Thr
 275 280 285

Gln Thr Leu Thr Cys Ala His Thr Ser Ala Pro Glu Ser Thr Ala Pro
 290 295 300

Thr Asn His Leu Val Ala Gly Arg Ala Met Thr Leu Ser Pro Gln Glu
 305 310 315 320

Glu Val Ala Ala Gly Gln Met Ala Ser Ser Ser Arg Ser Gly Pro Val
 325 330 335

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

Pro Pro Arg Arg Leu Gly Glu Arg Ser Gly Leu Lys Pro Pro Leu Arg
 355 360 365

Lys Ala Ala Val Arg Gln Gln Lys Ala Pro Gln Glu Val Glu Glu Asp
 370 375 380

Asp Gly Arg Ser Gly Ala Gly Glu Asp Pro Pro Met Pro Ala Ser Arg
 385 390 395 400

Gly Ser Tyr His Leu Asp Trp Asp Lys Met Asp Asp Pro Asn Phe Ile
 405 410 415

Pro Phe Gly Gly Asp Thr Lys Ser Gly Cys Ser Glu Ala Gln Pro Pro
 420 425 430

Glu Ser Pro Glu Thr Arg Leu Gly Gln Pro Ala Ala Glu Gln Leu His
 435 440 445

Ala Gly Pro Ala Thr Glu Glu Pro Gly Pro Cys Leu Ser Gln Gln Leu
 450 455 460

ES 2 643 571 T3

His Ser Ala Ser Ala Glu Asp Thr Pro Val Val Gln Leu Ala Ala Glu
465 470 475 480

Thr Pro Thr Ala Glu Ser Lys Glu Arg Ala Leu Asn Ser Ala Ser Thr
485 490 495

Ser Leu Pro Thr Ser Cys Pro Gly Ser Glu Pro Val Pro Thr His Gln
500 505 510

Gln Gly Gln Pro Ala Leu Glu Leu Lys Glu Glu Ser Phe Arg Asp Pro
515 520 525

Ala Glu Val Leu Gly Thr Gly Ala Glu Val Asp Tyr Leu Glu Gln Phe
530 535 540

Gly Thr Ser Ser Phe Lys Glu Ser Ala Leu Arg Lys Gln Ser Leu Tyr
545 550 555 560

Leu Lys Phe Asp Pro Leu Leu Arg Asp Ser Pro Gly Arg Pro Val Pro
565 570 575

Val Ala Thr Glu Thr Ser Ser Met His Gly Ala Asn Glu Thr Pro Ser
580 585 590

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

Leu Asp Ile Pro Val Pro Gly Pro Pro Pro Gly Val Pro Ala Pro Gly
610 615 620

Gly Pro Pro Leu Ser Thr Gly Pro Ile Val Asp Leu Leu Gln Tyr Ser
625 630 635 640

Gln Lys Asp Leu Asp Ala Val Val Lys Ala Thr Gln Glu Glu Asn Arg
645 650 655

Glu Leu Arg Ser Arg Cys Glu Glu Leu His Gly Lys Asn Leu Glu Leu
660 665 670

Gly Lys Ile Met Asp Arg Phe Glu Glu Val Val Tyr Gln Ala Met Glu
675 680 685

Glu Val Gln Lys Gln Lys Glu Leu Ser Lys Ala Glu Ile Gln Lys Val
690 695 700

Leu Lys Glu Lys Asp Gln Leu Thr Thr Asp Leu Asn Ser Met Glu Lys

ES 2 643 571 T3

705 710 715 720

Ser Phe Ser Asp Leu Phe Lys Arg Phe Glu Lys Gln Lys Glu Val Ile
 725 730 735

Glu Gly Tyr Arg Lys Asn Glu Glu Ser Leu Lys Lys Cys Val Glu Asp
 740 745 750

Tyr Leu Ala Arg Ile Thr Gln Glu Gly Gln Arg Tyr Gln Ala Leu Lys
 755 760 765

Ala His Ala Glu Glu Lys Leu Gln Leu Ala Asn Glu Glu Ile Ala Gln
 770 775 780

Val Arg Ser Lys Ala Gln Ala Glu Ala Leu Ala Leu Gln Ala Ser Leu
 785 790 795 800

Arg Lys Glu Gln Met Arg Ile Gln Ser Leu Glu Lys Thr Val Glu Gln
 805 810 815

Lys Thr Lys Glu Asn Glu Glu Leu Thr Arg Ile Cys Asp Asp Leu Ile
 820 825 830

Ser Lys Met Glu Lys Ile
 835

<210> 10
 <211> 2427
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 10
 atgggagccc ctgcctgcgc cctcgcgctc tgcgtggcgc tggccatcgt ggccggcgcc 60
 tcctcggagt ccttggggac ggagcagcgc gtcgtggggc gagcggcaga agtcccgggc 120
 ccagagcccg gccagcagga gcagttggtc ttcggcagcg gggatgctgt ggagctgagc 180
 tgtcccccgc ccgggggtgg tcccatgggg cccactgtct gggtaagga tggcacaggg 240
 ctggtgcct cggagcgtgt cctggtgggg ccccagcggc tgcagtgct gaatgcctcc 300
 cacgaggact ccggggccta cagctgccgg cagcggctca cgcagcgcgt actgtgccac 360
 ttcagtgtgc ggtgacaga cgctccatcc tcgggatg acgaagacgg ggaggacgag 420
 gctgaggaca caggtgtgga cacaggggcc ccttactgga cacggcccga gcgatggac 480
 aagaagctgc tggccgtgcc ggccgccaac accgtccgct tccgctgcc agccgctggc 540
 aaccactc cctccatctc ctggctgaag aacggcaggg agttccgcgg cgagcaccgc 600
 attggaggca tcaagctgcg gcatacagcag tggagcctgg tcatggaaag cgtggtgccc 660

10

ES 2 643 571 T3

tcggaccgcg gcaactacac ctgctcgtg gagaacaagt ttggcagcat ccggcagacg 720
 tacacgctgg acgtgctgga gcgctccccg caccggccca tcctgcaggc ggggctgccg 780
 gccaaccaga cggcgggtgct gggcagcgac gtggagttcc actgcaaggt gtacagtgac 840
 gcacagcccc acatccagtg gctcaagcac gtggaggtga atggcagcaa ggtgggcccc 900
 gacggcacac cctacgttac cgtgctcaag tcctggatca gtgagagtgt ggaggccgac 960
 gtgcgcctcc gcctggccaa tgtgtcggag cgggacgggg gcgagtacct ctgtcgagcc 1020
 accaatttca taggcgtggc cgagaaggcc ttttggtga gcgttcacgg gccccgagca 1080
 gccgaggagg agctgggtgga ggctgacgag gcgggcagtg tgtatgcagg catcctcagc 1140
 tacggggtgg gcttcttctt gttcatcctg gtggtggcgg ctgtgacgct ctgccgcctg 1200
 cgacgcccc ccaagaaagg cctgggctcc cccaccgtgc acaagatctc ccgcttcccg 1260
 ctcaagcgac aggtgtccct ggagtccaac gcgtccatga gctccaacac accactggtg 1320
 cgcatcgcaa ggctgtcctc aggggagggc cccacgctgg ccaatgtctc cgagctcgag 1380
 ctgcctgccg accccaaatg ggagctgtct cgggcccggc tgaccctggg caagcccctt 1440
 ggggagggct gcttcggcca ggtggtcatg gcggaggcca tcggcattga caaggaccgg 1500
 gccgccaagc ctgtcacctg agccgtgaag atgtgaaag acgatgccac tgacaaggac 1560
 ctgtcggacc tgggtgtctga gatggagatg atgaagatga tcgggaaaca caaaaacatc 1620
 atcaacctgc tgggcccctg cacgcagggc gggcccctgt acgtgctggt ggagtacgcg 1680
 gccaaaggta acctgcggga gtttctcggg gcgcggcggc ccccggcctt ggactactcc 1740
 ttcgacacct gcaagccgcc cgaggagcag ctcaccttca aggacctggt gtccctgtgcc 1800
 taccagtggt cccggggcat ggagtacttg gcctcccaga agtgcaccca cagggacctg 1860
 gctgcccgca atgtgctggt gaccgaggac aacgtgatga agatcgcaga cttcgggctg 1920
 gcccgggacg tgacacaacct cgactactac aagaagacaa ccaacggccg gctgcccgtg 1980
 aagtggatgg cgctgagggc cttgtttgac cgagtctaca ctcaccagag tgacgtctgg 2040
 tcctttgggg tcctgctctg ggagatcttc acgctggggg gctccccgta ccccggcatc 2100
 cctgtggagg agctcttcaa gctgctgaag gagggccacc gcatggacaa gcccgccaac 2160
 tgcacacacg acctgtacat gatcatgcgg gagtgtggc atgccgcgcc ctcccagagg 2220
 cccaccttca agcagctggt ggaggacctg gaccgtgtcc ttaccgtgac gtccaccgac 2280
 gagtacctgg acctgtcggc gcctttcgag cagtactccc cgggtggcca ggacaccccc 2340
 agctccagct cctcagggga cgactccgtg tttgcccacg acctgctgcc cccggcccc 2400
 cccagcagtg ggggctcgcg gacgtga 2427

<210> 11
 <211> 2421
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 11

ES 2 643 571 T3

atgggcgccc ctgcctgcgc cctcgcgctc tgcgtggccg tggccatcgt ggccggcgcc 60
 tcctcggagt ccttggggac ggagcagcgc gtcgtggggc gagcggcaga agtcccgggc 120
 ccagagcccc gccagcagga gcagttggtc ttcggcagcg gggatgctgt ggagctgagc 180
 tgtccccgc ccgggggtgg tcccatgggg cccactgtct gggtaagga tggcacaggg 240
 ctggtgccct cggagcgtgt cctggtgggg ccccagcggc tgcaggtgct gaatgcctcc 300
 cacgaggact ccggggccta cagctgccgg cagcggctca cgcagcgcgt actgtgccac 360
 ttcagtgtgc gggtgacaga cgctccatcc tcgggagatg acgaagacgg ggaggacgag 420
 gctgaggaca caggtgtgga cacaggggcc ccttactgga cacggcccga gcggatggac 480
 aagaagctgc tggccgtgcc ggccgccaac accgtccgct tccgctgccc agccgctggc 540
 aacccactc cctocatctc ctggctgaag aacggcaggg agttccgcgg cgagcaccgc 600
 attggaggca tcaagctgcg gcatcagcag tggagcctgg tcatgaaag cgtggtgccc 660
 tcggaccgcg gcaactacac ctgcgtcgtg gagaacaagt ttggcagcat ccggcagacg 720
 tacacgctgg acgtgctgga gcgctccccg caccggccca tcctgcaggc ggggctgccg 780
 gccaacccaga cggcgggtgt gggcagcgcac gtggagttcc actgcaaggt gtacagtgac 840
 gcacagcccc acatccagtg gctcaagcac gtggaggtga atggcagcaa ggtgggcccc 900
 gacggcacac cctacgttac cgtgctcaag acggcgggcg ctaacaccac cgacaaggag 960
 ctagaggttc tctccttgca caacgtcacc tttgaggacg ccggggagta cacctgcctg 1020
 gcgggcaatt ctattgggtt ttctcatcac tctcgtggc tgggtgtgct gccagccgag 1080
 gaggagctgg tggaggctga cgaggcgggc agtgtgtatg caggcatcct cagctacggg 1140
 gtgggcttct tctgtttcat cctggtggtg gcgctgtgta cgctctgccg cctgcgcagc 1200
 ccccccaaga aaggcctggg ctccccacc gtgcacaaga tctcccgtt cccgctcaag 1260
 cgacaggtgt cctcggagtc caacgcgtcc atgagctcca acacaccact ggtgcgcac 1320
 gcaaggctgt cctcagggga gggccccacg ctggccaatg tctccgagct cgagctgcct 1380
 gccgaccca aatgggagct gtctcgggcc cggctgacc tgggcaagcc ccttggggag 1440
 ggctgcttcg gccaggtggt catggcggag gccatcggca ttgacaagga ccgggcccgc 1500
 aagcctgtca ccgtagccgt gaagatgctg aaagacgatg ccaactgaaa ggacctgtcg 1560
 gacctggtgt ctgagatgga gatgatgaag atgatcggga aacacaaaaa catcatcaac 1620
 ctgctgggcg cctgcacgca gggcgggccc ctgtacgtgc tgggtggagta cgcggccaag 1680
 ggtaacctgc gggagtttct gcgggcgcgg cggcccccg gcctggacta ctccttcgac 1740
 acctgcaagc cgcccagga gcagctcacc ttcaaggacc tgggtgcctg tgcctaccag 1800

ES 2 643 571 T3

gtggcccggg gcatggagta ottggcctcc cagaagtgca tccacagga cctggctgcc 1860
 cgcaatgtgc tggtgaccga ggacaacgtg atgaagatcg cagacttcgg gctggcccgg 1920
 gacgtgcaca acctcgacta ctacaagaag acaaccaacg gccggctgcc cgtgaagtgg 1980
 atggcgctg aggccttgtt tgaccgagtc tacactcacc agagtgacgt ctggtccttt 2040
 ggggtcctgc tctgggagat cttcacgctg gggggctccc cgtaccccgg catccctgtg 2100
 gaggagctct tcaagctgct gaaggagggc caccgcatgg acaagcccgc caactgcaca 2160
 cacgacctgt acatgatcat gcgggagtg tggcatgccg cgccctcca gaggcccacc 2220
 ttcaagcagc tggtgaggga cctggaccgt gtcttaccg tgacgtccac cgacgagtac 2280
 ctggacctgt cgggccttt cgagcagtac tccccgggtg gccaggacac ccccagctcc 2340
 agctcctcag gggacgactc cgtgtttgcc cacgacctgc tgccccggc cccaccagc 2400
 agtgggggct cgcggacgtg a 2421

<210> 12
 <211> 1536
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 12
 atgtcccggg ggcccagga ggtgaaccgg ctacaggaga gcacctaccg gaatgttatg 60
 gaacagttca atcctgggct gcgaaattta ataacctgg ggaaaaatta tgagaaagct 120
 gtaaacgcta tgatcctggc agggaaaagcc tactacgatg gagtggccaa gatcgggtgag 180
 attgccactg ggtccccctg gtcaactgaa ctgggacatg tcctcataga gatttcaagt 240
 acccacaaga aactcaacga gagtcttgat gaaaatttta aaaaattcca caaagagatt 300
 atccatgagc tggagaagaa gatagaactt gacgtgaaat atatgaacgc aactctaaaa 360
 agataccaaa cagaacacaa gaataaatta gagtctttgg agaaatccca agctgagttg 420
 aagaagatca gaaggaaaag ccaaggaagc cgaaacgcac tcaaataatga acacaaagaa 480
 attgagtatg tggagaccgt tacttctcgt cagagtgaaa tccagaaatt cattgcagat 540
 ggttgcaaaag aggctctgct tgaagagaag aggcgcttct gctttctggt tgataagcac 600
 tgtggctttg caaaccacat acattattat cacttacagt ctgcagaact actgaattcc 660
 aagctgcctc ggtggcagga gacctgtggt gatgccatca aagtgccaga gaaaatcatg 720
 aatatgatcg aagaaataaa gaccccagcc tctaccccgg tgtctggaac tcctcaggct 780
 tcacccatga tcgagagaag caatgtggtt aggaaagatt acgacaccct ttctaaatgc 840
 tcaccaaaga tgccccccgc tccttcaggc agagcatata ccagtccctt gatcgatatg 900
 ttttaataacc cagccacggc tgccccgaat tcacaaaggg taataatcc aacaggtact 960
 tccgaagatc ccagtttaca gcgatcagtt tcggttgcaa cgggactgaa catgatgaag 1020

10

ES 2 643 571 T3

aagcagaaag tgaagacat cttccccgac actgcgggct ccaacaagac cttactcagc 1080
 ttgacacagg gagatgtcat cacgctgctc atccccgagg agaaggatgg ctggctctat 1140
 ggagaacacg acgtgtccaa ggcgaggggt tggttcccgt cgtcgtacac gaagttgctg 1200
 gaagaaaatg agacagaagc agtgaccgtg cccacgcaa gccccacacc agtgagaagc 1260
 atcagcaccg tgaacttgct tgagaatagc agtgttgtca tccccccacc cgactacttg 1320
 gaatgcttgt ccatgggggc agctgccgac aggagagcag attcggccag gacgacatcc 1380
 accttaagg ccccagcgtc caagcccag accgaggctc ctaacgatgc caacgggact 1440
 gcaaagccgc cttttctcag cggagaaaac ccctttgcca ctgtgaaact ccgcccgact 1500
 gtgacgaatg atcgcctcgc acccatcatt cgatga 1536

<210> 13
 <211> 2517
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 13
 atgagtctgc aggtcttaaa cgacaaaaat gtcagcaatg aaaaaaac agaaaattgc 60
 gacttctctg tttcgccacc agaagttacc ggaagatcgt ctgttctctg tgtgtcacag 120
 aaagaaaatg tgccacccaa gaacctggcc aaagctatga aggtgacttt tcagacacct 180
 ctgcgggatc cacagacgca caggattcta agtcctagca tggccagcaa acttgaggct 240
 cctttcactc aggatgacac ccttgactg gaaaactcac acccggctctg gacacagaaa 300
 gagaaccaac agctcatcaa ggaagtggat gccaaaacta ctcatggaat tctacagaaa 360
 ccagtggagg ctgacaccga cctcctgggg gatgcaagcc cagcctttgg gagtggcagc 420
 tccagcaggt ctggcccagg tgccctggct gacctggact gctcaagctc tcccagagc 480
 ccaggaagtt ctgagaacca aatggtgtct ccaggaaaag tgtctggcag ccctgagcaa 540
 gccgtggagg aaaaccttag ttcctattcc ttagacagaa gagtacacc cgcctctgag 600
 accctagaag acccttgtag gacagagtcc cagcacaag cggagactcc gcacggagcc 660
 gaggaagaat gcaagcggg gactccgac ggagccgagg agaatgccg gcacggggg 720
 gtctgtgctc cgcagcaggt ggccacttgc cctcctgggt caatccctaa ggaagcctgc 780
 ggaggagcac cctgcaggg tctgcctggc gaagccctgg gctgccctgc ggggtggggc 840
 accccctgct cagcagatgg cactcagacc cttacctgtg cacacacctc tgctcctgag 900
 agcacagccc caaccaacca cctggtggct ggagggcca tgaccctgag tcctcaggaa 960
 gaagtggctg caggccaaat ggccagctcc tcgaggagcg gacctgtaa actagaattt 1020
 gatgtatctg atggcgccac cagcaaaagg gcacccccac caaggagact gggagagagg 1080
 tccggcctca agcctccctt gaggaaagca gcagtggagg agcaaaaggc cccgcaggag 1140

10

ES 2 643 571 T3

gtggaggagg acgacggtag gagcggagca ggagaggacc ccccatgcc agcttctcgg 1200
 ggctcttacc acctcgactg ggacaaaatg gatgacccaa acttcatccc gttcggaggt 1260
 gacaccaagt ctggttgtag tgaggcccag ccccagaaa gccctgagac caggctgggc 1320
 cagccagcgg ctgaacagtt gcatgctggg cctgccacgg aggagccagg tccctgtctg 1380
 agccagcagc tgcattcagc ctcagcggag gacacgcctg tgggtcagtt ggcagccgag 1440
 accccaacag cagagagcaa ggagagagcc ttgaactctg ccagcacctc gcttcccaca 1500
 agctgtccag gcagtgagcc agtgcccacc catcagcagg ggcagcctgc cttggagctg 1560
 aaagaggaga gcttcagaga ccccgctgag gttctaggca cgggcgcgga ggtggattac 1620
 ctggagcagt ttggaacttc ctcgtttaag gagtggcctc tgaggaagca gtccttatac 1680
 ctcaagttcg acccctcctc gagggacagt cctggtagac cagtgccctg gccaccgag 1740
 accagcagca tgcacggtgc aaatgagact ccctcaggac gtccgcggga agccaagctt 1800
 gtggagttcg atttcttggg agcactggac attcctgtgc caggcccacc cccaggtggt 1860
 cccgcgcctg ggggccacc cctgtccacc ggacctatag tggacctgct ccagtacagc 1920
 cagaaggacc tggatgcagt ggtaaaggcg acacaggagg agaaccggga gctgaggagc 1980
 aggtgtgagg agctccacgg gaagaacctg gaactgggga agatcatgga caggttcgaa 2040
 gaggtgtgtg accaggccat ggaggaagtt cagaagcaga aggaactttc caaagctgaa 2100
 atccagaaag ttctaaaaga aaaagaccaa cttaccacag atctgaactc catggagaag 2160
 tccttctccg acctcttcaa gcgttttgag aacagaaag aggtgatcga gggctaccgc 2220
 aagaacgaag agtcaactgaa gaagtgcgtg gaggattacc tggcaaggat caccagagg 2280
 ggccagaggt accaagccct gaaggccac gcggaggaga agctgcagct ggcaaacgag 2340
 gagatcgccc aggtccggag caaggcccag gcggaagcgt tggccctcca ggccagcctg 2400
 aggaaggagc agatgcgcat ccagtcgctg gagaagacag tggagcagaa gactaaagag 2460
 aacgaggagc tgaccaggat ctgcgacgac ctcatctcca agatggagaa gatctga 2517

<210> 14
 <211> 383
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 14
 aactgcacac acgacctgta catgatcatg cgggagtgct ggcatgccgc gccctccag 60
 agggccacct tcaagcagct ggtggaggac ctggaccgtg tccttaccgt gacgtocacc 120
 gacgtaaagg cgacacagga ggagaaccgg gagctgagga gcagggtgta ggagctccac 180
 gggaaagaacc tggaaactgg gaagatcatg gacaggttcg aagaggttgt gtaccaggcc 240
 atggaggaag ttcagaagca gaaggaactt tccaaagctg aaatccagaa agttctaaaa 300
 gaaaaagacc aacttaccac agatctgaac tccatggaga agtccttctc cgacctcttc 360
 aagcgttttg agaaacagaa aga 383

10

<210> 15
 <211> 448
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

15

ES 2 643 571 T3

	<400> 15		
	gctccccgta ccccgcatc cctgtggagg agctcttcaa gctgctgaag gagggccacc	60	
	gcatggacaa gcccgccaac tgcacacacg acctgtacat gatcatgagg gaggctggc	120	
	atgccggccc ctcccagagg cccaccttca agcagctggg ggaggacctg gaccgtgtcc	180	
	ttaccgtgac gtccaccgac gtgagtgtct gctctggcct ggtgccaccc gcctatgccc	240	
	ctccccctgc cgtccccggc catcctgccc cccagagtgc tgagggtgtgg ggcgggcctt	300	
	ctggcccagg tgcctggct gacctggact gctcaagctc ttcccagagc ccaggaagtt	360	
	ctgagaacca aatggtgtct ccaggaagag tgtctggcag ccctgagcaa gccgtggagg	420	
	aaaaccttag ttcctattcc ttagacag	448	
5	<210> 16 <211> 427 <212> ADN <213> Homo sapiens		
10	<400> 16		
	tctacactca ccagagtgac gtctggctct ttggggctct gctctgggag atcttcacgc	60	
	tggggggctc cccgtacccc ggcattccctg tggaggagct cttcaagctg ctgaaggagg	120	
	gccaccgcat ggacaagccc gccaaactgca cacacgacct gtacatgata atgcgggagt	180	
	gctggcatgc cgcgccctcc cagaggccca ccttcaagca gctggtggag gacctggacc	240	
	gtgtccttac cgtgacgtcc accgacaatg ttatggaaca gttcaatcct gggctgcaaa	300	
	atttaataaa cctggggaaa aattatgaga aagctgtaaa cgctatgata ctggcaggaa	360	
	aagcctacta cgatggagtg gccaaagatcg gtgagattgc cactgggtcc cccgtgtcaa	420	
	ctgaact	427	
	<210> 17 <211> 21 <212> ADN <213> Secuencia Artificial		
15	<220> <223> Una secuencia de cebador sintetizada artificialmente		
20	<400> 17		
	caactgcaca cagcactgt a	21	
25	<210> 18 <211> 22 <212> ADN <213> Secuencia Artificial		
	<220> <223> Una secuencia de cebador sintetizada artificialmente		
30	<400> 18		
	ccatcgtagt aggcctttcc tg	22	
35	<210> 19 <211> 4 <212> PRT <213> Secuencia Artificial		
40	<220>		

<223> Secuencia de enlazador peptídico
 <400> 19
Gly Gly Gly Ser
 1
 5
 <210> 20
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 10
 <220>
 <223> Secuencia de enlazador peptídico
 <400> 20
Ser Gly Gly Gly
 1
 15
 <210> 21
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20
 <220>
 <223> Secuencia de enlazador peptídico
 25
 <400> 21
Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5
 <210> 22
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> Secuencia de enlazador peptídico
 35
 <400> 22
Ser Gly Gly Gly Gly
 1 5
 <210> 23
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Secuencia de enlazador peptídico
 45
 <400> 23
Gly Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5
 50
 <210> 24
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55
 <220>
 <223> Secuencia de enlazador peptídico
 <400> 24
Ser Gly Gly Gly Gly Gly
 1 5
 60

<210> 25
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Secuencia de enlazador peptídico

 <400> 25
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser
 10 1 5

 <210> 26
 <211> 7
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Secuencia de enlazador peptídico

 20 <400> 26
 Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 1 5

 <210> 27
 <211> 2856
 25 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <221> CDS
 30 <222> (1) .. (2856)

 <400> 27

ES 2 643 571 T3

atg ggc gcc cct gcc tgc gcc ctc gcg ctc tgc gtg gcc gtg gcc atc Met Gly Ala Pro Ala Cys Ala Leu Ala Leu Cys Val Ala Val Ala Ile 1 5 10 15	48
gtg gcc ggc gcc tcc tcg gag tcc ttg ggg acg gag cag cgc gtc gtg Val Ala Gly Ala Ser Ser Glu Ser Leu Gly Thr Glu Gln Arg Val Val 20 25 30	96
ggg cga gcg gca gaa gtc ccg ggc cca gag ccc ggc cag cag gag cag Gly Arg Ala Ala Glu Val Pro Gly Pro Glu Pro Gly Gln Gln Glu Gln 35 40 45	144
ttg gtc ttc ggc agc ggg gat gct gtg gag ctg agc tgt ccc ccg ccc Leu Val Phe Gly Ser Gly Asp Ala Val Glu Leu Ser Cys Pro Pro Pro 50 55 60	192
ggg ggt ggt ccc atg ggg ccc act gtc tgg gtc aag gat ggc aca ggg Gly Gly Gly Pro Met Gly Pro Thr Val Trp Val Lys Asp Gly Thr Gly 65 70 75 80	240
ctg gtg ccc tcg gag cgt gtc ctg gtg ggg ccc cag cgg ctg cag gtg Leu Val Pro Ser Glu Arg Val Leu Val Gly Pro Gln Arg Leu Gln Val 85 90 95	288
ctg aat gcc tcc cac gag gac tcc ggg gcc tac agc tgc cgg cag cgg Leu Asn Ala Ser His Glu Asp Ser Gly Ala Tyr Ser Cys Arg Gln Arg 100 105 110	336
ctc acg cag cgc gta ctg tgc cac ttc agt gtg cgg gtg aca gac gct Leu Thr Gln Arg Val Leu Cys His Phe Ser Val Arg Val Thr Asp Ala 115 120 125	384
cca tcc tcg gga gat gac gaa gac ggg gag gac gag gct gag gac aca Pro Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Gly Glu Asp Glu Ala Glu Asp Thr 130 135 140	432
ggg gtg gac aca ggg gcc cct tac tgg aca cgg ccc gag cgg atg gac Gly Val Asp Thr Gly Ala Pro Tyr Trp Thr Arg Pro Glu Arg Met Asp 145 150 155 160	480
aag aag ctg ctg gcc gtg ccg gcc gcc aac acc gtc cgc ttc cgc tgc Lys Lys Leu Leu Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Arg Phe Arg Cys 165 170 175	528
cca gcc gct ggc aac ccc act ccc tcc atc tcc tgg ctg aag aac ggc Pro Ala Ala Gly Asn Pro Thr Pro Ser Ile Ser Trp Leu Lys Asn Gly 180 185 190	576
agg gag ttc cgc ggc gag cac cgc att gga ggc atc aag ctg cgg cat Arg Glu Phe Arg Gly Glu His Arg Ile Gly Gly Ile Lys Leu Arg His 195 200 205	624
cag cag tgg agc ctg gtc atg gaa agc gtg gtg ccc tcg gac cgc gcc	672

ES 2 643 571 T3

Gln	Gln	Trp	Ser	Leu	Val	Met	Glu	Ser	Val	Val	Pro	Ser	Asp	Arg	Gly		
210						215					220						
aac	tac	acc	tgc	gtc	gtg	gag	aac	aag	ttt	ggc	agc	atc	cgg	cag	acg	720	
Asn	Tyr	Thr	Cys	Val	Val	Glu	Asn	Lys	Phe	Gly	Ser	Ile	Arg	Gln	Thr		
225				230					235					240			
tac	acg	ctg	gac	gtg	ctg	gag	cgc	tcc	ccg	cac	cgg	ccc	atc	ctg	cag	768	
Tyr	Thr	Leu	Asp	Val	Leu	Glu	Arg	Ser	Pro	His	Arg	Pro	Ile	Leu	Gln		
			245					250						255			
gcg	ggg	ctg	ccg	gcc	aac	cag	acg	gcg	gtg	ctg	ggc	agc	gac	gtg	gag	816	
Ala	Gly	Leu	Pro	Ala	Asn	Gln	Thr	Ala	Val	Leu	Gly	Ser	Asp	Val	Glu		
			260					265					270				
ttc	cac	tgc	aag	gtg	tac	agt	gac	gca	cag	ccc	cac	atc	cag	tgg	ctc	864	
Phe	His	Cys	Lys	Val	Tyr	Ser	Asp	Ala	Gln	Pro	His	Ile	Gln	Trp	Leu		
		275					280					285					
aag	cac	gtg	gag	gtg	aat	ggc	agc	aag	gtg	ggc	ccg	gac	ggc	aca	ccc	912	
Lys	His	Val	Glu	Val	Asn	Ser	Lys	Val	Gly	Pro	Asp	Gly	Thr	Pro			
		290				295					300						
tac	gtt	acc	gtg	ctc	aag	tcc	tgg	atc	agt	gag	agt	gtg	gag	gcc	gac	960	
Tyr	Val	Thr	Val	Leu	Lys	Ser	Trp	Ile	Ser	Glu	Ser	Val	Glu	Ala	Asp		
305				310						315				320			
gtg	cgc	ctc	cgc	ctg	gcc	aat	gtg	tcg	gag	cgg	gac	ggg	ggc	gag	tac	1008	
Val	Arg	Leu	Arg	Leu	Ala	Asn	Val	Ser	Glu	Arg	Asp	Gly	Gly	Glu	Tyr		
				325					330					335			
ctc	tgt	cga	gcc	acc	aat	ttc	ata	ggc	gtg	gcc	gag	aag	gcc	ttt	tgg	1056	
Leu	Cys	Arg	Ala	Thr	Asn	Phe	Ile	Gly	Val	Ala	Glu	Lys	Ala	Phe	Trp		
			340					345					350				
ctg	agc	gtt	cac	ggg	ccc	cga	gca	gcc	gag	gag	gag	ctg	gtg	gag	gct	1104	
Leu	Ser	Val	His	Gly	Pro	Arg	Ala	Ala	Glu	Glu	Glu	Leu	Val	Glu	Ala		
			355				360						365				
gac	gag	gcg	ggc	agt	gtg	tat	gca	ggc	atc	ctc	agc	tac	ggg	gtg	ggc	1152	
Asp	Glu	Ala	Gly	Ser	Val	Tyr	Ala	Gly	Ile	Leu	Ser	Tyr	Gly	Val	Gly		
		370				375					380						
ttc	ttc	ctg	ttc	atc	ctg	gtg	gtg	gcg	gct	gtg	acg	ctc	tgc	cgc	ctg	1200	
Phe	Phe	Leu	Phe	Ile	Leu	Val	Val	Ala	Ala	Val	Thr	Leu	Cys	Arg	Leu		
385					390					395					400		
cgc	agc	ccc	ccc	aag	aaa	ggc	ctg	ggc	tcc	ccc	acc	gtg	cac	aag	atc	1248	
Arg	Ser	Pro	Pro	Lys	Lys	Gly	Leu	Gly	Ser	Pro	Thr	Val	His	Lys	Ile		
				405					410					415			
tcc	cgc	ttc	ccg	ctc	aag	cga	cag	gtg	tcc	ctg	gag	tcc	aac	gcg	tcc	1296	
Ser	Arg	Phe	Pro	Leu	Lys	Arg	Gln	Val	Ser	Leu	Glu	Ser	Asn	Ala	Ser		
			420					425					430				
atg	agc	tcc	aac	aca	cca	ctg	gtg	cgc	atc	gca	agg	ctg	tcc	tca	ggg	1344	
Met	Ser	Ser	Asn	Thr	Pro	Leu	Val	Arg	Ile	Ala	Arg	Leu	Ser	Ser	Gly		
			435				440					445					
gag	ggc	ccc	acg	ctg	gcc	aat	gtc	tcc	gag	ctc	gag	ctg	cct	gcc	gac	1392	
Glu	Gly	Pro	Thr	Leu	Ala	Asn	Val	Ser	Glu	Leu	Glu	Leu	Pro	Ala	Asp		
			450			455					460						

ES 2 643 571 T3

ccc aaa tgg gag ctg tct cgg gcc cgg ctg acc ctg ggc aag ccc ctt Pro Lys Trp Glu Leu Ser Arg Ala Arg Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu 465 470 475 480	1440
ggg gag ggc tgc ttc ggc cag gtg gtc atg gcg gag gcc atc ggc att Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Met Ala Glu Ala Ile Gly Ile 485 490 495	1488
gac aag gac cgg gcc gcc aag cct gtc acc gta gcc gtg aag atg ctg Asp Lys Asp Arg Ala Ala Lys Pro Val Thr Val Ala Val Lys Met Leu 500 505 510	1536
aaa gac gat gcc act gac aag gac ctg tcg gac ctg gtg tct gag atg Lys Asp Asp Ala Thr Asp Lys Asp Leu Ser Asp Leu Val Ser Glu Met 515 520 525	1584
gag atg atg aag atg atc ggg aaa cac aaa aac atc atc aac ctg ctg Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys His Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu 530 535 540	1632
ggc gcc tgc acg cag gcc ggg ccc ctg tac gtg ctg gtg gag tac gcg Gly Ala Cys Thr Gln Gly Gly Pro Leu Tyr Val Leu Val Glu Tyr Ala 545 550 555 560	1680
gcc aag ggt aac ctg cgg gag ttt ctg cgg gcg cgg cgg ccc ccg gcc Ala Lys Gly Asn Leu Arg Glu Phe Leu Arg Ala Arg Arg Pro Pro Gly 565 570 575	1728
ctg gac tac tcc ttc gac acc tgc aag ccg ccc gag gag cag ctc acc Leu Asp Tyr Ser Phe Asp Thr Cys Lys Pro Pro Glu Glu Gln Leu Thr 580 585 590	1776
ttc aag gac ctg gtg tcc tgt gcc tac cag gtg gcc cgg ggc atg gag Phe Lys Asp Leu Val Ser Cys Ala Tyr Gln Val Ala Arg Gly Met Glu 595 600 605	1824
tac ttg gcc tcc cag aag tgc atc cac agg gac ctg gct gcc cgc aat Tyr Leu Ala Ser Gln Lys Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn 610 615 620	1872
gtg ctg gtg acc gag gac aac gtg atg aag atc gca gac ttc ggg ctg Val Leu Val Thr Glu Asp Asn Val Met Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu 625 630 635 640	1920
gcc cgg gac gtg cac aac ctc gac tac tac aag aag aca acc aac gcc Ala Arg Asp Val His Asn Leu Asp Tyr Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly 645 650 655	1968
cgg ctg ccc gtg aag tgg atg gcg cct gag gcc ttg ttt gac cga gtc Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val 660 665 670	2016
tac act cac cag agt gac gtc tgg tcc ttt ggg gtc ctg ctc tgg gag Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu 675 680 685	2064
atc ttc acg ctg ggg gcc tcc ccg tac ccc gcc atc cct gtg gag gag Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu 690 695 700	2112
ctc ttc aag ctg ctg aag gag gcc cac cgc atg gac aag ccc gcc aac Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn 705 710 715 720	2160

ES 2 643 571 T3

tgc aca cac gac ctg tac atg atc atg cgg gag tgc tgg cat gcc gcg	2208
Cys Thr His Asp Leu Tyr Met Ile Met Arg Glu Cys Trp His Ala Ala	
725 730 735	
ccc tcc cag agg ccc acc ttc aag cag ctg gtg gag gac ctg gac cgt	2256
Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg	
740 745 750	
gtc ctt acc gtg acg tcc acc gac gta aag gcg aca cag gag gag aac	2304
Val Leu Thr Val Thr Ser Thr Asp Val Lys Ala Thr Gln Glu Glu Asn	
755 760 765	
cgg gag ctg agg agc agg tgt gag gag ctc cac ggg aag aac ctg gaa	2352
Arg Glu Leu Arg Ser Arg Cys Glu Glu Leu His Gly Lys Asn Leu Glu	
770 775 780	
ctg ggg aag atc atg gac agg ttc gaa gag gtt gtg tac cag gcc atg	2400
Leu Gly Lys Ile Met Asp Arg Phe Glu Glu Val Val Tyr Gln Ala Met	
785 790 795 800	
gag gaa gtt cag aag cag aag gaa ctt tcc aaa gct gaa atc cag aaa	2448
Glu Glu Val Gln Lys Gln Lys Glu Leu Ser Lys Ala Glu Ile Gln Lys	
805 810 815	
gtt cta aaa gaa aaa gac caa ctt acc aca gat ctg aac tcc atg gag	2496
Val Leu Lys Glu Lys Asp Gln Leu Thr Thr Asp Leu Asn Ser Met Glu	
820 825 830	
aag tcc ttc tcc gac ctc ttc aag cgt ttt gag aaa cag aaa gag gtg	2544
Lys Ser Phe Ser Asp Leu Phe Lys Arg Phe Glu Lys Gln Lys Glu Val	
835 840 845	
atc gag ggc tac cgc aag aac gaa gag tca ctg aag aag tgc gtg gag	2592
Ile Glu Gly Tyr Arg Lys Asn Glu Glu Ser Leu Lys Lys Cys Val Glu	
850 855 860	
gat tac ctg gca agg atc acc cag gag ggc cag agg tac caa gcc ctg	2640
Asp Tyr Leu Ala Arg Ile Thr Gln Glu Gly Gln Arg Tyr Gln Ala Leu	
865 870 875 880	
aag gcc cac gcg gag gag aag ctg cag ctg gca aac gag gag atc gcc	2688
Lys Ala His Ala Glu Lys Leu Gln Leu Ala Asn Glu Glu Ile Ala	
885 890 895	
cag gtc cgg agc aag gcc cag gcg gaa gcg ttg gcc ctc cag gcc agc	2736
Gln Val Arg Ser Lys Ala Gln Ala Glu Ala Leu Ala Leu Gln Ala Ser	
900 905 910	
ctg agg aag gag cag atg cgc atc cag tcg ctg gag aag aca gtg gag	2784
Leu Arg Lys Glu Gln Met Arg Ile Gln Ser Leu Glu Lys Thr Val Glu	
915 920 925	
cag aag act aaa gag aac gag gag ctg acc agg atc tgc gac gac ctc	2832
Gln Lys Thr Lys Glu Asn Glu Glu Leu Thr Arg Ile Cys Asp Asp Leu	
930 935 940	
atc tcc aag atg gag aag atc tga	2856
Ile Ser Lys Met Glu Lys Ile	
945 950	

<210> 28
 <211> 951
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 28

ES 2 643 571 T3

Met Gly Ala Pro Ala Cys Ala Leu Ala Leu Cys Val Ala Val Ala Ile
 1 5 10 15

Val Ala Gly Ala Ser Ser Glu Ser Leu Gly Thr Glu Gln Arg Val Val
 20 25 30

Gly Arg Ala Ala Glu Val Pro Gly Pro Glu Pro Gly Gln Gln Glu Gln
 35 40 45

Leu Val Phe Gly Ser Gly Asp Ala Val Glu Leu Ser Cys Pro Pro Pro
 50 55 60

Gly Gly Gly Pro Met Gly Pro Thr Val Trp Val Lys Asp Gly Thr Gly
 65 70 75 80

Leu Val Pro Ser Glu Arg Val Leu Val Gly Pro Gln Arg Leu Gln Val
 85 90 95

Leu Asn Ala Ser His Glu Asp Ser Gly Ala Tyr Ser Cys Arg Gln Arg
 100 105 110

Leu Thr Gln Arg Val Leu Cys His Phe Ser Val Arg Val Thr Asp Ala
 115 120 125

Pro Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Gly Glu Asp Glu Ala Glu Asp Thr
 130 135 140

Gly Val Asp Thr Gly Ala Pro Tyr Trp Thr Arg Pro Glu Arg Met Asp
 145 150 155 160

Lys Lys Leu Leu Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Arg Phe Arg Cys
 165 170 175

Pro Ala Ala Gly Asn Pro Thr Pro Ser Ile Ser Trp Leu Lys Asn Gly
 180 185 190

Arg Glu Phe Arg Gly Glu His Arg Ile Gly Gly Ile Lys Leu Arg His
 195 200 205

Gln Gln Trp Ser Leu Val Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Arg Gly
 210 215 220

Asn Tyr Thr Cys Val Val Glu Asn Lys Phe Gly Ser Ile Arg Gln Thr

ES 2 643 571 T3

225	230	235	240
<p> Tyr Thr Leu Asp Val Leu Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln 245250255 </p>			
<p> Ala Gly Leu Pro Ala Asn Gln Thr Ala Val Leu Gly Ser Asp Val Glu 260265270 </p>			
<p> Phe His Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Leu 275280285 </p>			
<p> Lys His Val Glu Val Asn Gly Ser Lys Val Gly Pro Asp Gly Thr Pro 290295300 </p>			
<p> Tyr Val Thr Val Leu Lys Ser Trp Ile Ser Glu Ser Val Glu Ala Asp 305310315320 </p>			
<p> Val Arg Leu Arg Leu Ala Asn Val Ser Glu Arg Asp Gly Gly Glu Tyr 325330335 </p>			
<p> Leu Cys Arg Ala Thr Asn Phe Ile Gly Val Ala Glu Lys Ala Phe Trp 340345350 </p>			
<p> Leu Ser Val His Gly Pro Arg Ala Ala Glu Glu Glu Leu Val Glu Ala 355360365 </p>			
<p> Asp Glu Ala Gly Ser Val Tyr Ala Gly Ile Leu Ser Tyr Gly Val Gly 370375380 </p>			
<p> Phe Phe Leu Phe Ile Leu Val Val Ala Ala Val Thr Leu Cys Arg Leu 385390395400 </p>			
<p> Arg Ser Pro Pro Lys Lys Gly Leu Gly Ser Pro Thr Val His Lys Ile 405410415 </p>			
<p> Ser Arg Phe Pro Leu Lys Arg Gln Val Ser Leu Glu Ser Asn Ala Ser 420425430 </p>			
<p> Met Ser Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile Ala Arg Leu Ser Ser Gly 435440445 </p>			
<p> Glu Gly Pro Thr Leu Ala Asn Val Ser Glu Leu Glu Leu Pro Ala Asp 450455460 </p>			
<p> Pro Lys Trp Glu Leu Ser Arg Ala Arg Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu 465470475480 </p>			

ES 2 643 571 T3

Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Met Ala Glu Ala Ile Gly Ile
 485 490 495
 Asp Lys Asp Arg Ala Ala Lys Pro Val Thr Val Ala Val Lys Met Leu
 500 505 510
 Lys Asp Asp Ala Thr Asp Lys Asp Leu Ser Asp Leu Val Ser Glu Met
 515 520 525
 Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys His Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu
 530 535 540
 Gly Ala Cys Thr Gln Gly Gly Pro Leu Tyr Val Leu Val Glu Tyr Ala
 545 550 555 560
 Ala Lys Gly Asn Leu Arg Glu Phe Leu Arg Ala Arg Arg Pro Pro Gly
 565 570 575
 Leu Asp Tyr Ser Phe Asp Thr Cys Lys Pro Pro Glu Glu Gln Leu Thr
 580 585 590
 Phe Lys Asp Leu Val Ser Cys Ala Tyr Gln Val Ala Arg Gly Met Glu
 595 600 605
 Tyr Leu Ala Ser Gln Lys Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn
 610 615 620
 Val Leu Val Thr Glu Asp Asn Val Met Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu
 625 630 635 640
 Ala Arg Asp Val His Asn Leu Asp Tyr Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly
 645 650 655
 Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val
 660 665 670
 Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu
 675 680 685
 Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu
 690 695 700
 Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn
 705 710 715 720
 Cys Thr His Asp Leu Tyr Met Ile Met Arg Glu Cys Trp His Ala Ala
 725 730 735

ES 2 643 571 T3

Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg
740 745 750

Val Leu Thr Val Thr Ser Thr Asp Val Lys Ala Thr Gln Glu Glu Asn
755 760 765

Arg Glu Leu Arg Ser Arg Cys Glu Glu Leu His Gly Lys Asn Leu Glu
770 775 780

Leu Gly Lys Ile Met Asp Arg Phe Glu Glu Val Val Tyr Gln Ala Met
785 790 795 800

Glu Glu Val Gln Lys Gln Lys Glu Leu Ser Lys Ala Glu Ile Gln Lys
805 810 815

Val Leu Lys Glu Lys Asp Gln Leu Thr Thr Asp Leu Asn Ser Met Glu
820 825 830

Lys Ser Phe Ser Asp Leu Phe Lys Arg Phe Glu Lys Gln Lys Glu Val
835 840 845

Ile Glu Gly Tyr Arg Lys Asn Glu Glu Ser Leu Lys Lys Cys Val Glu
850 855 860

Asp Tyr Leu Ala Arg Ile Thr Gln Glu Gly Gln Arg Tyr Gln Ala Leu
865 870 875 880

Lys Ala His Ala Glu Glu Lys Leu Gln Leu Ala Asn Glu Glu Ile Ala
885 890 895

Gln Val Arg Ser Lys Ala Gln Ala Glu Ala Leu Ala Leu Gln Ala Ser
900 905 910

Leu Arg Lys Glu Gln Met Arg Ile Gln Ser Leu Glu Lys Thr Val Glu
915 920 925

Gln Lys Thr Lys Glu Asn Glu Glu Leu Thr Arg Ile Cys Asp Asp Leu
930 935 940

Ile Ser Lys Met Glu Lys Ile
945 950

<210> 29
<211> 4467
5 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
10 <221> CDS
<222> (1)..(4467)

<400> 29

ES 2 643 571 T3

atg ggc gcc cct gcc tgc gcc ctc gcg ctc tgc gtg gcc gtg gcc atc	48
Met Gly Ala Pro Ala Cys Ala Leu Ala Leu Cys Val Ala Val Ala Ile	
1 5 10 15	
gtg gcc ggc gcc tcc tcg gag tcc ttg ggg acg gag cag cgc gtc gtg	96
Val Ala Gly Ala Ser Ser Glu Ser Leu Gly Thr Glu Gln Arg Val Val	
20 25 30	
ggg cga gcg gca gaa gtc ccg ggc cca gag ccc ggc cag cag gag cag	144
Gly Arg Ala Ala Glu Val Pro Gly Pro Glu Pro Gly Gln Gln Glu Gln	
35 40 45	
ttg gtc ttc ggc agc ggg gat gct gtg gag ctg agc tgt ccc ccg ccc	192
Leu Val Phe Gly Ser Gly Asp Ala Val Glu Leu Ser Cys Pro Pro Pro	
50 55 60	
ggg ggt ggt ccc atg ggg ccc act gtc tgg gtc aag gat ggc aca ggg	240
Gly Gly Gly Pro Met Gly Pro Thr Val Trp Val Lys Asp Gly Thr Gly	
65 70 75 80	
ctg gtg ccc tcg gag cgt gtc ctg gtg ggg ccc cag cgg ctg cag gtg	288
Leu Val Pro Ser Glu Arg Val Leu Val Gly Pro Gln Arg Leu Gln Val	
85 90 95	
ctg aat gcc tcc cac gag gac tcc ggg gcc tac agc tgc cgg cag cgg	336
Leu Asn Ala Ser His Glu Asp Ser Gly Ala Tyr Ser Cys Arg Gln Arg	
100 105 110	
ctc acg cag cgc gta ctg tgc cac ttc agt gtg cgg gtg aca gac gct	384
Leu Thr Gln Arg Val Leu Cys His Phe Ser Val Arg Val Thr Asp Ala	
115 120 125	
cca tcc tcg gga gat gac gaa gac ggg gag gac gag gct gag gac aca	432
Pro Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Gly Glu Asp Glu Ala Glu Asp Thr	
130 135 140	
ggg ggt gac aca ggg gcc cct tac tgg aca cgg ccc gag cgg atg gac	480
Gly Val Asp Thr Gly Ala Pro Tyr Trp Thr Arg Pro Glu Arg Met Asp	
145 150 155 160	
aag aag ctg ctg gcc gtg ccg gcc gcc aac acc gtc cgc ttc cgc tgc	528
Lys Lys Leu Leu Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Arg Phe Arg Cys	
165 170 175	
cca gcc gct ggc aac ccc act ccc tcc atc tcc tgg ctg aag aac ggc	576
Pro Ala Ala Gly Asn Pro Thr Pro Ser Ile Ser Trp Leu Lys Asn Gly	
180 185 190	
agg gag ttc cgc ggc gag cac cgc att gga ggc atc aag ctg cgg cat	624
Arg Glu Phe Arg Gly Glu His Arg Ile Gly Gly Ile Lys Leu Arg His	
195 200 205	
cag cag tgg agc ctg gtc atg gaa agc gtg gtg ccc tcg gac cgc ggc	672
Gln Gln Trp Ser Leu Val Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Arg Gly	
210 215 220	
aac tac acc tgc gtc gtg gag aac aag ttt ggc agc atc cgg cag acg	720
Asn Tyr Thr Cys Val Val Glu Asn Lys Phe Gly Ser Ile Arg Gln Thr	

ES 2 643 571 T3

225	230	235	240	
tac acg ctg gac gtg ctg gag cgc tcc ccg cac cgg ccc atc ctg cag				768
Tyr Thr Leu Asp Val Leu Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln	245	250	255	
gcg ggg ctg ccg gcc aac cag acg gcg gtg ctg ggc agc gac gtg gag				816
Ala Gly Leu Pro Ala Asn Gln Thr Ala Val Leu Gly Ser Asp Val Glu	260	265	270	
ttc cac tgc aag gtg tac agt gac gca cag ccc cac atc cag tgg ctc				864
Phe His Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Leu	275	280	285	
aag cac gtg gag gtg aat ggc agc aag gtg ggc ccg gac ggc aca ccc				912
Lys His Val Glu Val Asn Ser Lys Val Gly Pro Asp Gly Thr Pro	290	295	300	
tac gtt acc gtg ctc aag tcc tgg atc agt gag agt gtg gag gcc gac				960
Tyr Val Thr Val Leu Lys Ser Trp Ile Ser Glu Ser Val Glu Ala Asp	305	310	315	320
gtg cgc ctc cgc ctg gcc aat gtg tcc gag cgg gac ggg ggc gag tac				1008
Val Arg Leu Arg Leu Ala Asn Val Ser Glu Arg Asp Gly Gly Glu Tyr	325	330	335	
ctc tgt cga gcc acc aat ttc ata ggc gtg gcc gag aag gcc ttt tgg				1056
Leu Cys Arg Ala Thr Asn Phe Ile Val Ala Glu Lys Ala Phe Trp	340	345	350	
ctg agc gtt cac ggg ccc cga gca gcc gag gag gag ctg gtg gag gct				1104
Leu Ser Val His Gly Pro Arg Ala Ala Glu Glu Glu Val Glu Ala	355	360	365	
gac gag gcg ggc agt gtg tat gca ggc atc ctc agc tac ggg gtg ggc				1152
Asp Glu Ala Gly Ser Val Tyr Ala Gly Ile Leu Ser Tyr Gly Val Gly	370	375	380	
ttc ttc ctg ttc atc ctg gtg gtg gcg gct gtg acg ctc tgc cgc ctg				1200
Phe Phe Leu Phe Ile Leu Val Val Ala Ala Val Thr Leu Cys Arg Leu	385	390	395	400
cgc agc ccc ccc aag aaa ggc ctg ggc tcc ccc acc gtg cac aag atc				1248
Arg Ser Pro Pro Lys Lys Gly Leu Gly Ser Pro Thr Val His Lys Ile	405	410	415	
tcc cgc ttc ccg ctc aag cga cag gtg tcc ctg gag tcc aac gcg tcc				1296
Ser Arg Phe Pro Leu Lys Arg Gln Val Ser Leu Glu Ser Asn Ala Ser	420	425	430	
atg agc tcc aac aca cca ctg gtg cgc atc gca agg ctg tcc tca ggg				1344
Met Ser Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile Ala Arg Leu Ser Ser Gly	435	440	445	
gag ggc ccc acg ctg gcc aat gtc tcc gag ctc gag ctg cct gcc gac				1392
Glu Gly Pro Thr Leu Ala Asn Val Ser Glu Leu Glu Leu Pro Ala Asp	450	455	460	
ccc aaa tgg gag ctg tct cgg gcc cgg ctg acc ctg ggc aag ccc ctt				1440
Pro Lys Trp Glu Leu Ser Arg Ala Arg Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu	465	470	475	480
ggg gag ggc tgc ttc ggc cag gtg gtc atg gcg gag gcc atc ggc att				1488

ES 2 643 571 T3

Gly	Glu	Gly	Cys	Phe	Gly	Gln	Val	Val	Met	Ala	Glu	Ala	Ile	Gly	Ile	
				485					490					495		
gac	aag	gac	cgg	gcc	gcc	aag	cct	gtc	acc	gta	gcc	gtg	aag	atg	ctg	1536
Asp	Lys	Asp	Arg	Ala	Ala	Lys	Pro	Val	Thr	Val	Ala	Val	Lys	Met	Leu	
			500					505					510			
aaa	gac	gat	gcc	act	gac	aag	gac	ctg	tcg	gac	ctg	gtg	tct	gag	atg	1584
Lys	Asp	Asp	Ala	Thr	Asp	Lys	Asp	Leu	Ser	Asp	Leu	Val	Ser	Glu	Met	
			515				520					525				
gag	atg	atg	aag	atg	atc	ggg	aaa	cac	aaa	aac	atc	atc	aac	ctg	ctg	1632
Glu	Met	Met	Lys	Met	Ile	Gly	Lys	His	Lys	Asn	Ile	Ile	Asn	Leu	Leu	
	530					535					540					
ggc	gcc	tgc	acg	cag	ggc	ggg	ccc	ctg	tac	gtg	ctg	gtg	gag	tac	gcg	1680
Gly	Ala	Cys	Thr	Gln	Gly	Gly	Pro	Leu	Tyr	Val	Leu	Val	Glu	Tyr	Ala	
	545				550					555					560	
gcc	aag	ggt	aac	ctg	cgg	gag	ttt	ctg	cgg	gcg	cgg	cgg	ccc	ccg	ggc	1728
Ala	Lys	Gly	Asn	Leu	Arg	Glu	Phe	Leu	Arg	Ala	Arg	Arg	Pro	Pro	Gly	
			565					570						575		
ctg	gac	tac	tcc	ttc	gac	acc	tgc	aag	ccg	ccc	gag	gag	cag	ctc	acc	1776
Leu	Asp	Tyr	Ser	Phe	Asp	Thr	Cys	Lys	Pro	Pro	Glu	Glu	Gln	Leu	Thr	
			580					585					590			
ttc	aag	gac	ctg	gtg	tcc	tgt	gcc	tac	cag	gtg	gcc	cgg	ggc	atg	gag	1824
Phe	Lys	Asp	Leu	Val	Ser	Cys	Ala	Tyr	Gln	Val	Ala	Arg	Gly	Met	Glu	
		595					600					605				
tac	ttg	gcc	tcc	cag	aag	tgc	atc	cac	agg	gac	ctg	gct	gcc	cgc	aat	1872
Tyr	Leu	Ala	Ser	Gln	Lys	Cys	Ile	His	Arg	Asp	Leu	Ala	Ala	Arg	Asn	
	610					615					620					
gtg	ctg	gtg	acc	gag	gac	aac	gtg	atg	aag	atc	gca	gac	ttc	ggg	ctg	1920
Val	Leu	Val	Thr	Glu	Asp	Asn	Val	Met	Lys	Ile	Ala	Asp	Phe	Gly	Leu	
	625				630					635					640	
gcc	cgg	gac	gtg	cac	aac	ctc	gac	tac	tac	aag	aag	aca	acc	aac	ggc	1968
Ala	Arg	Asp	Val	His	Asn	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Lys	Lys	Thr	Thr	Asn	Gly	
				645					650					655		
cgg	ctg	ccc	gtg	aag	tgg	atg	gcg	cct	gag	gcc	ttg	ttt	gac	cga	gtc	2016
Arg	Leu	Pro	Val	Lys	Trp	Met	Ala	Pro	Glu	Ala	Leu	Phe	Asp	Arg	Val	
			660					665					670			
tac	act	cac	cag	agt	gac	gtc	tgg	tcc	ttt	ggg	gtc	ctg	ctc	tgg	gag	2064
Tyr	Thr	His	Gln	Ser	Asp	Val	Trp	Ser	Phe	Gly	Val	Leu	Leu	Trp	Glu	
		675					680					685				
atc	ttc	acg	ctg	ggg	ggc	tcc	ccg	tac	ccc	ggc	atc	cct	gtg	gag	gag	2112
Ile	Phe	Thr	Leu	Gly	Gly	Ser	Pro	Tyr	Pro	Gly	Ile	Pro	Val	Glu	Glu	
	690					695					700					
ctc	ttc	aag	ctg	ctg	aag	gag	ggc	cac	cgc	atg	gac	aag	ccc	gcc	aac	2160
Leu	Phe	Lys	Leu	Leu	Lys	Glu	Gly	His	Arg	Met	Asp	Lys	Pro	Ala	Asn	
	705				710					715				720		
tgc	aca	cac	gac	ctg	tac	atg	atc	atg	cgg	gag	tgc	tgg	cat	gcc	gcg	2208
Cys	Thr	His	Asp	Leu	Tyr	Met	Ile	Met	Arg	Glu	Cys	Trp	His	Ala	Ala	
			725						730					735		

ES 2 643 571 T3

ccc tcc cag agg ccc acc ttc aag cag ctg gtg gag gac ctg gac cgt Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg 740 745 750	2256
gtc ctt acc gtg acg tcc acc gac gtg agt gct ggc tct ggc ctg gtg Val Leu Thr Val Thr Ser Thr Asp Val Ser Ala Gly Ser Gly Leu Val 755 760 765	2304
cca ccc gcc tat gcc cct ccc cct gcc gtc ccc ggc cat cct gcc ccc Pro Pro Ala Tyr Ala Pro Pro Pro Ala Val Pro Gly His Pro Ala Pro 770 775 780	2352
cag agt gct gag gtg tgg ggc ggg cct tct ggc cca ggt gcc ctg gct Gln Ser Ala Glu Val Trp Gly Gly Pro Ser Gly Pro Gly Ala Leu Ala 785 790 795 800	2400
gac ctg gac tgc tca agc tct tcc cag agc cca gga agt tct gag aac Asp Leu Asp Cys Ser Ser Ser Ser Gln Ser Pro Gly Ser Ser Glu Asn 805 810 815	2448
caa atg gtg tct cca gga aaa gtg tct ggc agc cct gag caa gcc gtg Gln Met Val Ser Pro Gly Lys Val Ser Gly Ser Pro Glu Gln Ala Val 820 825 830	2496
gag gaa aac ctt agt tcc tat tcc tta gac aga aga gtg aca ccc gcc Glu Glu Asn Leu Ser Ser Tyr Ser Leu Asp Arg Arg Val Thr Pro Ala 835 840 845	2544
tct gag acc cta gaa gac cct tgc agg aca gag tcc cag cac aaa gcg Ser Glu Thr Leu Glu Asp Pro Cys Arg Thr Glu Ser Gln His Lys Ala 850 855 860	2592
gag act ccg cac gga gcc gag gaa gaa tgc aaa gcg gag act ccg cac Glu Thr Pro His Gly Ala Glu Glu Glu Cys Lys Ala Glu Thr Pro His 865 870 875 880	2640
gga gcc gag gag gaa tgc cgg cac ggt ggg gtc tgt gct ccc gca gca Gly Ala Glu Glu Glu Cys Arg His Gly Gly Val Cys Ala Pro Ala Ala 885 890 895	2688
gtg gcc act tcg cct cct ggt gca atc cct aag gaa gcc tgc gga gga Val Ala Thr Ser Pro Pro Gly Ala Ile Pro Lys Glu Ala Cys Gly Gly 900 905 910	2736
gca ccc ctg cag ggt ctg cct ggc gaa gcc ctg ggc tgc cct gcg ggt Ala Pro Leu Gln Gly Leu Pro Gly Glu Ala Leu Gly Cys Pro Ala Gly 915 920 925	2784
gtg ggc acc ccc gtg cca gca gat ggc act cag acc ctt acc tgt gca Val Gly Thr Pro Val Pro Ala Asp Gly Thr Gln Thr Leu Thr Cys Ala 930 935 940	2832
cac acc tct gct cct gag agc aca gcc cca acc aac cac ctg gtg gct His Thr Ser Ala Pro Glu Ser Thr Ala Pro Thr Asn His Leu Val Ala 945 950 955 960	2880
ggc agg gcc atg acc ctg agt cct cag gaa gaa gtg gct gca ggc caa Gly Arg Ala Met Thr Leu Ser Pro Gln Glu Glu Val Ala Ala Gly Gln 965 970 975	2928
atg gcc agc tcc tcg agg agc gga cct gta aaa cta gaa ttt gat gta Met Ala Ser Ser Ser Arg Ser Gly Pro Val Lys Leu Glu Phe Asp Val 980 985 990	2976

ES 2 643 571 T3

tct gat ggc gcc acc agc aaa agg gca ccc cca cca agg aga ctg gga	3024
Ser Asp Gly Ala Thr Ser Lys Arg Ala Pro Pro Pro Arg Arg Leu Gly	
995 1000 1005	
gag agg tcc ggc ctc aag cct ccc ttg agg aaa gca gca gtg agg	3069
Glu Arg Ser Gly Leu Lys Pro Pro Leu Arg Lys Ala Ala Val Arg	
1010 1015 1020	
cag caa aag gcc ccg cag gag gtg gag gag gac gac ggt agg agc	3114
Gln Gln Lys Ala Pro Gln Glu Val Glu Glu Asp Asp Gly Arg Ser	
1025 1030 1035	
gga gca gga gag gac ccc ccc atg cca gct tct cgg ggc tct tac	3159
Gly Ala Gly Glu Asp Pro Pro Met Pro Ala Ser Arg Gly Ser Tyr	
1040 1045 1050	
cac ctc gac tgg gac aaa atg gat gac cca aac ttc atc ccg ttc	3204
His Leu Asp Trp Asp Lys Met Asp Asp Pro Asn Phe Ile Pro Phe	
1055 1060 1065	
gga ggt gac acc aag tct ggt tgc agt gag gcc cag ccc cca gaa	3249
Gly Gly Asp Thr Lys Ser Gly Cys Ser Glu Ala Gln Pro Pro Glu	
1070 1075 1080	
agc cct gag acc agg ctg ggc cag cca gcg gct gaa cag ttg cat	3294
Ser Pro Glu Thr Arg Leu Gly Gln Pro Ala Ala Glu Gln Leu His	
1085 1090 1095	
gct ggg cct gcc acg gag gag cca ggt ccc tgt ctg agc cag cag	3339
Ala Gly Pro Ala Thr Glu Glu Pro Gly Pro Cys Leu Ser Gln Gln	
1100 1105 1110	
ctg cat tca gcc tca gcg gag gac acg cct gtg gtg cag ttg gca	3384
Leu His Ser Ala Ser Ala Glu Asp Thr Pro Val Val Gln Leu Ala	
1115 1120 1125	
gcc gag acc cca aca gca gag agc aag gag aga gcc ttg aac tct	3429
Ala Glu Thr Pro Thr Ala Glu Ser Lys Glu Arg Ala Leu Asn Ser	
1130 1135 1140	
gcc agc acc tcg ctt ccc aca agc tgt cca gcc agt gag cca gtg	3474
Ala Ser Thr Ser Leu Pro Thr Ser Cys Pro Gly Ser Glu Pro Val	
1145 1150 1155	
ccc acc cat cag cag ggg cag cct gcc ttg gag ctg aaa gag gag	3519
Pro Thr His Gln Gln Gly Gln Pro Ala Leu Leu Lys Glu Glu	
1160 1165 1170	
agc ttc aga gac ccc gct gag gtt cta gcc acg gcc gcg gag gtg	3564
Ser Phe Arg Asp Pro Ala Glu Val Leu Gly Thr Gly Ala Glu Val	
1175 1180 1185	
gat tac ctg gag cag ttt gga act tcc tcg ttt aag gag tcg gcc	3609
Asp Tyr Leu Glu Gln Phe Gly Thr Ser Ser Phe Lys Glu Ser Ala	
1190 1195 1200	
ttg agg aag cag tcc tta tac ctc aag ttc gac ccc ctc ctg agg	3654
Leu Arg Lys Gln Ser Leu Tyr Leu Lys Phe Asp Pro Leu Leu Arg	
1205 1210 1215	
gac agt cct ggt aga cca gtg ccc gtg gcc acc gag acc agc agc	3699
Asp Ser Pro Gly Arg Pro Val Pro Val Ala Thr Glu Thr Ser Ser	

ES 2 643 571 T3

1220	1225	1230	
atg cac ggt gca aat gag act ccc tca gga cgt ccg cgg gaa gcc			3744
Met His Gly Ala Asn Glu Thr Pro Ser Gly Arg Pro Arg Glu Ala			
1235	1240	1245	
aag ctt gtg gag ttc gat ttc ttg gga gca ctg gac att cct gtg			3789
Lys Leu Val Glu Phe Asp Phe Leu Gly Ala Leu Asp Ile Pro Val			
1250	1255	1260	
cca ggc cca ccc cca ggt gtt ccc gcg cct ggg ggc cca ccc ctg			3834
Pro Gly Pro Pro Pro Gly Val Pro Ala Pro Gly Gly Pro Pro Leu			
1265	1270	1275	
tcc acc gga cct ata gtg gac ctg ctc cag tac agc cag aag gac			3879
Ser Thr Gly Pro Ile Val Asp Phe Leu Leu Gln Tyr Ser Gln Lys Asp			
1280	1285	1290	
ctg gat gca gtg gta aag gcg aca cag gag gag aac cgg gag ctg			3924
Leu Asp Ala Val Val Lys Ala Thr Gln Glu Glu Asn Arg Glu Leu			
1295	1300	1305	
agg agc agg tgt gag gag ctc cac ggg aag aac ctg gaa ctg ggg			3969
Arg Ser Arg Cys Glu Glu Leu His Gly Lys Asn Leu Glu Leu Gly			
1310	1315	1320	
aag atc atg gac agg ttc gaa gag gtt gtg tac cag gcc atg gag			4014
Lys Ile Met Asp Arg Phe Glu Glu Val Val Tyr Gln Ala Met Glu			
1325	1330	1335	
gaa gtt cag aag cag aag gaa ctt tcc aaa gct gaa atc cag aaa			4059
Glu Val Gln Lys Gln Lys Glu Leu Ser Lys Ala Glu Ile Gln Lys			
1340	1345	1350	
gtt cta aaa gaa aaa gac caa ctt acc aca gat ctg aac tcc atg			4104
Val Leu Lys Glu Lys Asp Gln Leu Thr Thr Asp Leu Asn Ser Met			
1355	1360	1365	
gag aag tcc ttc tcc gac ctc ttc aag cgt ttt gag aaa cag aaa			4149
Glu Lys Ser Phe Ser Asp Leu Phe Lys Arg Phe Glu Lys Gln Lys			
1370	1375	1380	
gag gtg atc gag ggc tac cgc aag aac gaa gag tca ctg aag aag			4194
Glu Val Ile Glu Gly Tyr Arg Lys Asn Glu Glu Ser Leu Lys Lys			
1385	1390	1395	
tgc gtg gag gat tac ctg gca agg atc acc cag gag ggc cag agg			4239
Cys Val Glu Asp Tyr Leu Ala Arg Ile Thr Gln Glu Gly Gln Arg			
1400	1405	1410	
tac caa gcc ctg aag gcc cac gcg gag gag aag ctg cag ctg gca			4284
Tyr Gln Ala Leu Lys Ala His Ala Glu Glu Lys Leu Gln Leu Ala			
1415	1420	1425	
aac gag gag atc gcc cag gtc cgg agc aag gcc cag gcg gaa gcg			4329
Asn Glu Glu Ile Ala Gln Val Arg Ser Lys Ala Gln Ala Glu Ala			
1430	1435	1440	
ttg gcc ctc cag gcc agc ctg agg aag gag cag atg cgc atc cag			4374
Leu Ala Leu Gln Ala Ser Leu Arg Lys Glu Gln Met Arg Ile Gln			
1445	1450	1455	
tcg ctg gag aag aca gtg gag cag aag act aaa gag aac gag gag			4419
Ser Leu Glu Lys Thr Val Glu Gln Lys Thr Lys Glu Asn Glu Glu			
1460	1465	1470	
ctg acc agg atc tgc gac gac ctc atc tcc aag atg gag aag atc			4464
Leu Thr Arg Ile Cys Asp Asp Leu Ile Ser Lys Met Glu Lys Ile			
1475	1480	1485	
tga			4467

ES 2 643 571 T3

<211> 1488
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5 <400> 30
 Met Gly Ala Pro Ala Cys Ala Leu Ala Leu Cys Val Ala Val Ala Ile
 1 5 10 15
 Val Ala Gly Ala Ser Ser Glu Ser Leu Gly Thr Glu Gln Arg Val Val
 20 25 30
 Gly Arg Ala Ala Glu Val Pro Gly Pro Glu Pro Gly Gln Gln Glu Gln
 35 40 45
 Leu Val Phe Gly Ser Gly Asp Ala Val Glu Leu Ser Cys Pro Pro Pro
 50 55 60
 Gly Gly Gly Pro Met Gly Pro Thr Val Trp Val Lys Asp Gly Thr Gly
 65 70 75 80
 Leu Val Pro Ser Glu Arg Val Leu Val Gly Pro Gln Arg Leu Gln Val
 85 90 95
 Leu Asn Ala Ser His Glu Asp Ser Gly Ala Tyr Ser Cys Arg Gln Arg
 100 105 110
 Leu Thr Gln Arg Val Leu Cys His Phe Ser Val Arg Val Thr Asp Ala
 115 120 125
 Pro Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Gly Glu Asp Glu Ala Glu Asp Thr
 130 135 140
 Gly Val Asp Thr Gly Ala Pro Tyr Trp Thr Arg Pro Glu Arg Met Asp
 145 150 155 160
 Lys Lys Leu Leu Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Arg Phe Arg Cys
 165 170 175
 Pro Ala Ala Gly Asn Pro Thr Pro Ser Ile Ser Trp Leu Lys Asn Gly
 180 185 190

ES 2 643 571 T3

Arg Glu Phe Arg Gly Glu His Arg Ile Gly Gly Ile Lys Leu Arg His
 195 200 205

Gln Gln Trp Ser Leu Val Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Arg Gly
 210 215 220

Asn Tyr Thr Cys Val Val Glu Asn Lys Phe Gly Ser Ile Arg Gln Thr
 225 230 235 240

Tyr Thr Leu Asp Val Leu Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln
 245 250 255

Ala Gly Leu Pro Ala Asn Gln Thr Ala Val Leu Gly Ser Asp Val Glu
 260 265 270

Phe His Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Leu
 275 280 285

Lys His Val Glu Val Asn Gly Ser Lys Val Gly Pro Asp Gly Thr Pro
 290 295 300

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

Val Arg Leu Arg Leu Ala Asn Val Ser Glu Arg Asp Gly Gly Glu Tyr
 325 330 335

Leu Cys Arg Ala Thr Asn Phe Ile Gly Val Ala Glu Lys Ala Phe Trp
 340 345 350

Leu Ser Val His Gly Pro Arg Ala Ala Glu Glu Glu Leu Val Glu Ala
 355 360 365

Asp Glu Ala Gly Ser Val Tyr Ala Gly Ile Leu Ser Tyr Gly Val Gly
 370 375 380

Phe Phe Leu Phe Ile Leu Val Val Ala Ala Val Thr Leu Cys Arg Leu
 385 390 395 400

Arg Ser Pro Pro Lys Lys Gly Leu Gly Ser Pro Thr Val His Lys Ile
 405 410 415

Ser Arg Phe Pro Leu Lys Arg Gln Val Ser Leu Glu Ser Asn Ala Ser
 420 425 430

Met Ser Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile Ala Arg Leu Ser Ser Gly

ES 2 643 571 T3

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

ES 2 643 571 T3

Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu
690 695 700

Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn
705 710 715 720

Cys Thr His Asp Leu Tyr Met Ile Met Arg Glu Cys Trp His Ala Ala
725 730 735

Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg
740 745 750

Val Leu Thr Val Thr Ser Thr Asp Val Ser Ala Gly Ser Gly Leu Val
755 760 765

Pro Pro Ala Tyr Ala Pro Pro Pro Ala Val Pro Gly His Pro Ala Pro
770 775 780

Gln Ser Ala Glu Val Trp Gly Gly Pro Ser Gly Pro Gly Ala Leu Ala
785 790 795 800

Asp Leu Asp Cys Ser Ser Ser Ser Gln Ser Pro Gly Ser Ser Glu Asn
805 810 815

Gln Met Val Ser Pro Gly Lys Val Ser Gly Ser Pro Glu Gln Ala Val
820 825 830

Glu Glu Asn Leu Ser Ser Tyr Ser Leu Asp Arg Arg Val Thr Pro Ala
835 840 845

Ser Glu Thr Leu Glu Asp Pro Cys Arg Thr Glu Ser Gln His Lys Ala
850 855 860

Glu Thr Pro His Gly Ala Glu Glu Glu Cys Lys Ala Glu Thr Pro His
865 870 875 880

Gly Ala Glu Glu Glu Cys Arg His Gly Gly Val Cys Ala Pro Ala Ala
885 890 895

Val Ala Thr Ser Pro Pro Gly Ala Ile Pro Lys Glu Ala Cys Gly Gly
900 905 910

Ala Pro Leu Gln Gly Leu Pro Gly Glu Ala Leu Gly Cys Pro Ala Gly
915 920 925

Val Gly Thr Pro Val Pro Ala Asp Gly Thr Gln Thr Leu Thr Cys Ala
930 935 940

ES 2 643 571 T3

His Thr Ser Ala Pro Glu Ser Thr Ala Pro Thr Asn His Leu Val Ala
945 950 955 960

Gly Arg Ala Met Thr Leu Ser Pro Gln Glu Glu Val Ala Ala Gly Gln
965 970 975

Met Ala Ser Ser Ser Arg Ser Gly Pro Val Lys Leu Glu Phe Asp Val
980 985 990

Ser Asp Gly Ala Thr Ser Lys Arg Ala Pro Pro Pro Arg Arg Leu Gly
995 1000 1005

Glu Arg Ser Gly Leu Lys Pro Pro Leu Arg Lys Ala Ala Val Arg
1010 1015 1020

Gln Gln Lys Ala Pro Gln Glu Val Glu Glu Asp Asp Gly Arg Ser
1025 1030 1035

Gly Ala Gly Glu Asp Pro Pro Met Pro Ala Ser Arg Gly Ser Tyr
1040 1045 1050

His Leu Asp Trp Asp Lys Met Asp Asp Pro Asn Phe Ile Pro Phe
1055 1060 1065

Gly Gly Asp Thr Lys Ser Gly Cys Ser Glu Ala Gln Pro Pro Glu
1070 1075 1080

Ser Pro Glu Thr Arg Leu Gly Gln Pro Ala Ala Glu Gln Leu His
1085 1090 1095

Ala Gly Pro Ala Thr Glu Glu Pro Gly Pro Cys Leu Ser Gln Gln
1100 1105 1110

Leu His Ser Ala Ser Ala Glu Asp Thr Pro Val Val Gln Leu Ala
1115 1120 1125

Ala Glu Thr Pro Thr Ala Glu Ser Lys Glu Arg Ala Leu Asn Ser
1130 1135 1140

Ala Ser Thr Ser Leu Pro Thr Ser Cys Pro Gly Ser Glu Pro Val
1145 1150 1155

Pro Thr His Gln Gln Gly Gln Pro Ala Leu Glu Leu Lys Glu Glu
1160 1165 1170

Ser Phe Arg Asp Pro Ala Glu Val Leu Gly Thr Gly Ala Glu Val
1175 1180 1185

ES 2 643 571 T3

Asp Tyr Leu Glu Gln Phe Gly Thr Ser Ser Phe Lys Glu Ser Ala
 1190 1195 1200

 Leu Arg Lys Gln Ser Leu Tyr Leu Lys Phe Asp Pro Leu Leu Arg
 1205 1210 1215

 Asp Ser Pro Gly Arg Pro Val Pro Val Ala Thr Glu Thr Ser Ser
 1220 1225 1230

 Met His Gly Ala Asn Glu Thr Pro Ser Gly Arg Pro Arg Glu Ala
 1235 1240 1245

 Lys Leu Val Glu Phe Asp Phe Leu Gly Ala Leu Asp Ile Pro Val
 1250 1255 1260

 Pro Gly Pro Pro Pro Gly Val Pro Ala Pro Gly Gly Pro Pro Leu
 1265 1270 1275

 Ser Thr Gly Pro Ile Val Asp Leu Leu Gln Tyr Ser Gln Lys Asp
 1280 1285 1290

 Leu Asp Ala Val Val Lys Ala Thr Gln Glu Glu Asn Arg Glu Leu
 1295 1300 1305

 Arg Ser Arg Cys Glu Glu Leu His Gly Lys Asn Leu Glu Leu Gly
 1310 1315 1320

 Lys Ile Met Asp Arg Phe Glu Glu Val Val Tyr Gln Ala Met Glu
 1325 1330 1335

 Glu Val Gln Lys Gln Lys Glu Leu Ser Lys Ala Glu Ile Gln Lys
 1340 1345 1350

 Val Leu Lys Glu Lys Asp Gln Leu Thr Thr Asp Leu Asn Ser Met
 1355 1360 1365

 Glu Lys Ser Phe Ser Asp Leu Phe Lys Arg Phe Glu Lys Gln Lys
 1370 1375 1380

 Glu Val Ile Glu Gly Tyr Arg Lys Asn Glu Glu Ser Leu Lys Lys
 1385 1390 1395

 Cys Val Glu Asp Tyr Leu Ala Arg Ile Thr Gln Glu Gly Gln Arg
 1400 1405 1410

 Tyr Gln Ala Leu Lys Ala His Ala Glu Glu Lys Leu Gln Leu Ala

ES 2 643 571 T3

1415 1420 1425

Asn Glu Glu Ile Ala Gln Val Arg Ser Lys Ala Gln Ala Glu Ala
1430 1435 1440

Leu Ala Leu Gln Ala Ser Leu Arg Lys Glu Gln Met Arg Ile Gln
1445 1450 1455

Ser Leu Glu Lys Thr Val Glu Gln Lys Thr Lys Glu Asn Glu Glu
1460 1465 1470

Leu Thr Arg Ile Cys Asp Asp Leu Ile Ser Lys Met Glu Lys Ile
1475 1480 1485

<210> 31
<211> 3765
5 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
10 <221> CDS
<222> (1)..(3765)

<400> 31
atg ggc gcc cct gcc tgc gcc ctc gcg ctc tgc gtg gcc gtg gcc atc 48
Met Gly Ala Pro Ala Cys Ala Leu Ala Leu Cys Val Ala Val Ala Ile
1 5 10 15
gtg gcc ggc gcc tcc tcg gag tcc ttg ggg acg gag cag cgc gtc gtg 96
Val Ala Gly Ala Ser Ser Glu Ser Leu Gly Thr Glu Gln Arg Val Val
20 25 30
ggg cga gcg gca gaa gtc ccg ggc cca gag ccc ggc cag cag gag cag 144
Gly Arg Ala Ala Glu Val Pro Gly Pro Glu Pro Gly Gln Gln Glu Gln
35 40 45
ttg gtc ttc ggc agc ggg gat gct gtg gag ctg agc tgt ccc ccg ccc 192
Leu Val Phe Gly Ser Gly Asp Ala Val Glu Leu Ser Cys Pro Pro Pro
50 55 60
ggg ggt ggt ccc atg ggg ccc act gtc tgg gtc aag gat ggc aca ggg 240
Gly Gly Gly Pro Met Gly Pro Thr Val Trp Val Lys Asp Gly Thr Gly
65 70 75 80
ctg gtg ccc tcg gag cgt gtc ctg gtg ggg ccc cag cgg ctg cag gtg 288
Leu Val Pro Ser Glu Arg Val Leu Val Gly Pro Gln Arg Leu Gln Val
85 90 95
ctg aat gcc tcc cac gag gac tcc ggg gcc tac agc tgc cgg cag cgg 336
Leu Asn Ala Ser His Glu Asp Ser Gly Ala Tyr Ser Cys Arg Gln Arg
100 105 110
ctc acg cag cgc gta ctg tgc cac ttc agt gtg cgg gtg aca gac gct 384
Leu Thr Gln Arg Val Leu Cys His Phe Ser Val Arg Val Thr Asp Ala
115 120 125
cca tcc tcg gga gat gac gaa gac ggg gag gac gag gct gag gac aca 432

ES 2 643 571 T3

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

ES 2 643 571 T3

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

ES 2 643 571 T3

gcc cgg gac gtg cac aac ctc gac tac tac aag aag aca acc aac ggc 1968
Ala Arg Asp Val His Asn Leu Asp Tyr Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly
645 650 655

cgg ctg ccc gtg aag tgg atg gcg cct gag gcc ttg ttt gac cga gtc 2016
Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val
660 665 670

tac act cac cag agt gac gtc tgg tcc ttt ggg gtc ctg ctc tgg gag 2064
Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu
675 680 685

atc ttc acg ctg ggg ggc tcc ccg tac ccc gcc atc cct gtg gag gag 2112
Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu
690 695 700

ctc ttc aag ctg ctg aag gag gcg cac cgc atg gac aag ccc gcc aac 2160
Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn
705 710 715 720

tgc aca cac gac ctg tac atg atc atg cgg gag tgc tgg cat gcc gcg 2208
Cys Thr His Asp Leu Tyr Met Ile Met Arg Glu Cys Trp His Ala Ala
725 730 735

ccc tcc cag agg ccc acc ttc aag cag ctg gtg gag gac ctg gac cgt 2256
Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg
740 745 750

gtc ctt acc gtg acg tcc acc gac aat gtt atg gaa cag ttc aat cct 2304
Val Leu Thr Val Thr Ser Thr Asp Asn Val Met Glu Gln Phe Asn Pro
755 760 765

ggg ctg cga aat tta ata aac ctg ggg aaa aat tat gag aaa gct gta 2352
Gly Leu Arg Asn Leu Ile Asn Leu Gly Lys Asn Tyr Glu Lys Ala Val
770 775 780

aac gct atg atc ctg gca gga aaa gcc tac tac gat gga gtg gcc aag 2400
Asn Ala Met Ile Leu Ala Gly Lys Ala Tyr Tyr Asp Gly Val Ala Lys
785 790 795 800

atc ggt gag att gcc act ggg tcc ccc gtg tca act gaa ctg gga cat 2448
Ile Gly Glu Ile Ala Thr Gly Ser Pro Val Ser Thr Glu Leu Gly His
805 810 815

gtc ctc ata gag att tca agt acc cac aag aaa ctc aac gag agt ctt 2496
Val Leu Ile Glu Ile Ser Ser Thr His Lys Lys Leu Asn Glu Ser Leu
820 825 830

gat gaa aat ttt aaa aaa ttc cac aaa gag att atc cat gag ctg gag 2544
Asp Glu Asn Phe Lys Lys Phe His Lys Glu Ile Ile His Glu Leu Glu
835 840 845

aag aag ata gaa ctt gac gtg aaa tat atg aac gca act cta aaa aga 2592
Lys Lys Ile Glu Leu Asp Val Lys Tyr Met Asn Ala Thr Leu Lys Arg
850 855 860

tac caa aca gaa cac aag aat aaa tta gag tct ttg gag aaa tcc caa 2640
Tyr Gln Thr Glu His Lys Asn Lys Leu Glu Ser Leu Glu Lys Ser Gln
865 870 875 880

gct gag ttg aag aag atc aga agg aaa agc caa gga agc cga aac gca 2688
Ala Glu Leu Lys Lys Ile Arg Arg Lys Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ala

ES 2 643 571 T3

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

ES 2 643 571 T3

Ser Lys Ala Arg Gly Trp Phe Pro Ser Ser Tyr Thr Lys Leu Leu
 1130 1135 1140

gaa gaa aat gag aca gaa gca gtg acc gtg ccc acg cca agc ccc 3474
 Glu Glu Asn Glu Thr Glu Ala Val Thr Val Pro Thr Pro Ser Pro
 1145 1150 1155

aca cca gtg aga agc atc agc acc gtg aac ttg tct gag aat agc 3519
 Thr Pro Val Arg Ser Ile Ser Thr Val Asn Leu Ser Glu Asn Ser
 1160 1165 1170

agt gtt gtc atc ccc cca ccc gac tac ttg gaa tgc ttg tcc atg 3564
 Ser Val Val Ile Pro Pro Pro Asp Tyr Leu Glu Cys Leu Ser Met
 1175 1180 1185

ggg gca gct gcc gac agg aga gca gat tcg gcc agg acg aca tcc 3609
 Gly Ala Ala Ala Asp Arg Arg Ala Asp Ser Ala Arg Thr Thr Ser
 1190 1195 1200

acc ttt aag gcc cca gcg tcc aag ccc gag acc gcg gct cct aac 3654
 Thr Phe Lys Ala Pro Ala Ser Lys Pro Glu Thr Ala Ala Pro Asn
 1205 1210 1215

gat gcc aac ggg act gca aag ccg cct ttt ctc agc gga gaa aac 3699
 Asp Ala Asn Gly Thr Ala Lys Pro Pro Phe Leu Ser Gly Glu Asn
 1220 1225 1230

ccc ttt gcc act gtg aaa ctc cgc ccg act gtg acg aat gat cgc 3744
 Pro Phe Ala Thr Val Lys Leu Arg Pro Thr Val Thr Asn Asp Arg
 1235 1240 1245

tcg gca ccc atc att cga tga 3765
 Ser Ala Pro Ile Ile Arg
 1250

<210> 32
 <211> 1254
 5 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 32
 Met Gly Ala Pro Ala Cys Ala Leu Ala Leu Cys Val Ala Val Ala Ile
 1 5 10 15

Val Ala Gly Ala Ser Ser Glu Ser Leu Gly Thr Glu Gln Arg Val Val
 20 25 30

Gly Arg Ala Ala Glu Val Pro Gly Pro Glu Pro Gly Gln Gln Glu Gln
 35 40 45

Leu Val Phe Gly Ser Gly Asp Ala Val Glu Leu Ser Cys Pro Pro Pro
 50 55 60

Gly Gly Gly Pro Met Gly Pro Thr Val Trp Val Lys Asp Gly Thr Gly
 65 70 75 80

10

ES 2 643 571 T3

Leu Val Pro Ser Glu Arg Val Leu Val Gly Pro Gln Arg Leu Gln Val
 85 90 95
 Leu Asn Ala Ser His Glu Asp Ser Gly Ala Tyr Ser Cys Arg Gln Arg
 100 105 110
 Leu Thr Gln Arg Val Leu Cys His Phe Ser Val Arg Val Thr Asp Ala
 115 120 125
 Pro Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Gly Glu Asp Glu Ala Glu Asp Thr
 130 135 140
 Gly Val Asp Thr Gly Ala Pro Tyr Trp Thr Arg Pro Glu Arg Met Asp
 145 150 155 160
 Lys Lys Leu Leu Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Arg Phe Arg Cys
 165 170 175
 Pro Ala Ala Gly Asn Pro Thr Pro Ser Ile Ser Trp Leu Lys Asn Gly
 180 185 190
 Arg Glu Phe Arg Gly Glu His Arg Ile Gly Gly Ile Lys Leu Arg His
 195 200 205
 Gln Gln Trp Ser Leu Val Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Arg Gly
 210 215 220
 Asn Tyr Thr Cys Val Val Glu Asn Lys Phe Gly Ser Ile Arg Gln Thr
 225 230 235 240
 Tyr Thr Leu Asp Val Leu Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln
 245 250 255
 Ala Gly Leu Pro Ala Asn Gln Thr Ala Val Leu Gly Ser Asp Val Glu
 260 265 270
 Phe His Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Leu
 275 280 285
 Lys His Val Glu Val Asn Gly Ser Lys Val Gly Pro Asp Gly Thr Pro
 290 295 300
 Tyr Val Thr Val Leu Lys Ser Trp Ile Ser Glu Ser Val Glu Ala Asp
 305 310 315 320
 Val Arg Leu Arg Leu Ala Asn Val Ser Glu Arg Asp Gly Gly Glu Tyr
 325 330 335

ES 2 643 571 T3

Leu Cys Arg Ala Thr Asn Phe Ile Gly Val Ala Glu Lys Ala Phe Trp
 340 345 350
 Leu Ser Val His Gly Pro Arg Ala Ala Glu Glu Glu Leu Val Glu Ala
 355 360 365
 Asp Glu Ala Gly Ser Val Tyr Ala Gly Ile Leu Ser Tyr Gly Val Gly
 370 375 380
 Phe Phe Leu Phe Ile Leu Val Val Ala Ala Val Thr Leu Cys Arg Leu
 385 390 395 400
 Arg Ser Pro Pro Lys Lys Gly Leu Gly Ser Pro Thr Val His Lys Ile
 405 410 415
 Ser Arg Phe Pro Leu Lys Arg Gln Val Ser Leu Glu Ser Asn Ala Ser
 420 425 430
 Met Ser Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile Ala Arg Leu Ser Ser Gly
 435 440 445
 Glu Gly Pro Thr Leu Ala Asn Val Ser Glu Leu Glu Leu Pro Ala Asp
 450 455 460
 Pro Lys Trp Glu Leu Ser Arg Ala Arg Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu
 465 470 475 480
 Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Met Ala Glu Ala Ile Gly Ile
 485 490 495
 Asp Lys Asp Arg Ala Ala Lys Pro Val Thr Val Ala Val Lys Met Leu
 500 505 510
 Lys Asp Asp Ala Thr Asp Lys Asp Leu Ser Asp Leu Val Ser Glu Met
 515 520 525
 Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys His Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu
 530 535 540
 Gly Ala Cys Thr Gln Gly Gly Pro Leu Tyr Val Leu Val Glu Tyr Ala
 545 550 555 560
 Ala Lys Gly Asn Leu Arg Glu Phe Leu Arg Ala Arg Arg Pro Pro Gly
 565 570 575
 Leu Asp Tyr Ser Phe Asp Thr Cys Lys Pro Pro Glu Glu Gln Leu Thr
 580 585 590

ES 2 643 571 T3

Phe Lys Asp Leu Val Ser Cys Ala Tyr Gln Val Ala Arg Gly Met Glu
 595 600 605
 Tyr Leu Ala Ser Gln Lys Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn
 610 615 620
 Val Leu Val Thr Glu Asp Asn Val Met Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu
 625 630 635 640
 Ala Arg Asp Val His Asn Leu Asp Tyr Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly
 645 650 655
 Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val
 660 665 670
 Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu
 675 680 685
 Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu
 690 695 700
 Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn
 705 710 715 720
 Cys Thr His Asp Leu Tyr Met Ile Met Arg Glu Cys Trp His Ala Ala
 725 730 735
 Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg
 740 745 750
 Val Leu Thr Val Thr Ser Thr Asp Asn Val Met Glu Gln Phe Asn Pro
 755 760 765
 Gly Leu Arg Asn Leu Ile Asn Leu Gly Lys Asn Tyr Glu Lys Ala Val
 770 775 780
 Asn Ala Met Ile Leu Ala Gly Lys Ala Tyr Tyr Asp Gly Val Ala Lys
 785 790 795 800
 Ile Gly Glu Ile Ala Thr Gly Ser Pro Val Ser Thr Glu Leu Gly His
 805 810 815
 Val Leu Ile Glu Ile Ser Ser Thr His Lys Lys Leu Asn Glu Ser Leu
 820 825 830
 Asp Glu Asn Phe Lys Lys Phe His Lys Glu Ile Ile His Glu Leu Glu

ES 2 643 571 T3

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

ES 2 643 571 T3

Lys Gln Lys Val Lys Thr Ile Phe Pro His Thr Ala Gly Ser Asn
 1085 1090 1095

Lys Thr Leu Leu Ser Phe Ala Gln Gly Asp Val Ile Thr Leu Leu
 1100 1105 1110

Ile Pro Glu Glu Lys Asp Gly Trp Leu Tyr Gly Glu His Asp Val
 1115 1120 1125

Ser Lys Ala Arg Gly Trp Phe Pro Ser Ser Tyr Thr Lys Leu Leu
 1130 1135 1140

Glu Glu Asn Glu Thr Glu Ala Val Thr Val Pro Thr Pro Ser Pro
 1145 1150 1155

Thr Pro Val Arg Ser Ile Ser Thr Val Asn Leu Ser Glu Asn Ser
 1160 1165 1170

Ser Val Val Ile Pro Pro Pro Asp Tyr Leu Glu Cys Leu Ser Met
 1175 1180 1185

Gly Ala Ala Ala Asp Arg Arg Ala Asp Ser Ala Arg Thr Thr Ser
 1190 1195 1200

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

Asp Ala Asn Gly Thr Ala Lys Pro Pro Phe Leu Ser Gly Glu Asn
 1220 1225 1230

Pro Phe Ala Thr Val Lys Leu Arg Pro Thr Val Thr Asn Asp Arg
 1235 1240 1245

Ser Ala Pro Ile Ile Arg
 1250

<210> 33
 <211> 2850
 5 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 10 <222> (1)..(2850)

<400> 33
 atg ggc gcc cct gcc tgc gcc ctc gcg ctc tgc gtg gcc gtg gcc atc
 Met Gly Ala Pro Ala Cys Ala Leu Ala Leu Cys Val Ala Val Ala Ile
 1 5 10 15

48

ES 2 643 571 T3

gtg gcc ggc gcc tcc tcg gag tcc ttg ggg acg gag cag cgc gtc gtg Val Ala Gly Ala Ser Ser Glu Ser Leu Gly Thr Glu Gln Arg Val Val	96
20 25 30	
ggg cga gcg gca gaa gtc ccg ggc cca gag ccc ggc cag cag gag cag Gly Arg Ala Ala Glu Val Pro Gly Pro Glu Pro Gly Gln Gln Glu Gln	144
35 40 45	
ttg gtc ttc ggc agc ggg gat gct gtg gag ctg agc tgt ccc ccg ccc Leu Val Phe Gly Ser Gly Asp Ala Val Glu Leu Ser Cys Pro Pro Pro	192
50 55 60	
ggg ggt ggt ccc atg ggg ccc act gtc tgg gtc aag gat ggc aca ggg Gly Gly Gly Pro Met Gly Pro Thr Val Trp Val Lys Asp Gly Thr Gly	240
65 70 75 80	
ctg gtg ccc tcg gag cgt gtc ctg gtg ggg ccc cag cgg ctg cag gtg Leu Val Pro Ser Glu Arg Val Leu Val Gly Pro Gln Arg Leu Gln Val	288
85 90 95	
ctg aat gcc tcc cac gag gac tcc ggg gcc tac agc tgc cgg cag cgg Leu Asn Ala Ser His Glu Asp Ser Gly Ala Tyr Ser Cys Arg Gln Arg	336
100 105 110	
ctc acg cag cgc gta ctg tgc cac ttc agt gtg cgg gtg aca gac gct Leu Thr Gln Arg Val Leu Cys His Phe Ser Val Arg Val Thr Asp Ala	384
115 120 125	
cca tcc tcg gga gat gac gaa gac ggg gag gac gag gct gag gac aca Pro Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Gly Glu Asp Glu Ala Glu Asp Thr	432
130 135 140	
ggt gtg gac aca ggg gcc cct tac tgg aca cgg ccc gag cgg atg gac Gly Val Asp Thr Gly Ala Pro Tyr Trp Thr Arg Pro Glu Arg Met Asp	480
145 150 155 160	
aag aag ctg ctg gcc gtg ccg gcc gcc aac acc gtc cgc ttc cgc tgc Lys Lys Leu Leu Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Arg Phe Arg Cys	528
165 170 175	
cca gcc gct ggc aac ccc act ccc tcc atc tcc tgg ctg aag aac ggc Pro Ala Ala Gly Asn Pro Thr Pro Ser Ile Ser Trp Leu Lys Asn Gly	576
180 185 190	
agg gag ttc cgc ggc gag cac cgc att gga ggc atc aag ctg cgg cat Arg Glu Phe Arg Gly Glu His Arg Ile Gly Gly Ile Lys Leu Arg His	624
195 200 205	
cag cag tgg agc ctg gtc atg gaa agc gtg gtg ccc tcg gac cgc ggc Gln Gln Trp Ser Leu Val Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Arg Gly	672
210 215 220	
aac tac acc tgc gtc gtg gag aac aag ttt ggc agc atc cgg cag acg Asn Tyr Thr Cys Val Val Glu Asn Lys Phe Gly Ser Ile Arg Gln Thr	720
225 230 235 240	
tac acg ctg gac gtg ctg gag cgc tcc ccg cac cgg ccc atc ctg cag Tyr Thr Leu Asp Val Leu Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln	768
245 250 255	
gcg ggg ctg ccg gcc aac cag acg gcg gtg ctg ggc agc gac gtg gag Ala Gly Leu Pro Ala Asn Gln Thr Ala Val Leu Gly Ser Asp Val Glu	816
260 265 270	

ES 2 643 571 T3

ttc cac tgc aag gtg tac agt gac gca cag ccc cac atc cag tgg ctc	864
Phe His Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Leu	
275 280 285	
aag cac gtg gag gtg aat ggc agc aag gtg ggc ccg gac ggc aca ccc	912
Lys His Val Glu Val Asn Gly Ser Lys Val Gly Pro Asp Gly Thr Pro	
290 295 300	
tac gtt acc gtg ctc aag acg gcg ggc gct aac acc acc gac aag gag	960
Tyr Val Thr Val Leu Lys Thr Ala Gly Ala Asn Thr Thr Asp Lys Glu	
305 310 315 320	
cta gag gtt ctc tcc ttg cac aac gtc acc ttt gag gac gcc ggg gag	1008
Leu Glu Val Leu Ser Leu His Asn Val Thr Phe Glu Asp Ala Gly Glu	
325 330 335	
tac acc tgc ctg gcg ggc aat tct att ggg ttt tct cat cac tct gcg	1056
Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Phe Ser His His Ser Ala	
340 345 350	
tgg ctg gtg gtg ctg cca gcc gag gag gag ctg gtg gag gct gac gag	1104
Trp Leu Val Val Leu Pro Ala Glu Glu Glu Leu Val Glu Ala Asp Glu	
355 360 365	
gcg ggc agt gtg tat gca ggc atc ctc agc tac ggg gtg ggc ttc ttc	1152
Ala Gly Ser Val Tyr Ala Gly Ile Leu Ser Tyr Gly Val Gly Phe Phe	
370 375 380	
ctg ttc atc ctg gtg gtg gcg gct gtg acg ctc tgc cgc ctg cgc agc	1200
Leu Phe Ile Leu Val Val Ala Ala Val Thr Leu Cys Arg Leu Arg Ser	
385 390 395 400	
ccc ccc aag aaa ggc ctg ggc tcc ccc acc gtg cac aag atc tcc cgc	1248
Pro Pro Lys Lys Gly Leu Gly Ser Pro Thr Val His Lys Ile Ser Arg	
405 410 415	
ttc ccg ctc aag cga cag gtg tcc ctg gag tcc aac gcg tcc atg agc	1296
Phe Pro Leu Lys Arg Gln Val Ser Leu Glu Ser Asn Ala Ser Met Ser	
420 425 430	
tcc aac aca cca ctg gtg cgc atc gca agg ctg tcc tca ggg gag ggc	1344
Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile Ala Arg Leu Ser Ser Gly Glu Gly	
435 440 445	
ccc acg ctg gcc aat gtc tcc gag ctc gag ctg cct gcc gac ccc aaa	1392
Pro Thr Leu Ala Asn Val Ser Glu Leu Glu Leu Pro Ala Asp Pro Lys	
450 455 460	
tgg gag ctg tct cgg gcc cgg ctg acc ctg ggc aag ccc ctt ggg gag	1440
Trp Glu Leu Ser Arg Ala Arg Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu Gly Glu	
465 470 475 480	
ggc tgc ttc ggc cag gtg gtc atg gcg gag gcc atc ggc att gac aag	1488
Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Met Ala Glu Ala Ile Gly Ile Asp Lys	
485 490 495	
gac cgg gcc gcc aag cct gtc acc gta gcc gtg aag atg ctg aaa gac	1536
Asp Arg Ala Ala Lys Pro Val Thr Val Ala Val Lys Met Leu Lys Asp	
500 505 510	
gat gcc act gac aag gac ctg tcg gac ctg gtg tct gag atg gag atg	1584
Asp Ala Thr Asp Lys Asp Leu Ser Asp Leu Val Ser Glu Met Glu Met	

ES 2 643 571 T3

515					520					525						
atg	aag	atg	atc	ggg	aaa	cac	aaa	aac	atc	atc	aac	ctg	ctg	ggc	gcc	1632
Met	Lys	Met	Ile	Gly	Lys	His	Lys	Asn	Ile	Ile	Asn	Leu	Leu	Gly	Ala	
	530					535						540				
tgc	acg	cag	ggc	ggg	ccc	ctg	tac	gtg	ctg	gtg	gag	tac	gcg	gcc	aag	1680
Cys	Thr	Gln	Gly	Gly	Pro	Leu	Tyr	Val	Leu	Val	Glu	Tyr	Ala	Ala	Lys	
	545					550						555			560	
ggc	aac	ctg	cgg	gag	ttt	ctg	cgg	gcg	cgg	cgg	ccc	ccg	ggc	ctg	gac	1728
Gly	Asn	Leu	Arg	Glu	Phe	Leu	Arg	Ala	Arg	Arg	Pro	Pro	Gly	Leu	Asp	
				565										575		
tac	tcc	ttc	gac	acc	tgc	aag	ccg	ccc	gag	gag	cag	ctc	acc	ttc	aag	1776
Tyr	Ser	Phe	Asp	Thr	Cys	Lys	Pro	Pro	Glu	Glu	Gln	Leu	Thr	Phe	Lys	
			580						585				590			
gac	ctg	gtg	tcc	tgt	gcc	tac	cag	gtg	gcc	cgg	ggc	atg	gag	tac	ttg	1824
Asp	Leu	Val	Ser	Cys	Ala	Tyr	Gln	Val	Ala	Arg	Gly	Met	Glu	Tyr	Leu	
		595				600						605				
gcc	tcc	cag	aag	tgc	atc	cac	agg	gac	ctg	gct	gcc	cgc	aat	gtg	ctg	1872
Ala	Ser	Gln	Lys	Cys	Ile	His	Arg	Asp	Leu	Ala	Ala	Arg	Asn	Val	Leu	
	610					615						620				
gtg	acc	gag	gac	aac	gtg	atg	aag	atc	gca	gac	ttc	ggg	ctg	gcc	cgg	1920
Val	Thr	Glu	Asp	Asn	Val	Met	Lys	Ile	Ala	Asp	Phe	Gly	Leu	Ala	Arg	
	625			630						635				640		
gac	gtg	cac	aac	ctc	gac	tac	tac	aag	aag	aca	acc	aac	ggc	cgg	ctg	1968
Asp	Val	His	Asn	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Lys	Lys	Thr	Thr	Asn	Gly	Arg	Leu	
				645					650					655		
ccc	gtg	aag	tgg	atg	gcg	cct	gag	gcc	ttg	ttt	gac	cga	gtc	tac	act	2016
Pro	Val	Lys	Trp	Met	Ala	Pro	Glu	Ala	Leu	Phe	Asp	Arg	Val	Tyr	Thr	
			660					665					670			
cac	cag	agt	gac	gtc	tgg	tcc	ttt	ggg	gtc	ctg	ctc	tgg	gag	atc	ttc	2064
His	Gln	Ser	Asp	Val	Trp	Ser	Phe	Gly	Val	Leu	Leu	Trp	Glu	Ile	Phe	
			675				680					685				
acg	ctg	ggg	ggc	tcc	ccg	tac	ccc	ggc	atc	cct	gtg	gag	gag	ctc	ttc	2112
Thr	Leu	Gly	Gly	Ser	Pro	Tyr	Pro	Gly	Ile	Pro	Val	Glu	Glu	Leu	Phe	
	690					695						700				
aag	ctg	ctg	aag	gag	ggc	cac	cgc	atg	gac	aag	ccc	gcc	aac	tgc	aca	2160
Lys	Leu	Leu	Lys	Glu	Gly	His	Arg	Met	Asp	Lys	Pro	Ala	Asn	Cys	Thr	
	705			710						715				720		
cac	gac	ctg	tac	atg	atc	atg	cgg	gag	tgc	tgg	cat	gcc	gcg	ccc	tcc	2208
His	Asp	Leu	Tyr	Met	Ile	Met	Arg	Glu	Cys	Trp	His	Ala	Ala	Pro	Ser	
				725					730					735		
cag	agg	ccc	acc	ttc	aag	cag	ctg	gtg	gag	gac	ctg	gac	cgt	gtc	ctt	2256
Gln	Arg	Pro	Thr	Phe	Lys	Gln	Leu	Val	Glu	Asp	Leu	Asp	Arg	Val	Leu	
				740				745					750			
acc	gtg	acg	tcc	acc	gac	gta	aag	gcg	aca	cag	gag	gag	aac	cgg	gag	2304
Thr	Val	Thr	Ser	Thr	Asp	Val	Lys	Ala	Thr	Gln	Glu	Glu	Asn	Arg	Glu	
			755			760							765			
ctg	agg	agc	agg	tgt	gag	gag	ctc	cac	ggg	aag	aac	ctg	gaa	ctg	ggg	2352

ES 2 643 571 T3

Leu Arg Ser Arg Cys Glu Glu Leu His Gly Lys Asn Leu Glu Leu Gly
 770 775 780

aag atc atg gac agg ttc gaa gag gtt gtg tac cag gcc atg gag gaa 2400
 Lys Ile Met Asp Arg Phe Glu Glu Val Val Tyr Gln Ala Met Glu Glu
 785 790 795 800

gtt cag aag cag aag gaa ctt tcc aaa gct gaa atc cag aaa gtt cta 2448
 Val Gln Lys Gln Lys Glu Leu Ser Lys Ala Tyr Gln Ile Gln Lys Val Leu
 805 810 815

aaa gaa aaa gac caa ctt acc aca gat ctg aac tcc atg gag aag tcc 2496
 Lys Glu Lys Asp Gln Leu Thr Thr Asp Leu Asn Ser Met Glu Lys Ser
 820 825 830

ttc tcc gac ctc ttc aag cgt ttt gag aaa cag aaa gag gtg atc gag 2544
 Phe Ser Asp Leu Phe Lys Arg Phe Glu Lys Gln Lys Glu Val Ile Glu
 835 840 845

ggc tac cgc aag aac gaa gag tca ctg aag aag tgc gtg gag gat tac 2592
 Gly Tyr Arg Lys Asn Glu Glu Ser Leu Lys Lys Cys Val Glu Asp Tyr
 850 855 860

ctg gca agg atc acc cag gag ggc cag agg tac caa gcc ctg aag gcc 2640
 Leu Ala Arg Ile Thr Gln Glu Gly Gln Arg Tyr Gln Ala Leu Lys Ala
 865 870 875 880

cac gcg gag gag aag ctg cag ctg gca aac gag gag atc gcc cag gtc 2688
 His Ala Glu Glu Lys Leu Gln Leu Ala Asn Glu Glu Ile Ala Gln Val
 885 890 895

cgg agc aag gcc cag gcg gaa gcg ttg gcc ctc cag gcc agc ctg agg 2736
 Arg Ser Lys Ala Gln Ala Glu Ala Leu Ala Leu Gln Ala Ser Leu Arg
 900 905 910

aag gag cag atg cgc atc cag tcg ctg gag aag aca gtg gag cag aag 2784
 Lys Glu Gln Met Arg Ile Gln Ser Leu Glu Lys Thr Val Glu Gln Lys
 915 920 925

act aaa gag aac gag gag ctg acc agg atc tgc gac gac ctc atc tcc 2832
 Thr Lys Glu Asn Glu Glu Leu Thr Arg Ile Cys Asp Asp Leu Ile Ser
 930 935 940

aag atg gag aag atc tga 2850
 Lys Met Glu Lys Ile
 945

<210> 34
 <211> 949
 5 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 34
 Met Gly Ala Pro Ala Cys Ala Leu Ala Leu Cys Val Ala Val Ala Ile
 1 5 10 15

Val Ala Gly Ala Ser Ser Glu Ser Leu Gly Thr Glu Gln Arg Val Val
 20 25 30

10

ES 2 643 571 T3

Gly Arg Ala Ala Glu Val Pro Gly Pro Glu Pro Gly Gln Gln Glu Gln
35 40 45

Leu Val Phe Gly Ser Gly Asp Ala Val Glu Leu Ser Cys Pro Pro Pro
50 55 60

Gly Gly Gly Pro Met Gly Pro Thr Val Trp Val Lys Asp Gly Thr Gly
65 70 75 80

Leu Val Pro Ser Glu Arg Val Leu Val Gly Pro Gln Arg Leu Gln Val
85 90 95

Leu Asn Ala Ser His Glu Asp Ser Gly Ala Tyr Ser Cys Arg Gln Arg
100 105 110

Leu Thr Gln Arg Val Leu Cys His Phe Ser Val Arg Val Thr Asp Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Gly Glu Asp Glu Ala Glu Asp Thr
130 135 140

Gly Val Asp Thr Gly Ala Pro Tyr Trp Thr Arg Pro Glu Arg Met Asp
145 150 155 160

Lys Lys Leu Leu Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Arg Phe Arg Cys
165 170 175

Pro Ala Ala Gly Asn Pro Thr Pro Ser Ile Ser Trp Leu Lys Asn Gly
180 185 190

Arg Glu Phe Arg Gly Glu His Arg Ile Gly Gly Ile Lys Leu Arg His
195 200 205

Gln Gln Trp Ser Leu Val Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Arg Gly
210 215 220

Asn Tyr Thr Cys Val Val Glu Asn Lys Phe Gly Ser Ile Arg Gln Thr
225 230 235 240

Tyr Thr Leu Asp Val Leu Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln
245 250 255

Ala Gly Leu Pro Ala Asn Gln Thr Ala Val Leu Gly Ser Asp Val Glu
260 265 270

Phe His Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Leu
275 280 285

ES 2 643 571 T3

Lys His Val Glu Val Asn Gly Ser Lys Val Gly Pro Asp Gly Thr Pro
 290 295 300

Tyr Val Thr Val Leu Lys Thr Ala Gly Ala Asn Thr Thr Asp Lys Glu
 305 310 315 320

Leu Glu Val Leu Ser Leu His Asn Val Thr Phe Glu Asp Ala Gly Glu
 325 330 335

Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Phe Ser His His Ser Ala
 340 345 350

Trp Leu Val Val Leu Pro Ala Glu Glu Glu Leu Val Glu Ala Asp Glu
 355 360 365

Ala Gly Ser Val Tyr Ala Gly Ile Leu Ser Tyr Gly Val Gly Phe Phe
 370 375 380

Leu Phe Ile Leu Val Val Ala Ala Val Thr Leu Cys Arg Leu Arg Ser
 385 390 395 400

Pro Pro Lys Lys Gly Leu Gly Ser Pro Thr Val His Lys Ile Ser Arg
 405 410 415

Phe Pro Leu Lys Arg Gln Val Ser Leu Glu Ser Asn Ala Ser Met Ser
 420 425 430

Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile Ala Arg Leu Ser Ser Gly Glu Gly
 435 440 445

Pro Thr Leu Ala Asn Val Ser Glu Leu Glu Leu Pro Ala Asp Pro Lys
 450 455 460

Trp Glu Leu Ser Arg Ala Arg Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu Gly Glu
 465 470 475 480

Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Met Ala Glu Ala Ile Gly Ile Asp Lys
 485 490 495

Asp Arg Ala Ala Lys Pro Val Thr Val Ala Val Lys Met Leu Lys Asp
 500 505 510

Asp Ala Thr Asp Lys Asp Leu Ser Asp Leu Val Ser Glu Met Glu Met
 515 520 525

Met Lys Met Ile Gly Lys His Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu Gly Ala
 530 535 540

ES 2 643 571 T3

Cys Thr Gln Gly Gly Pro Leu Tyr Val Leu Val Glu Tyr Ala Ala Lys
 545 550 555 560
 Gly Asn Leu Arg Glu Phe Leu Arg Ala Arg Arg Pro Pro Gly Leu Asp
 565 570 575
 Tyr Ser Phe Asp Thr Cys Lys Pro Pro Glu Glu Gln Leu Thr Phe Lys
 580 585 590
 Asp Leu Val Ser Cys Ala Tyr Gln Val Ala Arg Gly Met Glu Tyr Leu
 595 600 605
 Ala Ser Gln Lys Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu
 610 615 620
 Val Thr Glu Asp Asn Val Met Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg
 625 630 635 640
 Asp Val His Asn Leu Asp Tyr Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly Arg Leu
 645 650 655
 Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val Tyr Thr
 660 665 670
 His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe
 675 680 685
 Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu Leu Phe
 690 695 700
 Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn Cys Thr
 705 710 715 720
 His Asp Leu Tyr Met Ile Met Arg Glu Cys Trp His Ala Ala Pro Ser
 725 730 735
 Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg Val Leu
 740 745 750
 Thr Val Thr Ser Thr Asp Val Lys Ala Thr Gln Glu Glu Asn Arg Glu
 755 760 765
 Leu Arg Ser Arg Cys Glu Glu Leu His Gly Lys Asn Leu Glu Leu Gly
 770 775 780
 Lys Ile Met Asp Arg Phe Glu Glu Val Val Tyr Gln Ala Met Glu Glu

ES 2 643 571 T3

```

785                    790                    795                    800

Val Gln Lys Gln Lys Glu Leu Ser Lys Ala Glu Ile Gln Lys Val Leu
                    805                    810                    815

Lys Glu Lys Asp Gln Leu Thr Thr Asp Leu Asn Ser Met Glu Lys Ser
                    820                    825                    830

Phe Ser Asp Leu Phe Lys Arg Phe Glu Lys Gln Lys Glu Val Ile Glu
                    835                    840                    845

Gly Tyr Arg Lys Asn Glu Glu Ser Leu Lys Lys Cys Val Glu Asp Tyr
                    850                    855                    860

Leu Ala Arg Ile Thr Gln Glu Gly Gln Arg Tyr Gln Ala Leu Lys Ala
865                    870                    875                    880

His Ala Glu Glu Lys Leu Gln Leu Ala Asn Glu Glu Ile Ala Gln Val
                    885                    890                    895

Arg Ser Lys Ala Gln Ala Glu Ala Leu Ala Leu Gln Ala Ser Leu Arg
                    900                    905                    910

Lys Glu Gln Met Arg Ile Gln Ser Leu Glu Lys Thr Val Glu Gln Lys
                    915                    920                    925

Thr Lys Glu Asn Glu Glu Leu Thr Arg Ile Cys Asp Asp Leu Ile Ser
                    930                    935                    940

Lys Met Glu Lys Ile
945

```

```

<210> 35
<211> 4461
5 <212> ADN
  <213> Homo sapiens

```

```

<220>
10 <221> CDS
  <222> (1)..(4461)

```

```

<400> 35
atg ggc gcc cct gcc tgc gcc ctc gcg ctc tgc gtg gcc gtg gcc atc      48
Met Gly Ala Pro Ala Cys Ala Leu Ala Leu Cys Val Ala Val Ala Ile
  1                    5                    10                    15

gtg gcc ggc gcc tcc tcg gag tcc ttg ggg acg gag cag cgc gtc gtg      96
Val Ala Gly Ala Ser Ser Glu Ser Leu Gly Thr Glu Gln Arg Val Val
                    20                    25                    30

ggg cga gcg gca gaa gtc ccg gcc cca gag ccc gcc cag cag gag cag      144

```


ES 2 643 571 T3

Gly	Arg	Ala	Ala	Glu	Val	Pro	Gly	Pro	Glu	Pro	Gly	Gln	Gln	Glu	Gln		
		35					40					45					
ttg	gtc	ttc	ggc	agc	ggg	gat	gct	gtg	gag	ctg	agc	tgt	ccc	ccg	ccc		192
Leu	Val	Phe	Gly	Ser	Gly	Asp	Ala	Val	Glu	Leu	Ser	Cys	Pro	Pro	Pro		
	50					55					60						
ggg	ggt	ggt	ccc	atg	ggg	ccc	act	gtc	tgg	gtc	aag	gat	ggc	aca	ggg		240
Gly	Gly	Gly	Pro	Met	Gly	Pro	Thr	Val	Trp	Val	Lys	Asp	Gly	Thr	Gly		
	65				70					75					80		
ctg	gtg	ccc	tcg	gag	cgt	gtc	ctg	gtg	ggg	ccc	cag	cgg	ctg	cag	gtg		288
Leu	Val	Pro	Ser	Glu	Arg	Val	Leu	Val	Gly	Pro	Gln	Arg	Leu	Gln	Val		
				85					90					95			
ctg	aat	gcc	tcc	cac	gag	gac	tcc	ggg	gcc	tac	agc	tgc	cgg	cag	cgg		336
Leu	Asn	Ala	Ser	His	Glu	Asp	Ser	Gly	Ala	Tyr	Ser	Cys	Arg	Gln	Arg		
			100					105					110				
ctc	acg	cag	cgc	gta	ctg	tgc	cac	ttc	agt	gtg	cgg	gtg	aca	gac	gct		384
Leu	Thr	Gln	Arg	Val	Leu	Cys	His	Phe	Ser	Val	Arg	Val	Thr	Asp	Ala		
		115					120					125					
cca	tcc	tcg	gga	gat	gac	gaa	gac	ggg	gag	gac	gag	gct	gag	gac	aca		432
Pro	Ser	Ser	Gly	Asp	Asp	Glu	Asp	Gly	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Asp	Thr		
	130					135					140						
ggt	gtg	gac	aca	ggg	gcc	cct	tac	tgg	aca	cgg	ccc	gag	cgg	atg	gac		480
Gly	Val	Asp	Thr	Gly	Ala	Pro	Tyr	Trp	Thr	Arg	Pro	Glu	Arg	Met	Asp		
	145				150					155					160		
aag	aag	ctg	ctg	gcc	gtg	ccg	gcc	gcc	aac	acc	gtc	cgc	ttc	cgc	tgc		528
Lys	Lys	Leu	Leu	Ala	Val	Pro	Ala	Ala	Asn	Thr	Val	Arg	Phe	Arg	Cys		
				165					170					175			
cca	gcc	gct	ggc	aac	ccc	act	ccc	tcc	atc	tcc	tgg	ctg	aag	aac	ggc		576
Pro	Ala	Ala	Gly	Asn	Pro	Thr	Pro	Ser	Ile	Ser	Trp	Leu	Lys	Asn	Gly		
			180					185					190				
agg	gag	ttc	cgc	ggc	gag	cac	cgc	att	gga	ggc	atc	aag	ctg	cgg	cat		624
Arg	Glu	Phe	Arg	Gly	Glu	His	Arg	Ile	Gly	Gly	Ile	Lys	Leu	Arg	His		
		195					200					205					
cag	cag	tgg	agc	ctg	gtc	atg	gaa	agc	gtg	gtg	ccc	tcg	gac	cgc	ggc		672
Gln	Gln	Trp	Ser	Leu	Val	Met	Glu	Ser	Val	Val	Pro	Ser	Asp	Arg	Gly		
		210				215					220						
aac	tac	acc	tgc	gtc	gtg	gag	aac	aag	ttt	ggc	agc	atc	cgg	cag	acg		720
Asn	Tyr	Thr	Cys	Val	Val	Glu	Asn	Lys	Phe	Gly	Ser	Ile	Arg	Gln	Thr		
					230					235					240		
tac	acg	ctg	gac	gtg	ctg	gag	cgc	tcc	ccg	cac	cgg	ccc	atc	ctg	cag		768
Tyr	Thr	Leu	Asp	Val	Leu	Glu	Arg	Ser	Pro	His	Arg	Pro	Ile	Leu	Gln		
				245					250					255			
gcg	ggg	ctg	ccg	gcc	aac	cag	acg	gcg	gtg	ctg	ggc	agc	gac	gtg	gag		816
Ala	Gly	Leu	Pro	Ala	Asn	Gln	Thr	Ala	Val	Leu	Gly	Ser	Asp	Val	Glu		
			260					265					270				
ttc	cac	tgc	aag	gtg	tac	agt	gac	gca	cag	ccc	cac	atc	cag	tgg	ctc		864
Phe	His	Cys	Lys	Val	Tyr	Ser	Asp	Ala	Gln	Pro	His	Ile	Gln	Trp	Leu		
		275					280					285					

ES 2 643 571 T3

aag cac gtg gag gtg aat ggc agc aag gtg ggc ccg gac ggc aca ccc Lys His Val Glu Val Asn Gly Ser Lys Val Gly Pro Asp Gly Thr Pro 290 295 300	912
tac gtt acc gtg ctc aag acg gcg ggc gct aac acc acc gac aag gag Tyr Val Thr Val Leu Lys Thr Ala Gly Ala Asn Thr Thr Asp Lys Glu 305 310 315 320	960
cta gag gtt ctc tcc ttg cac aac gtc acc ttt gag gac gcc ggg gag Leu Glu Val Leu Ser Leu His Asn Val Thr Phe Glu Asp Ala Gly Glu 325 330 335	1008
tac acc tgc ctg gcg ggc aat tct att ggg ttt tct cat cac tct gcg Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Phe Ser His His Ser Ala 340 345 350	1056
tgg ctg gtg gtg ctg cca gcc gag gag gag ctg gtg gag gct gac gag Trp Leu Val Val Leu Pro Ala Glu Glu Glu Leu Val Glu Ala Asp Glu 355 360 365	1104
gcg ggc agt gtg tat gca ggc atc ctc agc tac ggg gtg ggc ttc ttc Ala Gly Ser Val Tyr Ala Gly Ile Leu Ser Tyr Gly Val Gly Phe Phe 370 375 380	1152
ctg ttc atc ctg gtg gtg gcg gct gtg acg ctc tgc cgc ctg cgc agc Leu Phe Ile Leu Val Val Ala Ala Val Thr Leu Cys Arg Leu Arg Ser 385 390 395 400	1200
ccc ccc aag aaa ggc ctg ggc tcc ccc acc gtg cac aag atc tcc cgc Pro Pro Lys Lys Gly Leu Gly Ser Pro Thr Val His Lys Ile Ser Arg 405 410 415	1248
ttc ccg ctc aag cga cag gtg tcc ctg gag tcc aac gcg tcc atg agc Phe Pro Leu Lys Arg Gln Val Ser Leu Glu Ser Asn Ala Ser Met Ser 420 425 430	1296
tcc aac aca cca ctg gtg cgc atc gca agg ctg tcc tca ggg gag ggc Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile Ala Arg Leu Ser Ser Gly Glu Gly 435 440 445	1344
ccc acg ctg gcc aat gtc tcc gag ctc gag ctg cct gcc gac ccc aaa Pro Thr Leu Ala Asn Val Ser Glu Leu Glu Leu Pro Ala Asp Pro Lys 450 455 460	1392
tgg gag ctg tct cgg gcc cgg ctg acc ctg ggc aag ccc ctt ggg gag Trp Glu Leu Ser Arg Ala Arg Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu Gly Glu 465 470 475 480	1440
ggc tgc ttc ggc cag gtg gtc atg gcg gag gcc atc ggc att gac aag Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Met Ala Glu Ala Ile Gly Ile Asp Lys 485 490 495	1488
gac cgg gcc gcc aag cct gtc acc gta gcc gtg aag atg ctg aaa gac Asp Arg Ala Ala Lys Pro Val Thr Val Ala Val Lys Met Leu Lys Asp 500 505 510	1536
gat gcc act gac aag gac ctg tcg gac ctg gtg tct gag atg gag atg Asp Ala Thr Asp Lys Asp Leu Ser Asp Leu Val Ser Glu Met Glu Met 515 520 525	1584
atg aag atg atc ggg aaa cac aaa aac atc atc aac ctg ctg ggc gcc Met Lys Met Ile Gly Lys His Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu Gly Ala 530 535 540	1632

ES 2 643 571 T3

tgc acg cag ggc ggg ccc ctg tac gtg ctg gtg gag tac gcg gcc aag Cys Thr Gln Gly Gly Pro Leu Tyr Val Leu Val Glu Tyr Ala Ala Lys 545 550 555 560	1680
ggg aac ctg cgg gag ttt ctg cgg gcg cgg cgg ccc ccg ggc ctg gac Gly Asn Leu Arg Glu Phe Leu Arg Ala Arg Arg Pro Pro Gly Leu Asp 565 570 575	1728
tac tcc ttc gac acc tgc aag ccg ccc gag gag cag ctc acc ttc aag Tyr Ser Phe Asp Thr Cys Lys Pro Pro Glu Glu Gln Leu Thr Phe Lys 580 585 590	1776
gac ctg gtg tcc tgt gcc tac cag gtg gcc cgg ggc atg gag tac ttg Asp Leu Val Ser Cys Ala Tyr Gln Val Ala Arg Gly Met Glu Tyr Leu 595 600 605	1824
gcc tcc cag aag tgc atc cac agg gac ctg gct gcc cgc aat gtg ctg Ala Ser Gln Lys Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu 610 615 620	1872
gtg acc gag gac aac gtg atg aag atc gca gac ttc ggg ctg gcc cgg Val Thr Glu Asp Asn Val Met Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg 625 630 635 640	1920
gac gtg cac aac ctc gac tac tac aag aag aca acc aac ggc cgg ctg Asp Val His Asn Leu Asp Tyr Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly Arg Leu 645 650 655	1968
ccc gtg aag tgg atg gcg cct gag gcc ttg ttt gac cga gtc tac act Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val Tyr Thr 660 665 670	2016
cac cag agt gac gtc tgg tcc ttt ggg gtc ctg ctc tgg gag atc ttc His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe 675 680 685	2064
acg ctg ggg ggc tcc ccg tac ccc ggc atc cct gtg gag gag ctc ttc Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu Leu Phe 690 695 700	2112
aag ctg ctg aag gag ggc cac cgc atg gac aag ccc gcc aac tgc aca Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn Cys Thr 705 710 715 720	2160
cac gac ctg tac atg atc atg cgg gag tgc tgg cat gcc gcg ccc tcc His Asp Leu Tyr Met Ile Met Arg Glu Cys Trp His Ala Ala Pro Ser 725 730 735	2208
cag agg ccc acc ttc aag cag ctg gtg gag gac ctg gac cgt gtc ctt Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg Val Leu 740 745 750	2256
acc gtg acg tcc acc gac gtg agt gct gcc tct ggc ctg gtg cca ccc Thr Val Thr Ser Thr Asp Val Ser Ala Gly Ser Gly Leu Val Pro Pro 755 760 765	2304
gcc tat gcc cct ccc cct gcc gtc ccc ggc cat cct gcc ccc cag agt Ala Tyr Ala Pro Pro Pro Ala Val Pro Gly His Pro Ala Pro Gln Ser 770 775 780	2352
gct gag gtg tgg ggc ggg cct tct ggc cca ggt gcc ctg gct gac ctg Ala Glu Val Trp Gly Gly Pro Ser Gly Pro Gly Ala Leu Ala Asp Leu 785 790 795	2400

ES 2 643 571 T3

785	790	795	800	
gac tgc tca agc tct tcc cag agc cca gga agt tct gag aac caa atg				2448
Asp Cys Ser Ser Ser Ser Gln Ser Pro Gly Ser Ser Glu Asn Gln Met	805	810	815	
gtg tct cca gga aaa gtg tct ggc agc cct gag caa gcc gtg gag gaa				2496
Val Ser Pro Gly Lys Val Ser Gly Ser Pro Glu Gln Ala Val Glu Glu	820	825	830	
aac ctt agt tcc tat tcc tta gac aga aga gtg aca ccc gcc tct gag				2544
Asn Leu Ser Ser Tyr Ser Leu Asp Arg Arg Val Thr Pro Ala Ser Glu	835	840	845	
acc cta gaa gac cct tgc agg aca gag tcc cag cac aaa gcg gag act				2592
Thr Leu Ser Glu Asp Pro Cys Arg Thr Glu Ser Gln His Lys Ala Glu Thr	850	855	860	
ccg cac gga gcc gag gaa gaa tgc aaa gcg gag act ccg cac gga gcc				2640
Pro His Gly Ala Glu Glu Cys Lys Ala Glu Thr Pro His Gly Ala	865	870	875	880
gag gag gaa tgc cgg cac ggt ggg gtc tgt gct ccc gca gca gtg gcc				2688
Glu Glu Glu Cys Arg His Gly Gly Val Cys Ala Pro Ala Ala Val Ala	885	890	895	
act tcg cct cct ggt gca atc cct aag gaa gcc tgc gga gga gca ccc				2736
Thr Ser Pro Pro Gly Ala Ile Pro Lys Glu Ala Cys Gly Gly Ala Pro	900	905	910	
ctg cag ggt ctg cct ggc gaa gcc ctg ggc tgc cct gcg ggt gtg ggc				2784
Leu Gln Gly Leu Pro Gly Glu Ala Leu Gly Cys Pro Ala Gly Val Gly	915	920	925	
acc ccc gtg cca gca gat ggc act cag acc ctt acc tgt gca cac acc				2832
Thr Pro Val Pro Ala Asp Gly Thr Gln Thr Leu Thr Cys Ala His Thr	930	935	940	
tct gct cct gag agc aca gcc cca acc aac cac ctg gtg gct ggc agg				2880
Ser Ala Pro Glu Ser Thr Ala Pro Thr Asn His Leu Val Ala Gly Arg	945	950	955	960
gcc atg acc ctg agt cct cag gaa gaa gtg gct gca gcc caa atg gcc				2928
Ala Met Thr Leu Ser Pro Gln Glu Glu Val Ala Ala Gly Gln Met Ala	965	970	975	
agc tcc tcg agg agc gga cct gta aaa cta gaa ttt gat gta tct gat				2976
Ser Ser Ser Arg Ser Gly Pro Val Lys Leu Glu Phe Asp Val Ser Asp	980	985	990	
ggc gcc acc agc aaa agg gca ccc cca cca agg aga ctg gga gag agg				3024
Gly Ala Thr Ser Lys Arg Ala Pro Pro Pro Arg Arg Leu Gly Glu Arg	995	1000	1005	
tcc ggc ctc aag cct ccc ttg agg aaa gca gca gtg agg cag caa				3069
Ser Gly Leu Lys Pro Pro Leu Arg Lys Ala Ala Val Arg Gln Gln	1010	1015	1020	
aag gcc ccg cag gag gtg gag gag gac gac ggt agg agc gga gca				3114
Lys Ala Pro Gln Glu Val Glu Glu Asp Asp Gly Arg Ser Gly Ala	1025	1030	1035	
gga gag gac ccc ccc atg cca gct tct cgg ggc tct tac cac ctc				3159

ES 2 643 571 T3

Gly	Glu	Asp	Pro	Pro	Met	Pro	Ala	Ser	Arg	Gly	Ser	Tyr	His	Leu		
1040						1045					1050					
gac	tgg	gac	aaa	atg	gat	gac	cca	aac	ttc	atc	ccg	ttc	gga	ggt	3204	
Asp	Trp	Asp	Lys	Met	Asp	Asp	Pro	Asn	Phe	Ile	Pro	Phe	Gly	Gly		
1055						1060					1065					
gac	acc	aag	tct	ggt	tgc	agt	gag	gcc	cag	ccc	cca	gaa	agc	cct	3249	
Asp	Thr	Lys	Ser	Gly	Cys	Ser	Glu	Ala	Gln	Pro	Pro	Glu	Ser	Pro		
1070						1075					1080					
gag	acc	agg	ctg	ggc	cag	cca	gcg	gct	gaa	cag	ttg	cat	gct	ggg	3294	
Glu	Thr	Arg	Leu	Gly	Gln	Pro	Ala	Ala	Glu	Gln	Leu	His	Ala	Gly		
1085						1090					1095					
cct	gcc	acg	gag	gag	cca	ggt	ccc	tgt	ctg	agc	cag	cag	ctg	cat	3339	
Pro	Ala	Thr	Glu	Glu	Pro	Gly	Pro	Cys	Leu	Ser	Gln	Gln	Leu	His		
1100						1105					1110					
tca	gcc	tca	gcg	gag	gac	acg	cct	gtg	gtg	cag	ttg	gca	gcc	gag	3384	
Ser	Ala	Ser	Ala	Glu	Asp	Thr	Pro	Val	Val	Gln	Leu	Ala	Ala	Glu		
1115						1120					1125					
acc	cca	aca	gca	gag	agc	aag	gag	aga	gcc	ttg	aac	tct	gcc	agc	3429	
Thr	Pro	Thr	Ala	Glu	Ser	Lys	Glu	Arg	Ala	Leu	Asn	Ser	Ala	Ser		
1130						1135					1140					
acc	tcg	ctt	ccc	aca	agc	tgt	cca	ggc	agt	gag	cca	gtg	ccc	acc	3474	
Thr	Ser	Leu	Pro	Thr	Ser	Cys	Pro	Gly	Ser	Glu	Pro	Val	Pro	Thr		
1145						1150					1155					
cat	cag	cag	ggg	cag	cct	gcc	ttg	gag	ctg	aaa	gag	gag	agc	ttc	3519	
His	Gln	Gln	Gly	Gln	Pro	Ala	Leu	Glu	Leu	Lys	Glu	Glu	Ser	Phe		
1160						1165					1170					
aga	gac	ccc	gct	gag	gtt	cta	ggc	acg	ggc	gcg	gag	gtg	gat	tac	3564	
Arg	Asp	Pro	Ala	Glu	Val	Leu	Gly	Thr	Gly	Ala	Glu	Val	Asp	Tyr		
1175						1180					1185					
ctg	gag	cag	ttt	gga	act	tcc	tcg	ttt	aag	gag	tcg	gcc	ttg	agg	3609	
Leu	Glu	Gln	Phe	Gly	Thr	Ser	Ser	Phe	Lys	Glu	Ser	Ala	Leu	Arg		
1190						1195					1200					
aag	cag	tcc	tta	tac	ctc	aag	ttc	gac	ccc	ctc	ctg	agg	gac	agt	3654	
Lys	Gln	Ser	Leu	Tyr	Leu	Lys	Phe	Asp	Pro	Leu	Leu	Arg	Asp	Ser		
1205						1210					1215					
cct	ggt	aga	cca	gtg	ccc	gtg	gcc	acc	gag	acc	agc	agc	atg	cac	3699	
Pro	Gly	Arg	Pro	Val	Pro	Val	Ala	Thr	Glu	Thr	Ser	Ser	Met	His		
1220						1225					1230					
ggt	gca	aat	gag	act	ccc	tca	gga	cgt	ccg	cgg	gaa	gcc	aag	ctt	3744	
Gly	Ala	Asn	Glu	Thr	Pro	Ser	Gly	Arg	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Leu		
1235						1240					1245					
gtg	gag	ttc	gat	ttc	ttg	gga	gca	ctg	gac	att	cct	gtg	cca	ggc	3789	
Val	Glu	Phe	Asp	Phe	Leu	Gly	Ala	Leu	Asp	Ile	Pro	Val	Pro	Gly		
1250						1255					1260					
cca	ccc	cca	ggt	gtt	ccc	gcg	cct	ggg	ggc	cca	ccc	ctg	tcc	acc	3834	
Pro	Pro	Pro	Gly	Val	Pro	Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Pro	Leu	Ser	Thr		
1265						1270					1275					

ES 2 643 571 T3

gga cct ata gtg gac ctg ctc cag tac agc cag aag gac ctg gat 3879
 Gly Pro Ile Val Asp Leu Leu Gln Tyr Ser Gln Lys Asp Leu Asp
 1280 1285 1290

gca gtg gta aag gcg aca cag gag gag aac cgg gag ctg agg agc 3924
 Ala Val Val Lys Ala Thr Gln Glu Glu Asn Arg Glu Leu Arg Ser
 1295 1300 1305

agg tgt gag gag ctc cac ggg aag aac ctg gaa ctg ggg aag atc 3969
 Arg Cys Glu Glu Leu His Gly Lys Asn Leu Glu Leu Gly Lys Ile
 1310 1315 1320

atg gac agg ttc gaa gag gtt gtg tac cag gcc atg gag gaa gtt 4014
 Met Asp Arg Phe Glu Glu Val Val Tyr Gln Ala Met Glu Glu Val
 1325 1330 1335

cag aag cag aag gaa ctt tcc aaa gct gaa atc cag aaa gtt cta 4059
 Gln Lys Gln Lys Glu Leu Ser Lys Ala Glu Ile Gln Lys Val Leu
 1340 1345 1350

aaa gaa aaa gac caa ctt acc aca gat ctg aac tcc atg gag aag 4104
 Lys Glu Lys Asp Gln Leu Thr Thr Asp Leu Asn Ser Met Glu Lys
 1355 1360 1365

tcc ttc tcc gac ctc ttc aag cgt ttt gag aaa cag aaa gag gtg 4149
 Ser Phe Ser Asp Leu Phe Lys Arg Phe Glu Lys Gln Lys Glu Val
 1370 1375 1380

atc gag ggc tac cgc aag aac gaa gag tca ctg aag aag tgc gtg 4194
 Ile Glu Gly Tyr Arg Lys Asn Glu Glu Ser Leu Lys Lys Cys Val
 1385 1390 1395

gag gat tac ctg gca agg atc acc cag gag ggc cag agg tac caa 4239
 Glu Asp Tyr Leu Ala Arg Ile Thr Gln Glu Gly Gln Arg Tyr Gln
 1400 1405 1410

gcc ctg aag gcc cac gcg gag gag aag ctg cag ctg gca aac gag 4284
 Ala Leu Lys Ala His Ala Glu Glu Lys Leu Gln Leu Ala Asn Glu
 1415 1420 1425

gag atc gcc cag gtc cgg agc aag gcc cag gcg gaa gcg ttg gcc 4329
 Glu Ile Ala Gln Val Arg Ser Lys Ala Gln Ala Glu Ala Leu Ala
 1430 1435 1440

ctc cag gcc agc ctg agg aag gag cag atg cgc atc cag tcg ctg 4374
 Leu Gln Ala Ser Leu Arg Lys Glu Gln Met Arg Ile Gln Ser Leu
 1445 1450 1455

gag aag aca gtg gag cag aag act aaa gag aac gag gag ctg acc 4419
 Glu Lys Thr Val Glu Gln Lys Thr Lys Glu Asn Glu Glu Leu Thr
 1460 1465 1470

agg atc tgc gac gac ctc atc tcc aag atg gag aag atc tga 4461
 Arg Ile Cys Asp Asp Leu Ile Ser Lys Met Glu Lys Ile
 1475 1480 1485

<210> 36
 <211> 1486
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 36

ES 2 643 571 T3

Met Gly Ala Pro Ala Cys Ala Leu Ala Leu Cys Val Ala Val Ala Ile
 1 5 10 15

Val Ala Gly Ala Ser Ser Glu Ser Leu Gly Thr Glu Gln Arg Val Val
 20 25 30

Gly Arg Ala Ala Glu Val Pro Gly Pro Glu Pro Gly Gln Gln Glu Gln
 35 40 45

Leu Val Phe Gly Ser Gly Asp Ala Val Glu Leu Ser Cys Pro Pro Pro
 50 55 60

Gly Gly Gly Pro Met Gly Pro Thr Val Trp Val Lys Asp Gly Thr Gly
 65 70 75 80

Leu Val Pro Ser Glu Arg Val Leu Val Gly Pro Gln Arg Leu Gln Val
 85 90 95

Leu Asn Ala Ser His Glu Asp Ser Gly Ala Tyr Ser Cys Arg Gln Arg
 100 105 110

Leu Thr Gln Arg Val Leu Cys His Phe Ser Val Arg Val Thr Asp Ala
 115 120 125

Pro Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Gly Glu Asp Glu Ala Glu Asp Thr
 130 135 140

Gly Val Asp Thr Gly Ala Pro Tyr Trp Thr Arg Pro Glu Arg Met Asp
 145 150 155 160

Lys Lys Leu Leu Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Arg Phe Arg Cys
 165 170 175

Pro Ala Ala Gly Asn Pro Thr Pro Ser Ile Ser Trp Leu Lys Asn Gly
 180 185 190

Arg Glu Phe Arg Gly Glu His Arg Ile Gly Gly Ile Lys Leu Arg His
 195 200 205

Gln Gln Trp Ser Leu Val Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Arg Gly
 210 215 220

Asn Tyr Thr Cys Val Val Glu Asn Lys Phe Gly Ser Ile Arg Gln Thr
 225 230 235 240

Tyr Thr Leu Asp Val Leu Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln
 245 250 255

ES 2 643 571 T3

Ala Gly Leu Pro Ala Asn Gln Thr Ala Val Leu Gly Ser Asp Val Glu
 260 265 270

Phe His Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Leu
 275 280 285

Lys His Val Glu Val Asn Gly Ser Lys Val Gly Pro Asp Gly Thr Pro
 290 295 300

Tyr Val Thr Val Leu Lys Thr Ala Gly Ala Asn Thr Thr Asp Lys Glu
 305 310 315 320

Leu Glu Val Leu Ser Leu His Asn Val Thr Phe Glu Asp Ala Gly Glu
 325 330 335

Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Phe Ser His His Ser Ala
 340 345 350

Trp Leu Val Val Leu Pro Ala Glu Glu Glu Leu Val Glu Ala Asp Glu
 355 360 365

Ala Gly Ser Val Tyr Ala Gly Ile Leu Ser Tyr Gly Val Gly Phe Phe
 370 375 380

Leu Phe Ile Leu Val Val Ala Ala Val Thr Leu Cys Arg Leu Arg Ser
 385 390 395 400

Pro Pro Lys Lys Gly Leu Gly Ser Pro Thr Val His Lys Ile Ser Arg
 405 410 415

Phe Pro Leu Lys Arg Gln Val Ser Leu Glu Ser Asn Ala Ser Met Ser
 420 425 430

Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile Ala Arg Leu Ser Ser Gly Glu Gly
 435 440 445

Pro Thr Leu Ala Asn Val Ser Glu Leu Glu Leu Pro Ala Asp Pro Lys
 450 455 460

Trp Glu Leu Ser Arg Ala Arg Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu Gly Glu
 465 470 475 480

Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Met Ala Glu Ala Ile Gly Ile Asp Lys
 485 490 495

Asp Arg Ala Ala Lys Pro Val Thr Val Ala Val Lys Met Leu Lys Asp

ES 2 643 571 T3

	500		505		510														
Asp	Ala	Thr	Asp	Lys	Asp	Leu	Ser	Asp	Leu	Val	Ser	Glu	Met	Glu	Met				
	515						520					525							
Met	Lys	Met	Ile	Gly	Lys	His	Lys	Asn	Ile	Ile	Asn	Leu	Leu	Gly	Ala				
	530					535					540								
Cys	Thr	Gln	Gly	Gly	Pro	Leu	Tyr	Val	Leu	Val	Glu	Tyr	Ala	Ala	Lys				
545					550					555					560				
Gly	Asn	Leu	Arg	Glu	Phe	Leu	Arg	Ala	Arg	Arg	Pro	Pro	Gly	Leu	Asp				
				565					570						575				
Tyr	Ser	Phe	Asp	Thr	Cys	Lys	Pro	Pro	Glu	Glu	Gln	Leu	Thr	Phe	Lys				
			580					585						590					
Asp	Leu	Val	Ser	Cys	Ala	Tyr	Gln	Val	Ala	Arg	Gly	Met	Glu	Tyr	Leu				
		595					600					605							
Ala	Ser	Gln	Lys	Cys	Ile	His	Arg	Asp	Leu	Ala	Ala	Arg	Asn	Val	Leu				
	610					615					620								
Val	Thr	Glu	Asp	Asn	Val	Met	Lys	Ile	Ala	Asp	Phe	Gly	Leu	Ala	Arg				
625					630					635					640				
Asp	Val	His	Asn	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Lys	Lys	Thr	Thr	Asn	Gly	Arg	Leu				
				645					650						655				
Pro	Val	Lys	Trp	Met	Ala	Pro	Glu	Ala	Leu	Phe	Asp	Arg	Val	Tyr	Thr				
			660					665					670						
His	Gln	Ser	Asp	Val	Trp	Ser	Phe	Gly	Val	Leu	Leu	Trp	Glu	Ile	Phe				
		675					680						685						
Thr	Leu	Gly	Gly	Ser	Pro	Tyr	Pro	Gly	Ile	Pro	Val	Glu	Glu	Leu	Phe				
	690					695					700								
Lys	Leu	Leu	Lys	Glu	Gly	His	Arg	Met	Asp	Lys	Pro	Ala	Asn	Cys	Thr				
705					710				715					720					
His	Asp	Leu	Tyr	Met	Ile	Met	Arg	Glu	Cys	Trp	His	Ala	Ala	Pro	Ser				
				725					730					735					
Gln	Arg	Pro	Thr	Phe	Lys	Gln	Leu	Val	Glu	Asp	Leu	Asp	Arg	Val	Leu				
			740					745					750						

ES 2 643 571 T3

Thr Val Thr Ser Thr Asp Val Ser Ala Gly Ser Gly Leu Val Pro Pro
 755 760 765
 Ala Tyr Ala Pro Pro Pro Ala Val Pro Gly His Pro Ala Pro Gln Ser
 770 775 780
 Ala Glu Val Trp Gly Gly Pro Ser Gly Pro Gly Ala Leu Ala Asp Leu
 785 790 795 800
 Asp Cys Ser Ser Ser Ser Gln Ser Pro Gly Ser Ser Glu Asn Gln Met
 805 810 815
 Val Ser Pro Gly Lys Val Ser Gly Ser Pro Glu Gln Ala Val Glu Glu
 820 825 830
 Asn Leu Ser Ser Tyr Ser Leu Asp Arg Arg Val Thr Pro Ala Ser Glu
 835 840 845
 Thr Leu Glu Asp Pro Cys Arg Thr Glu Ser Gln His Lys Ala Glu Thr
 850 855 860
 Pro His Gly Ala Glu Glu Glu Cys Lys Ala Glu Thr Pro His Gly Ala
 865 870 875 880
 Glu Glu Glu Cys Arg His Gly Gly Val Cys Ala Pro Ala Ala Val Ala
 885 890 895
 Thr Ser Pro Pro Gly Ala Ile Pro Lys Glu Ala Cys Gly Gly Ala Pro
 900 905 910
 Leu Gln Gly Leu Pro Gly Glu Ala Leu Gly Cys Pro Ala Gly Val Gly
 915 920 925
 Thr Pro Val Pro Ala Asp Gly Thr Gln Thr Leu Thr Cys Ala His Thr
 930 935 940
 Ser Ala Pro Glu Ser Thr Ala Pro Thr Asn His Leu Val Ala Gly Arg
 945 950 955 960
 Ala Met Thr Leu Ser Pro Gln Glu Glu Val Ala Ala Gly Gln Met Ala
 965 970 975
 Ser Ser Ser Arg Ser Gly Pro Val Lys Leu Glu Phe Asp Val Ser Asp
 980 985 990
 Gly Ala Thr Ser Lys Arg Ala Pro Pro Pro Arg Arg Leu Gly Glu Arg
 995 1000 1005

ES 2 643 571 T3

Ser Gly Leu Lys Pro Pro Leu Arg Lys Ala Ala Val Arg Gln Gln
 1010 1015 1020

Lys Ala Pro Gln Glu Val Glu Glu Asp Asp Gly Arg Ser Gly Ala
 1025 1030 1035

Gly Glu Asp Pro Pro Met Pro Ala Ser Arg Gly Ser Tyr His Leu
 1040 1045 1050

Asp Trp Asp Lys Met Asp Asp Pro Asn Phe Ile Pro Phe Gly Gly
 1055 1060 1065

Asp Thr Lys Ser Gly Cys Ser Glu Ala Gln Pro Pro Glu Ser Pro
 1070 1075 1080

Glu Thr Arg Leu Gly Gln Pro Ala Ala Glu Gln Leu His Ala Gly
 1085 1090 1095

Pro Ala Thr Glu Glu Pro Gly Pro Cys Leu Ser Gln Gln Leu His
 1100 1105 1110

Ser Ala Ser Ala Glu Asp Thr Pro Val Val Gln Leu Ala Ala Glu
 1115 1120 1125

Thr Pro Thr Ala Glu Ser Lys Glu Arg Ala Leu Asn Ser Ala Ser
 1130 1135 1140

Thr Ser Leu Pro Thr Ser Cys Pro Gly Ser Glu Pro Val Pro Thr
 1145 1150 1155

His Gln Gln Gly Gln Pro Ala Leu Glu Leu Lys Glu Glu Ser Phe
 1160 1165 1170

Arg Asp Pro Ala Glu Val Leu Gly Thr Gly Ala Glu Val Asp Tyr
 1175 1180 1185

Leu Glu Gln Phe Gly Thr Ser Ser Phe Lys Glu Ser Ala Leu Arg
 1190 1195 1200

Lys Gln Ser Leu Tyr Leu Lys Phe Asp Pro Leu Leu Arg Asp Ser
 1205 1210 1215

Pro Gly Arg Pro Val Pro Val Ala Thr Glu Thr Ser Ser Met His
 1220 1225 1230

Gly Ala Asn Glu Thr Pro Ser Gly Arg Pro Arg Glu Ala Lys Leu
 1235 1240 1245

ES 2 643 571 T3

Val Glu Phe Asp Phe Leu Gly Ala Leu Asp Ile Pro Val Pro Gly
 1250 1255 1260

Pro Pro Pro Gly Val Pro Ala Pro Gly Gly Pro Pro Leu Ser Thr
 1265 1270 1275

Gly Pro Ile Val Asp Leu Leu Gln Tyr Ser Gln Lys Asp Leu Asp
 1280 1285 1290

Ala Val Val Lys Ala Thr Gln Glu Glu Asn Arg Glu Leu Arg Ser
 1295 1300 1305

Arg Cys Glu Glu Leu His Gly Lys Asn Leu Glu Leu Gly Lys Ile
 1310 1315 1320

Met Asp Arg Phe Glu Glu Val Val Tyr Gln Ala Met Glu Glu Val
 1325 1330 1335

Gln Lys Gln Lys Glu Leu Ser Lys Ala Glu Ile Gln Lys Val Leu
 1340 1345 1350

Lys Glu Lys Asp Gln Leu Thr Thr Asp Leu Asn Ser Met Glu Lys
 1355 1360 1365

Ser Phe Ser Asp Leu Phe Lys Arg Phe Glu Lys Gln Lys Glu Val
 1370 1375 1380

Ile Glu Gly Tyr Arg Lys Asn Glu Glu Ser Leu Lys Lys Cys Val
 1385 1390 1395

Glu Asp Tyr Leu Ala Arg Ile Thr Gln Glu Gly Gln Arg Tyr Gln
 1400 1405 1410

Ala Leu Lys Ala His Ala Glu Glu Lys Leu Gln Leu Ala Asn Glu
 1415 1420 1425

Glu Ile Ala Gln Val Arg Ser Lys Ala Gln Ala Glu Ala Leu Ala
 1430 1435 1440

Leu Gln Ala Ser Leu Arg Lys Glu Gln Met Arg Ile Gln Ser Leu
 1445 1450 1455

Glu Lys Thr Val Glu Gln Lys Thr Lys Glu Asn Glu Glu Leu Thr
 1460 1465 1470

Arg Ile Cys Asp Asp Leu Ile Ser Lys Met Glu Lys Ile
 1475 1480 1485

5 <210> 37
 <211> 3759
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

10 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(3759)

ES 2 643 571 T3

<400> 37
atg ggc gcc cct gcc tgc gcc ctc gcg ctc tgc gtg gcc gtg gcc atc 48
Met Gly Ala Pro Ala Cys Ala Leu Ala Leu Cys Val Ala Val Ala Ile
1 5 10 15
gtg gcc ggc gcc tcc tcg gag tcc ttg ggg acg gag cag cgc gtc gtg 96
Val Ala Gly Ala Ser Ser Glu Ser Leu Gly Thr Glu Gln Arg Val Val
20 25 30
ggg cga gcg gca gaa gtc ccg gcc cca gag ccc gcc cag cag gag cag 144
Gly Arg Ala Ala Glu Val Pro Gly Pro Glu Pro Gly Gln Gln Glu Gln
35 40 45
ttg gtc ttc gcc agc ggg gat gct gtg gag ctg agc tgt ccc ccg ccc 192
Leu Val Phe Gly Ser Gly Asp Ala Val Glu Leu Ser Cys Pro Pro Pro
50 55 60
ggg ggt ggt ccc atg ggg ccc act gtc tgg gtc aag gat gcc aca ggg 240
Gly Gly Gly Pro Met Gly Pro Thr Val Trp Val Lys Asp Gly Thr Gly
65 70 75 80
ctg gtg ccc tcg gag cgt gtc ctg gtg ggg ccc cag cgg ctg cag gtg 288
Leu Val Pro Ser Glu Arg Val Leu Val Gly Pro Gln Arg Leu Gln Val
85 90 95
ctg aat gcc tcc cac gag gac tcc ggg gcc tac agc tgc cgg cag cgg 336
Leu Asn Ala Ser His Glu Asp Ser Gly Ala Tyr Ser Cys Arg Gln Arg
100 105 110
ctc acg cag cgc gta ctg tgc cac ttc agt gtg cgg gtg aca gac gct 384
Leu Thr Gln Arg Val Leu Cys His Phe Ser Val Arg Val Thr Asp Ala
115 120 125
cca tcc tcg gga gat gac gaa gac ggg gag gac gag gct gag gac aca 432
Pro Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Gly Glu Asp Glu Ala Glu Asp Thr
130 135 140
ggg gtg gac aca ggg gcc cct tac tgg aca cgg ccc gag cgg atg gac 480
Gly Val Asp Thr Gly Ala Pro Tyr Trp Thr Arg Pro Glu Arg Met Asp
145 150 155 160
aag aag ctg ctg gcc gtg ccg gcc gcc aac acc gtc cgc ttc cgc tgc 528
Lys Lys Leu Leu Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Arg Phe Arg Cys
165 170 175
cca gcc gct gcc aac ccc act ccc tcc atc tcc tgg ctg aag aac gcc 576
Pro Ala Ala Gly Asn Pro Thr Pro Ser Ile Ser Trp Leu Lys Asn Gly
180 185 190
agg gag ttc cgc gcc gag cac cgc att gga gcc atc aag ctg cgg cat 624

ES 2 643 571 T3

Arg	Glu	Phe	Arg	Gly	Glu	His	Arg	Ile	Gly	Gly	Ile	Lys	Leu	Arg	His		
		195					200					205					
cag	cag	tgg	agc	ctg	gtc	atg	gaa	agc	gtg	gtg	ccc	tcg	gac	cgc	ggc		672
Gln	Gln	Trp	Ser	Leu	Val	Met	Glu	Ser	Val	Val	Pro	Ser	Asp	Arg	Gly		
		210				215					220						
aac	tac	acc	tgc	gtc	gtg	gag	aac	aag	ttt	ggc	agc	atc	cgg	cag	acg		720
Asn	Tyr	Thr	Cys	Val	Val	Glu	Asn	Lys	Phe	Gly	Ser	Ile	Arg	Gln	Thr		
225				230						235					240		
tac	acg	ctg	gac	gtg	ctg	gag	cgc	tcc	ccg	cac	cgg	ccc	atc	ctg	cag		768
Tyr	Thr	Leu	Asp	Val	Leu	Glu	Arg	Ser	Pro	His	Arg	Pro	Ile	Leu	Gln		
				245					250						255		
gcg	ggg	ctg	ccg	gcc	aac	cag	acg	gcg	gtg	ctg	ggc	agc	gac	gtg	gag		816
Ala	Gly	Leu	Pro	Ala	Asn	Gln	Thr	Ala	Val	Leu	Gly	Ser	Asp	Val	Glu		
			260					265						270			
ttc	cac	tgc	aag	gtg	tac	agt	gac	gca	cag	ccc	cac	atc	cag	tgg	ctc		864
Phe	His	Cys	Lys	Val	Tyr	Ser	Asp	Ala	Gln	Pro	His	Ile	Gln	Trp	Leu		
		275					280					285					
aag	cac	gtg	gag	gtg	aat	ggc	agc	aag	gtg	ggc	ccg	gac	ggc	aca	ccc		912
Lys	His	Val	Glu	Val	Asn	Gly	Ser	Lys	Val	Gly	Pro	Asp	Gly	Thr	Pro		
		290				295					300						
tac	gtt	acc	gtg	ctc	aag	acg	gcg	ggc	gct	aac	acc	acc	gac	aag	gag		960
Tyr	Val	Thr	Val	Leu	Lys	Thr	Ala	Gly	Ala	Asn	Thr	Thr	Asp	Lys	Glu		
305					310					315					320		
cta	gag	gtt	ctc	tcc	ttg	cac	aac	gtc	acc	ttt	gag	gac	gcc	ggg	gag		1008
Leu	Glu	Val	Leu	Ser	Leu	His	Asn	Val	Thr	Phe	Glu	Asp	Ala	Gly	Glu		
				325					330						335		
tac	acc	tgc	ctg	gcg	ggc	aat	tct	att	ggg	ttt	tct	cat	cac	tct	gcg		1056
Tyr	Thr	Cys	Leu	Ala	Gly	Asn	Ser	Ile	Gly	Phe	Ser	His	His	Ser	Ala		
			340					345						350			
tgg	ctg	gtg	gtg	ctg	cca	gcc	gag	gag	gag	ctg	gtg	gag	gct	gac	gag		1104
Trp	Leu	Val	Val	Leu	Pro	Ala	Glu	Glu	Glu	Leu	Val	Glu	Ala	Asp	Glu		
			355				360							365			
gcg	ggc	agt	gtg	tat	gca	ggc	atc	ctc	agc	tac	ggg	gtg	ggc	ttc	ttc		1152
Ala	Gly	Ser	Val	Tyr	Ala	Gly	Ile	Leu	Ser	Tyr	Gly	Val	Gly	Phe	Phe		
		370				375					380						
ctg	ttc	atc	ctg	gtg	gtg	gcg	gct	gtg	acg	ctc	tgc	cgc	ctg	cgc	agc		1200
Leu	Phe	Ile	Leu	Val	Val	Ala	Ala	Val	Thr	Leu	Cys	Arg	Leu	Arg	Ser		
385					390					395					400		
ccc	ccc	aag	aaa	ggc	ctg	ggc	tcc	ccc	acc	gtg	cac	aag	atc	tcc	cgc		1248
Pro	Pro	Lys	Lys	Gly	Leu	Gly	Ser	Pro	Thr	Val	His	Lys	Ile	Ser	Arg		
				405					410					415			
ttc	ccg	ctc	aag	cga	cag	gtg	tcc	ctg	gag	tcc	aac	gcg	tcc	atg	agc		1296
Phe	Pro	Leu	Lys	Arg	Gln	Val	Ser	Leu	Glu	Ser	Asn	Ala	Ser	Met	Ser		
			420					425						430			
tcc	aac	aca	cca	ctg	gtg	cgc	atc	gca	agg	ctg	tcc	tca	ggg	gag	ggc		1344
Ser	Asn	Thr	Pro	Leu	Val	Arg	Ile	Ala	Arg	Leu	Ser	Ser	Gly	Glu	Gly		
		435					440							445			

ES 2 643 571 T3

ccc acg ctg gcc aat gtc tcc gag ctc gag ctg cct gcc gac ccc aaa Pro Thr Leu Ala Asn Val Ser Glu Leu Glu Leu Pro Ala Asp Pro Lys 450 455 460	1392
tgg gag ctg tct cgg gcc cgg ctg acc ctg ggc aag ccc ctt ggg gag Trp Glu Leu Ser Arg Ala Arg Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu Gly Glu 465 470 475 480	1440
ggc tgc ttc ggc cag gtg gtc atg gcg gag gcc atc ggc att gac aag Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Met Ala Glu Ala Ile Gly Ile Asp Lys 485 490 495	1488
gac cgg gcc gcc aag cct gtc acc gta gcc gtg aag atg ctg aaa gac Asp Arg Ala Ala Lys Pro Val Thr Val Ala Val Lys Met Leu Lys Asp 500 505 510	1536
gat gcc act gac aag gac ctg tgc gac ctg gtg tct gag atg gag atg Asp Ala Thr Asp Lys Asp Leu Ser Asp Leu Val Ser Glu Met Glu Met 515 520 525	1584
atg aag atg atc ggg aaa cac aaa aac atc atc aac ctg ctg ggc gcc Met Lys Met Ile Gly Lys His Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu Gly Ala 530 535 540	1632
tgc acg cag ggc ggg ccc ctg tac gtg ctg gtg gag tac gcg gcc aag Cys Thr Gln Gly Gly Pro Leu Tyr Val Leu Val Glu Tyr Ala Ala Lys 545 550 555 560	1680
ggc aac ctg cgg gag ttt ctg cgg gcg cgg cgg ccc ccg ggc ctg gac Gly Asn Leu Arg Glu Phe Leu Arg Ala Arg Arg Pro Pro Gly Leu Asp 565 570 575	1728
tac tcc ttc gac acc tgc aag ccg ccc gag gag cag ctc acc ttc aag Tyr Ser Phe Asp Thr Cys Lys Pro Pro Glu Glu Gln Leu Thr Phe Lys 580 585 590	1776
gac ctg gtg tcc tgt gcc tac cag gtg gcc cgg ggc atg gag tac ttg Asp Leu Val Ser Cys Ala Tyr Gln Val Ala Arg Gly Met Glu Tyr Leu 595 600 605	1824
gcc tcc cag aag tgc atc cac agg gac ctg gct gcc cgc aat gtg ctg Ala Ser Gln Lys Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu 610 615 620	1872
gtg acc gag gac aac gtg atg aag atc gca gac ttc ggg ctg gcc cgg Val Thr Glu Asp Asn Val Met Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg 625 630 635 640	1920
gac gtg cac aac ctc gac tac tac aag aag aca acc aac ggc cgg ctg Asp Val His Asn Leu Asp Tyr Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly Arg Leu 645 650 655	1968
ccc gtg aag tgg atg gcg cct gag gcc ttg ttt gac cga gtc tac act Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val Tyr Thr 660 665 670	2016
cac cag agt gac gtc tgg tcc ttt ggg gtc ctg ctc tgg gag atc ttc His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe 675 680 685	2064
acg ctg ggg gcc tcc ccg tac ccc gcc atc cct gtg gag gag ctc ttc Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu Leu Phe 690 695 700	2112

ES 2 643 571 T3

aag ctg ctg aag gag ggc cac cgc atg gac aag ccc gcc aac tgc aca Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn Cys Thr 705 710 715 720	2160
cac gac ctg tac atg atc atg cgg gag tgc tgg cat gcc gcg ccc tcc His Asp Leu Tyr Met Ile Met Arg Glu Cys Trp His Ala Ala Pro Ser 725 730 735	2208
cag agg ccc acc ttc aag cag ctg gtg gag gac ctg gac cgt gtc ctt Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg Val Leu 740 745 750	2256
acc gtg acg tcc acc gac aat gtt atg gaa cag ttc aat cct ggg ctg Thr Val Thr Ser Thr Asp Asn Val Met Glu Gln Phe Asn Pro Gly Leu 755 760 765	2304
cga aat tta ata aac ctg ggg aaa aat tat gag aaa gct gta aac gct Arg Asn Leu Ile Asn Leu Gly Lys Asn Tyr Glu Lys Ala Val Asn Ala 770 775 780	2352
atg atc ctg gca gga aaa gcc tac tac gat gga gtg gcc aag atc ggt Met Ile Leu Ala Gly Lys Ala Tyr Tyr Asp Gly Val Ala Lys Ile Gly 785 790 795 800	2400
gag att gcc act ggg tcc ccc gtg tca act gaa ctg gga cat gtc ctc Glu Ile Ala Thr Gly Ser Pro Val Ser Thr Glu Leu Gly His Val Leu 805 810 815	2448
ata gag att tca agt acc cac aag aaa ctc aac gag agt ctt gat gaa Ile Glu Ile Ser Ser Thr His Lys Lys Leu Asn Glu Ser Leu Asp Glu 820 825 830	2496
aat ttt aaa aaa ttc cac aaa gag att atc cat gag ctg gag aag aag Asn Phe Lys Lys Phe His Lys Glu Ile Ile His Glu Leu Glu Lys Lys 835 840 845	2544
ata gaa ctt gac gtg aaa tat atg aac gca act cta aaa aga tac caa Ile Glu Leu Asp Val Lys Tyr Met Asn Ala Thr Leu Lys Arg Tyr Gln 850 855 860	2592
aca gaa cac aag aat aaa tta gag tct ttg gag aaa tcc caa gct gag Thr Glu His Lys Asn Lys Leu Glu Ser Leu Glu Lys Ser Gln Ala Glu 865 870 875 880	2640
ttg aag aag atc aga agg aaa agc caa gga agc cga aac gca ctc aaa Leu Lys Lys Ile Arg Arg Lys Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ala Leu Lys 885 890 895	2688
tat gaa cac aaa gaa att gag tat gtg gag acc gtt act tct cgt cag Tyr Glu His Lys Glu Ile Glu Tyr Val Glu Thr Val Thr Ser Arg Gln 900 905 910	2736
agt gaa atc cag aaa ttc att gca gat ggt tgc aaa gag gct ctg ctt Ser Glu Ile Gln Lys Phe Ile Ala Asp Gly Cys Lys Glu Ala Leu Leu 915 920 925	2784
gaa gag aag agg cgc ttc tgc ttt ctg gtt gat aag cac tgt ggc ttt Glu Glu Lys Arg Arg Phe Cys Phe Leu Val Asp Lys His Cys Gly Phe 930 935 940	2832
gca aac cac ata cat tat tat cac tta cag tct gca gaa cta ctg aat Ala Asn His Ile His Tyr Tyr His Leu Gln Ser Ala Glu Leu Leu Asn	2880

ES 2 643 571 T3

945	950	955	960	
tcc aag ctg cct cgg tgg cag gag acc tgt gtt gat gcc atc aaa gtg				2928
Ser Lys Leu Pro Arg Trp Gln Glu Thr Cys Val Asp Ala Ile Lys Val	965	970	975	
cca gag aaa atc atg aat atg atc gaa gaa ata aag acc cca gcc tct				2976
Pro Glu Lys Ile Met Asn Met Ile Glu Glu Ile Lys Thr Pro Ala Ser	980	985	990	
acc ccc gtg tct gga act cct cag gct tca ccc atg atc gag aga agc				3024
Thr Pro Val Ser Gly Thr Pro Gln Ala Ser Pro Met Ile Glu Arg Ser	995	1000	1005	
aat gtg gtt agg aaa gat tac gac acc ctt tct aaa tgc tca cca				3069
Asn Val Val Arg Lys Asp Tyr Asp Thr Leu Ser Lys Cys Ser Pro	1010	1015	1020	
aag atg ccc ccc gct cct tca ggc aga gca tat acc agt ccc ttg				3114
Lys Met Met Pro Pro Ala Pro Ser Gly Arg Ala Tyr Thr Ser Pro Leu	1025	1030	1035	
atc gat atg ttt aat aac cca gcc acg gct gcc ccg aat tca caa				3159
Ile Asp Met Phe Asn Asn Pro Ala Thr Ala Ala Pro Asn Ser Gln	1040	1045	1050	
agg gta aat aat tca aca ggt act tcc gaa gat ccc agt tta cag				3204
Arg Val Asn Asn Ser Thr Gly Thr Ser Glu Asp Pro Ser Leu Gln	1055	1060	1065	
cga tca gtt tcg gtt gca acg gga ctg aac atg atg aag aag cag				3249
Arg Ser Val Ser Val Ala Thr Gly Leu Asn Met Met Lys Lys Gln	1070	1075	1080	
aaa gtg aag acc atc ttc ccg cac act gcg ggc tcc aac aag acc				3294
Lys Val Lys Thr Ile Phe Pro His Thr Ala Gly Ser Asn Lys Thr	1085	1090	1095	
tta ctc agc ttt gca cag gga gat gtc atc acg ctg etc atc ccc				3339
Leu Leu Ser Phe Ala Gln Gly Asp Val Ile Thr Leu Leu Ile Pro	1100	1105	1110	
gag gag aag gat ggc tgg ctc tat gga gaa cac gac gtg tcc aag				3384
Glu Glu Lys Asp Gly Trp Leu Tyr Gly Glu His Asp Val Ser Lys	1115	1120	1125	
gcg agg ggt tgg ttc ccg tcg tcg tac acg aag ttg ctg gaa gaa				3429
Ala Arg Gly Trp Phe Pro Ser Ser Tyr Thr Lys Leu Leu Glu Glu	1130	1135	1140	
aat gag aca gaa gca gtg acc gtg ccc acg cca agc ccc aca cca				3474
Asn Glu Thr Glu Ala Val Thr Val Pro Thr Pro Ser Pro Thr Pro	1145	1150	1155	
gtg aga agc atc agc acc gtg aac ttg tct gag aat agc agt gtt				3519
Val Arg Ser Ile Ser Thr Val Asn Leu Ser Glu Asn Ser Ser Val	1160	1165	1170	
gtc atc ccc cca ccc gac tac ttg gaa tgc ttg tcc atg ggg gca				3564
Val Ile Pro Pro Pro Asp Tyr Leu Glu Cys Leu Ser Met Gly Ala	1175	1180	1185	
gct gcc gac agg aga gca gat tcg gcc agg acg aca tcc acc ttt				3609

ES 2 643 571 T3

Ala Ala Asp Arg Arg Ala Asp Ser Ala Arg Thr Thr Ser Thr Phe
 1190 1195 1200

aag gcc cca gcg tcc aag ccc gag acc gcg gct cct aac gat gcc 3654
 Lys Ala Pro Ala Ser Lys Pro Glu Thr Ala Ala Pro Asn Asp Ala
 1205 1210 1215

aac ggg act gca aag ccg cct ttt ctc agc gga gaa aac ccc ttt 3699
 Asn Gly Thr Ala Lys Pro Pro Phe Leu Ser Gly Glu Asn Pro Phe
 1220 1225 1230

gcc act gtg aaa ctc cgc ccg act gtg acg aat gat cgc tcg gca 3744
 Ala Thr Val Lys Leu Arg Pro Thr Val Thr Asn Asp Arg Ser Ala
 1235 1240 1245

ccc atc att cga tga 3759
 Pro Ile Ile Arg
 1250

<210> 38
 <211> 1252
 5 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 38
 Met Gly Ala Pro Ala Cys Ala Leu Ala Leu Cys Val Ala Val Ala Ile
 1 5 10 15

Val Ala Gly Ala Ser Ser Glu Ser Leu Gly Thr Glu Gln Arg Val Val
 20 25 30

Gly Arg Ala Ala Glu Val Pro Gly Pro Glu Pro Gly Gln Gln Glu Gln
 35 40 45

Leu Val Phe Gly Ser Gly Asp Ala Val Glu Leu Ser Cys Pro Pro Pro
 50 55 60

Gly Gly Gly Pro Met Gly Pro Thr Val Trp Val Lys Asp Gly Thr Gly
 65 70 75 80

Leu Val Pro Ser Glu Arg Val Leu Val Gly Pro Gln Arg Leu Gln Val
 85 90 95

Leu Asn Ala Ser His Glu Asp Ser Gly Ala Tyr Ser Cys Arg Gln Arg
 100 105 110

Leu Thr Gln Arg Val Leu Cys His Phe Ser Val Arg Val Thr Asp Ala
 115 120 125

Pro Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Gly Glu Asp Glu Ala Glu Asp Thr
 130 135 140

10

ES 2 643 571 T3

Gly Val Asp Thr Gly Ala Pro Tyr Trp Thr Arg Pro Glu Arg Met Asp
 145 150 155 160

Lys Lys Leu Leu Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Arg Phe Arg Cys
 165 170 175

Pro Ala Ala Gly Asn Pro Thr Pro Ser Ile Ser Trp Leu Lys Asn Gly
 180 185 190

Arg Glu Phe Arg Gly Glu His Arg Ile Gly Gly Ile Lys Leu Arg His
 195 200 205

Gln Gln Trp Ser Leu Val Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Arg Gly
 210 215 220

Asn Tyr Thr Cys Val Val Glu Asn Lys Phe Gly Ser Ile Arg Gln Thr
 225 230 235 240

Tyr Thr Leu Asp Val Leu Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln
 245 250 255

Ala Gly Leu Pro Ala Asn Gln Thr Ala Val Leu Gly Ser Asp Val Glu
 260 265 270

Phe His Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Leu
 275 280 285

Lys His Val Glu Val Asn Gly Ser Lys Val Gly Pro Asp Gly Thr Pro
 290 295 300

Tyr Val Thr Val Leu Lys Thr Ala Gly Ala Asn Thr Thr Asp Lys Glu
 305 310 315 320

Leu Glu Val Leu Ser Leu His Asn Val Thr Phe Glu Asp Ala Gly Glu
 325 330 335

Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Phe Ser His His Ser Ala
 340 345 350

Trp Leu Val Val Leu Pro Ala Glu Glu Glu Leu Val Glu Ala Asp Glu
 355 360 365

Ala Gly Ser Val Tyr Ala Gly Ile Leu Ser Tyr Gly Val Gly Phe Phe
 370 375 380

Leu Phe Ile Leu Val Val Ala Ala Val Thr Leu Cys Arg Leu Arg Ser
 385 390 395 400

ES 2 643 571 T3

Pro Pro Lys Lys Gly Leu Gly Ser Pro Thr Val His Lys Ile Ser Arg
 405 410 415

Phe Pro Leu Lys Arg Gln Val Ser Leu Glu Ser Asn Ala Ser Met Ser
 420 425 430

Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile Ala Arg Leu Ser Ser Gly Glu Gly
 435 440 445

Pro Thr Leu Ala Asn Val Ser Glu Leu Glu Leu Pro Ala Asp Pro Lys
 450 455 460

Trp Glu Leu Ser Arg Ala Arg Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu Gly Glu
 465 470 475 480

Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Met Ala Glu Ala Ile Gly Ile Asp Lys
 485 490 495

Asp Arg Ala Ala Lys Pro Val Thr Val Ala Val Lys Met Leu Lys Asp
 500 505 510

Asp Ala Thr Asp Lys Asp Leu Ser Asp Leu Val Ser Glu Met Glu Met
 515 520 525

Met Lys Met Ile Gly Lys His Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu Gly Ala
 530 535 540

Cys Thr Gln Gly Gly Pro Leu Tyr Val Leu Val Glu Tyr Ala Ala Lys
 545 550 555 560

Gly Asn Leu Arg Glu Phe Leu Arg Ala Arg Arg Pro Pro Gly Leu Asp
 565 570 575

Tyr Ser Phe Asp Thr Cys Lys Pro Pro Glu Glu Gln Leu Thr Phe Lys
 580 585 590

Asp Leu Val Ser Cys Ala Tyr Gln Val Ala Arg Gly Met Glu Tyr Leu
 595 600 605

Ala Ser Gln Lys Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu
 610 615 620

Val Thr Glu Asp Asn Val Met Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg
 625 630 635 640

Asp Val His Asn Leu Asp Tyr Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly Arg Leu
 645 650 655

ES 2 643 571 T3

Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val Tyr Thr
660 665 670

His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe
675 680 685

Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu Leu Phe
690 695 700

Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn Cys Thr
705 710 715 720

His Asp Leu Tyr Met Ile Met Arg Glu Cys Trp His Ala Ala Pro Ser
725 730 735

Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg Val Leu
740 745 750

Thr Val Thr Ser Thr Asp Asn Val Met Glu Gln Phe Asn Pro Gly Leu
755 760 765

Arg Asn Leu Ile Asn Leu Gly Lys Asn Tyr Glu Lys Ala Val Asn Ala
770 775 780

Met Ile Leu Ala Gly Lys Ala Tyr Tyr Asp Gly Val Ala Lys Ile Gly
785 790 795 800

Glu Ile Ala Thr Gly Ser Pro Val Ser Thr Glu Leu Gly His Val Leu
805 810 815

Ile Glu Ile Ser Ser Thr His Lys Lys Leu Asn Glu Ser Leu Asp Glu
820 825 830

Asn Phe Lys Lys Phe His Lys Glu Ile Ile His Glu Leu Glu Lys Lys
835 840 845

Ile Glu Leu Asp Val Lys Tyr Met Asn Ala Thr Leu Lys Arg Tyr Gln
850 855 860

Thr Glu His Lys Asn Lys Leu Glu Ser Leu Glu Lys Ser Gln Ala Glu
865 870 875 880

Leu Lys Lys Ile Arg Arg Lys Ser Gln Gly Ser Arg Asn Ala Leu Lys
885 890 895

Tyr Glu His Lys Glu Ile Glu Tyr Val Glu Thr Val Thr Ser Arg Gln

ES 2 643 571 T3

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

ES 2 643 571 T3

Asn Glu Thr Glu Ala Val Thr Val Pro Thr Pro Ser Pro Thr Pro
 1145 1150 1155

Val Arg Ser Ile Ser Thr Val Asn Leu Ser Glu Asn Ser Ser Val
 1160 1165 1170

Val Ile Pro Pro Pro Asp Tyr Leu Glu Cys Leu Ser Met Gly Ala
 1175 1180 1185

Ala Ala Asp Arg Arg Ala Asp Ser Ala Arg Thr Thr Ser Thr Phe
 1190 1195 1200

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

Asn Gly Thr Ala Lys Pro Pro Phe Leu Ser Gly Glu Asn Pro Phe
 1220 1225 1230

Ala Thr Val Lys Leu Arg Pro Thr Val Thr Asn Asp Arg Ser Ala
 1235 1240 1245

Pro Ile Ile Arg
 1250

<210> 39

<211> 17

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> Secuencia peptídica biotilada

<400> 39

Glu Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly Trp Met Asp
 1 5 10 15

Phe

15

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene una actividad inhibitoria de FGFR o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para utilizar en un método para tratar o prevenir el cáncer en un paciente que se identificó que expresa un polipéptido de fusión que comprende un polipéptido FGFR3 y un polipéptido BAIAP2L1 o para transportar un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión,

en donde el polipéptido FGFR3 es la totalidad o una parte de un polipéptido de tipo salvaje que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o 7,

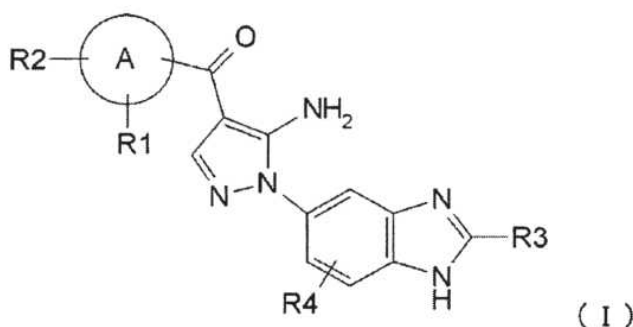
en donde el polipéptido BAIAP2L1 es la totalidad o una parte de un polipéptido de tipo salvaje que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y

en donde el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es capaz de inhibir un crecimiento de un cáncer que expresa el polipéptido de fusión o que tiene un nucleótido que codifica el polipéptido de fusión.

2. El compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso en un método de tratamiento o prevención del cáncer en un paciente de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el cáncer es cáncer de vejiga, tumor cerebral, carcinoma de células escamosas de la cabeza y cuello, cáncer de pulmón, adenocarcinoma pulmonar, carcinoma de células escamosas pulmonares, melanoma de la piel, cáncer de esófago, cáncer gástrico o cáncer de hígado, en particular cáncer de vejiga.

3. El compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de este para el uso en un método de tratamiento o prevención del cáncer en un paciente de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde el compuesto que tiene una actividad inhibitoria de FGFR o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es cualquiera de los compuestos o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos representados por:

[Compuesto 1]



en donde R₁, R₂, R₃ y R₄ representan, cada uno, independientemente el grupo enumerado a continuación:

R₁ representa hidrógeno, hidroxilo, halógeno, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, -OR₅, -NR₆R₇, - (CR₈R₉)_nZ₁, -C(O)NR₁₂R₁₃, -SR₁₄, -SOR₁₅, -SO₂R₁₆, -NR₁₇SO₂R₁₈, COOH, arilo C₆₋₁₀ que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra sustituido opcionalmente por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q, -COR₁₉, -COOR₂₀ -OC(O)R₂₁, -NR₂₂C(O)R₂₃, -NR₂₄C(S)R₂₅, -C(S)NR₂₆R₂₇, -SO₂NR₂₈R₂₉, -OSO₂R₃₀, -SO₃R₃₁, o -Si(R₃₂)₃;

R₂ representa hidrógeno, hidroxilo, halógeno, ciano, nitro, haloalquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, -OR₅, -NR₆R₇, - (CR₈R₉)_nZ₁, -C(O)NR₁₂R₁₃, -SR₁₄, -SOR₁₅, -SO₂R₁₆, -NR₁₇SO₂R₁₈. COOH, arilo C₆₋₁₀ que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra sustituido opcionalmente por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q, -COR₁₉, -COOR₂₀ -OC(O)R₂₁, -NR₂₂C(O)R₂₃, -NR₂₄C(S)R₂₅, -C(S)NR₂₆R₂₇, -SO₂NR₂₈R₂₉, -OSO₂R₃₀, -SO₃R₃₁, o -Si(R₃₂)₃; o

R₁ y R₂, junto con un átomo unido a los mismos, forman heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros, donde el heterociclilo o heteroarilo es opcionalmente sustituido por halógeno;

R₃ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₅, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₆ o haloalquilo C₁₋₄;

R₄ representa hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₃, haloalquilo C₁₋₄, hidroxilo, ciano, nitro, alcoxi C₁₋₄, -(CH₂)_nZ₁, -NR₆R₇, -OR₅, -C(O)NR₁₂R₁₃, -SR₁₄, -SOR₁₅, -SO₂R₁₆, NR₁₇SO₂R₁₈, COOH, -COR₁₉, -COOR₂₀, -OC(O)R₂₁, -NR₂₂C(O)R₂₃, -NR₂₄C(S)R₂₅, -C(S)NR₂₆R₂₇, -SO₂NR₂₈R₂₉,

$-\text{OSO}_2\text{R}_{30}$, $-\text{SO}_3\text{R}_{31}$, o $-\text{Si}(\text{R}_{32})_3$;

A representa un anillo heteroarilo de 5 a 10 miembros o un anillo arilo C_{6-10} ;

5 R_5 representa alquilo C_{1-5} , cicloalquilo C_{3-7} , cicloalquilo C_{3-7} alquilo C_{1-3} , alqueno C_{2-6} , alqueno C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-3} alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-3} alcoxi C_{1-4} alquilo C_{1-4} , aminoalquilo C_{1-4} , alquilamino C_{1-4} alquilo C_{1-4} , di(alquil C_{1-4})amino alquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} , arilo C_{6-10} alquilo C_{1-3} o heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C_{1-3} , heterociclilo de 3 a 10 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C_{1-3} , monohidroxi alquilo C_{1-6} , dihidroxi alquilo C_{1-6} o trihidroxi alquilo C_{1-6} que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

10 R_6 y R_7 , que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , alqueno C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-3} alquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} alquilo C_{1-3} , heterociclilo alquilo de 3 a 10 miembros alquilo C_{1-3} , heteroarilo 5 a 10 miembros alquilo C_{1-3} , monohidroxi alquilo C_{1-6} , dihidroxi alquilo C_{1-6} , trihidroxi alquilo C_{1-6} , heterociclilo de 3 a 10 miembros, aminoalquilo C_{1-4} , alquilamino C_{1-4} alquilo C_{1-4} , di(alquilo C_{1-4})amino alquilo C_{1-4} o ciano(alquilo C_{1-3}); o alternativamente R_6 y R_7 , junto con un átomo de nitrógeno unido a este, forman un heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros,

15 n representa 1 a 3;

R_8 y R_9 , que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C_{1-4} o halógeno; o alternativamente R_8 y R_9 , junto con un átomo de carbono unido a este, forman un anillo cicloalifático;

Z_1 representa hidrógeno, $\text{NR}_{10}\text{R}_{11}$, $-\text{OH}$, o heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

20 R_{10} y R_{11} , que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, representa alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , alqueno C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-3} alquilo C_{1-4} , ciano(alquilo C_{1-3}), o alquilsulfonilo C_{1-3} alquilo C_{1-4} ; o R_{10} y R_{11} alternativamente, junto con un átomo de nitrógeno unido a los mismos, forman un heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros;

25 R_{12} y R_{13} , que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , alqueno C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-3} alquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} , heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, arilo C_{6-10} alquilo C_{1-4} , heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C_{1-3} , heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C_{1-3} , ciano(alquilo C_{1-3}), alquilsulfonilo C_{1-3} alquilo C_{1-4} , anillo cicloalifático de 3 a 10 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros; o alternativamente R_{12} y R_{13} , junto con un átomo de nitrógeno unido a los mismos, forman un heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

30 R_{14} representa alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , alqueno C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

35 R_{15} representa alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , alqueno C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

40 R_{16} representa alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , alqueno C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

R_{17} representa hidrógeno o alquilo C_{1-4} ;

45 R_{18} representa alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , alqueno C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

50 R_{19} represente hidrógeno, alquilo C_{1-4} , cicloalquilo C_{3-7} , haloalquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

R_{20} representa alquilo C_{1-4} , cicloalquilo C_{3-7} , haloalquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} , heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

R_{21} representa alquilo C_{1-4} , cicloalquilo C_{3-7} , haloalquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} , heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo

de 3 a 10 miembros;

R₂₂ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o haloalquilo C₁₋₄;

R₂₃ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

5 R₂₄ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o haloalquilo C₁₋₄;

R₂₅ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

10 R₂₆ y R₂₇, que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, ciano(alquilo C₁₋₃), alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, o un anillo cicloalifático de 3 a 10 miembros; o alternativamente R₂₆ y R₂₇, junto con un átomo de nitrógeno unido a los mismos, de heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros.

15 R₂₈ y R₂₉, que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, arilo C₆₋₁₀ alquilo C₁₋₄, heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C₁₋₃, ciano(alquilo C₁₋₃), alquilsulfonilo C₁₋₃ alquilo C₁₋₄, o un anillo cicloalifático de 3 a 10 miembros; o alternativamente R₂₈ y R₂₉, junto con un átomo de nitrógeno unido a los mismos, de heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros;

20 R₃₀ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

R₃₁ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

R₃₂ representa alquilo C₁₋₄ o arilo C₆₋₁₀;

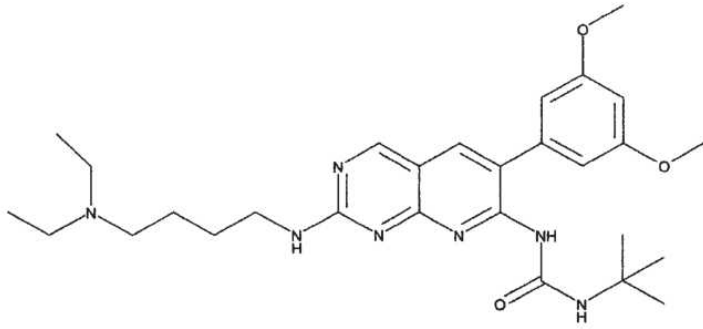
25 <grupo P>

halógeno, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, -OH, alcoxi C₁₋₃, haloalcoxi C₁₋₃, heterocicilamino de 3 a 10 miembros, -SO₂R₁₆, -CN, -NO₂ y heterociclilo de 3 a 10 miembros;

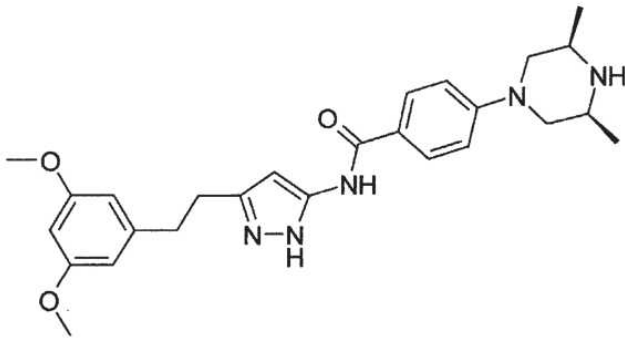
<grupo Q>

30 halógeno, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, -OH, alcoxi C₁₋₃, monohidroxi alquilo C₁₋₆, dihidroxi alquilo C₁₋₆, trihidroxialquilo C₁₋₆, heterocicil amina de 3 a 10 miembros, -SO₂R₁₆, -CN, -NO₂, cicloalquilo C₃₋₇, -COR₁₉ y heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por alquilo C₁₋₄;

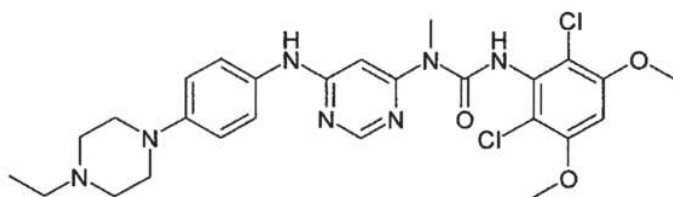
[Compuesto 2]



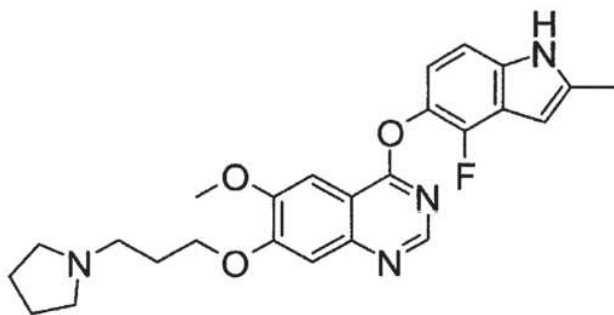
[Compuesto 3]



[Compuesto 4]

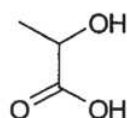
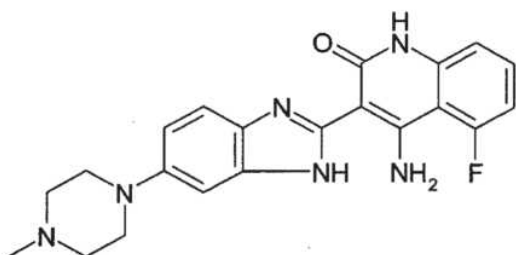


[Compuesto 5]



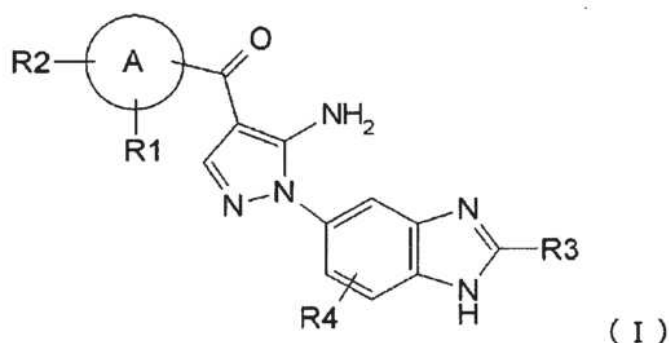
, 0

[Compuesto 6]



4. Un método para seleccionar un paciente, en particular un paciente que tiene cáncer de vejiga, tumor cerebral, carcinoma de células escamosas de cabeza y el cuello, cáncer de pulmón, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de células escamosas de pulmón, melanoma de piel, cáncer de esófago, cáncer gástrico o cáncer de hígado, al que puede aplicársele un agente anticancerígeno que comprende un compuesto que tiene una actividad inhibitoria de FGFR o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende las etapas de:
- 5 (a) determinar la presencia o ausencia de un polipéptido de fusión que comprende un polipéptido FGFR3 y un polipéptido BAIAP2L1 o un polinucleótido que codifica un polipéptido de fusión que comprende un polipéptido FGFR3 y un polipéptido BAIAP2L1 en una muestra aislada de un sujeto;
- 10 en donde el polipéptido FGFR3 es la totalidad o una parte de un polipéptido de tipo salvaje que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o 7, y en donde el polipéptido BAIAP2L1 es la totalidad o una parte de un polipéptido de tipo salvaje que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; y
- (b) seleccionar un paciente que se confirma que tiene el polipéptido de fusión o el polinucleótido como un paciente al que se le puede aplicar el agente anticancerígeno.
- 15 en donde el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de este es capaz de inhibir un crecimiento de un cáncer que expresa el polipéptido de fusión o que tiene un nucleótido que codifica el polipéptido de fusión.
5. El método de la reivindicación 4, en donde el compuesto que tiene una actividad inhibitoria de FGFR o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es cualquiera de los compuestos o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos representados por:

[Compuesto 1]



donde R_1 , R_2 , R_3 y R_4 representan, cada uno, independientemente el grupo enumerado a continuación:

- 5 R_1 representa hidrógeno, hidroxilo, halógeno, ciano, nitro, haloalquilo C_{1-4} , alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} , cicloalquilo C_{3-7} , arilo C_{6-10} alquilo C_{1-4} , $-OR_5$, $-NR_6R_7$, $-(CR_8R_9)_nZ_1$, $-C(O)NR_{12}R_{13}$, $-SR_{14}$, $-SOR_{15}$, $-SO_2R_{16}$, $-NR_{17}SO_2R_{18}$, $COOH$, arilo C_{6-10} que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra sustituido opcionalmente por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q, $-COR_{19}$, $-COOR_{20}$ $-OC(O)R_{21}$, $-NR_{22}C(O)R_{23}$, $-NR_{24}C(S)R_{25}$, $-C(S)NR_{26}R_{27}$, $-SO_2NR_{28}R_{29}$, $-OSO_2R_{30}$, $-SO_3R_{31}$, o $-Si(R_{32})_3$;
- 10 R_2 representa hidrógeno, hidroxilo, halógeno, ciano, nitro, haloalquilo C_{1-4} , alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} , cicloalquilo C_{3-7} , arilo C_{6-10} alquilo C_{1-4} , $-OR_5$, $-NR_6R_7$, $-(CR_8R_9)_nZ_1$, $-C(O)NR_{12}R_{13}$, $-SR_{14}$, $-SOR_{15}$, $-SO_2R_{16}$, $-NR_{17}SO_2R_{18}$, $COOH$, arilo C_{6-10} que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra sustituido opcionalmente por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q, $-COR_{19}$, $-COOR_{20}$ $-OC(O)R_{21}$, $-NR_{22}C(O)R_{23}$, $-NR_{24}C(S)R_{25}$, $-C(S)NR_{26}R_{27}$, $-SO_2NR_{28}R_{29}$, $-OSO_2R_{30}$, $-SO_3R_{31}$, o $-Si(R_{32})_3$; o
- 15 R_1 y R_2 , junto con un átomo unido a los mismos, forman un heteroarilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros, en donde el heterociclilo o heteroarilo es sustituido opcionalmente por halógeno;
- R_3 representa hidrógeno, alquilo C_{1-5} , arilo C_{6-10} alquilo C_{1-6} o haloalquilo C_{1-4} ;
- 20 R_4 representa hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-3} , haloalquilo C_{1-4} , hidroxilo, ciano, nitro, alcoxi C_{1-4} , $-(CH_2)_nZ_1$, $-NR_6R_7$, $-OR_5$, $-C(O)NR_{12}R_{13}$, $-SR_{14}$, $-SOR_{15}$, $-SO_2R_{16}$, $NR_{17}SO_2R_{18}$, $COOH$, $-COR_{19}$, $-COOR_{20}$, $-OC(O)R_{21}$, $-NR_{22}C(O)R_{23}$, $-NR_{24}C(S)R_{25}$, $-C(S)NR_{26}R_{27}$, $-SO_2NR_{28}R_{29}$, $-OSO_2R_{30}$, $-SO_3R_{31}$, o $-Si(R_{32})_3$;
- A representa un anillo heteroarilo de 5 a 10 miembros o un anillo arilo C_{6-10} ;
- 25 R_5 representa alquilo C_{1-5} , cicloalquilo C_{3-7} , cicloalquilo C_{3-7} alquilo C_{1-3} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-3} alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-3} alcoxi C_{1-4} alquilo C_{1-4} , aminoalquilo C_{1-4} , alquilamino C_{1-4} alquilo C_{1-4} , di(alquil C_{1-4})amino alquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} , arilo C_{6-10} alquilo C_{1-3} o heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C_{1-3} , heterociclilo de 3 a 10 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C_{1-3} , monohidroxilo alquilo C_{1-6} , dihidroxilo alquilo C_{1-6} o trihidroxilo alquilo C_{1-6} que es opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;
- 30 R_6 y R_7 , que pueden ser iguales o diferentes, cada uno representa hidrógeno, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-3} alquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} alquilo C_{1-3} , heterociclilo alquilo de 3 a 10 miembros alquilo C_{1-3} , heteroarilo 5 a 10 miembros alquilo C_{1-3} , monohidroxilo alquilo C_{1-6} , dihidroxilo alquilo C_{1-6} , trihidroxilo alquilo C_{1-6} , heterociclilo de 3 a 10- miembros, aminoalquilo C_{1-4} , alquilamino C_{1-4} alquilo C_{1-4} , di(alquilo C_{1-4})amino alquilo C_{1-4} , o ciano(alquilo C_{1-3}); o alternativamente R_6 y R_7 , junto con el átomo de nitrógeno unido a los mismos, forman un heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros;
- 35 n representa 1 a 3;
- R_8 y R_9 , que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C_{1-4} o halógeno; o alternativamente R_8 y R_9 , junto con un átomo de carbono unido a los mismos, forman un anillo cicloalifático;
- 40 Z_1 representa hidrógeno, $NR_{10}R_{11}$, $-OH$, o heterociclilo de 3 a 10 miembros o heteroarilo de 5 a 10 miembros que es

opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;

- 5 R_{10} y R_{11} , que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, representa alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , alquino C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-3} alquilo C_{1-4} , ciano(alquilo C_{1-3}), o alquilsulfonilo C_{1-3} alquilo C_{1-4} ; o R_{10} y R_{11} alternativamente, junto con un átomo de nitrógeno unido a estos, forman un heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros;
- 10 R_{12} y R_{13} , que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , alquino C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-3} alquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} , heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, arilo C_{6-10} alquilo C_{1-4} , heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C_{1-3} , heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C_{1-3} , ciano(alquilo C_{1-3}), alquilsulfonilo C_{1-3} alquilo C_{1-4} , anillo cicloalifático de 3 a 10 miembros, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros; o alternativamente R_{12} y R_{13} , junto con un átomo de nitrógeno unido a estos, forman un heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;
- 15 R_{14} representa alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , alquino C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;
- 20 R_{15} representa alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , alquino C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;
- R_{16} representa alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , alquino C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;
- 25 R_{17} representa hidrógeno o alquilo C_{1-4} ;
- R_{18} representa alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , alquino C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo P, o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o un heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;
- 30 R_{19} represente hidrógeno, alquilo C_{1-4} , cicloalquilo C_{3-7} , haloalquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} o un heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros que se encuentra opcionalmente sustituido por uno o más grupos independientemente seleccionados del grupo Q;
- R_{20} representa alquilo C_{1-4} , cicloalquilo C_{3-7} , haloalquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} , heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;
- 35 R_{21} representa alquilo C_{1-4} , cicloalquilo C_{3-7} , haloalquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} , heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;
- R_{22} representa hidrógeno, alquilo C_{1-4} o haloalquilo C_{1-4} ;
- R_{23} representa hidrógeno, alquilo C_{1-4} , cicloalquilo C_{3-7} , haloalquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;
- 40 R_{24} representa hidrógeno, alquilo C_{1-4} o haloalquilo C_{1-4} ;
- R_{25} representa alquilo C_{1-4} , cicloalquilo C_{3-7} , haloalquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} , heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;
- 45 R_{26} y R_{27} , que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , alquino C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-3} alquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} , heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, arilo C_{6-10} alquilo C_{1-4} , heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C_{1-3} , heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C_{1-3} , ciano(alquilo C_{1-3}), alquilsulfonilo C_{1-3} alquilo C_{1-4} , o un anillo cicloalifático de 3 a 10 miembros; o alternativamente R_{26} y R_{27} , junto con un átomo de nitrógeno unido a estos, de heterociclilo de 3 a 10 miembros o un heteroarilo de 5 a 10 miembros.
- 50 R_{28} y R_{29} , que pueden ser iguales o diferentes, representan, cada uno, hidrógeno, alquilo C_{1-4} , alqueno C_{2-6} , alquino C_{2-6} , haloalquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-3} alquilo C_{1-4} , arilo C_{6-10} , heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 3 a 10 miembros, arilo C_{6-10} alquilo C_{1-4} , heterociclilo de 3 a 10 miembros alquilo C_{1-3} , heteroarilo de 5 a 10 miembros alquilo C_{1-3} , ciano(alquilo C_{1-3}), alquilsulfonilo C_{1-3} alquilo C_{1-4} , o un anillo cicloalifático de 3 a 10 miembros; o alternativamente R_{28} y R_{29} , junto con un átomo de nitrógeno unido a estos, de heterociclilo de 3 a 10 miembros o un

heteroarilo de 5 a 10 miembros;

R₃₀ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

5 R₃₁ representa alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, haloalquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros o heterociclilo de 3 a 10 miembros;

R₃₂ representa alquilo C₁₋₄ o arilo C₆₋₁₀;

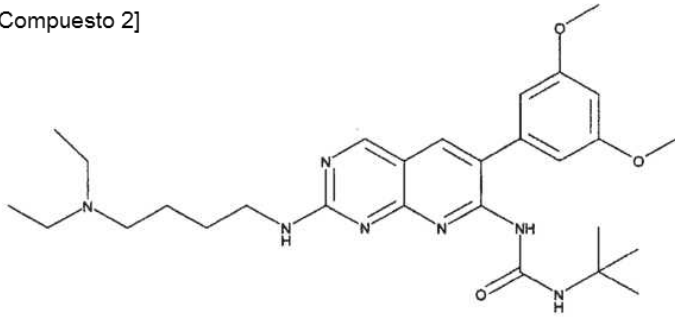
<grupo P>

halógeno, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, -OH, alcoxi C₁₋₃, haloalcoxi C₁₋₃, heterocicilamino de 3 a 10 miembros, -SO₂R₁₆, -CN, -NO₂ y heterociclilo de 3 a 10 miembros;

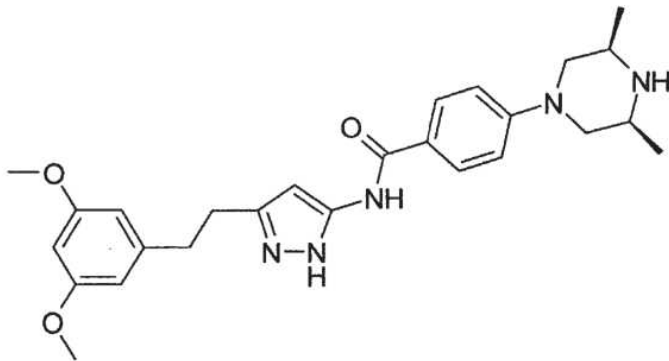
10 <grupo Q>

halógeno, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, -OH, alcoxi C₁₋₃, monohidroxi alquilo C₁₋₆, dihidroxi alquilo C₁₋₆, trihidroxialquilo C₁₋₆, heterocicil amina de 3 a 10 miembros, -SO₂R₁₆, -CN, -NO₂, cicloalquilo C₃₋₇, -COR₁₉ y heterociclilo de 3 a 10 miembros que es opcionalmente sustituido por alquilo C₁₋₄.

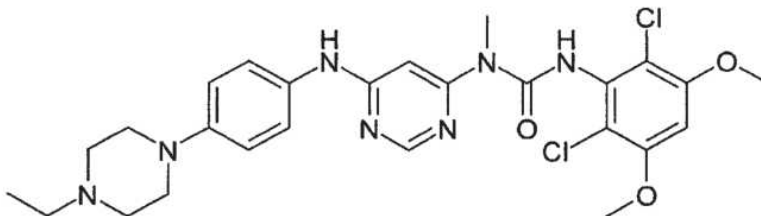
[Compuesto 2]



[Compuesto 3]

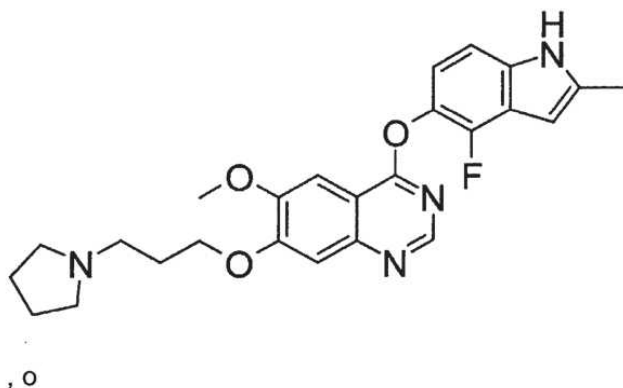


[Compuesto 4]

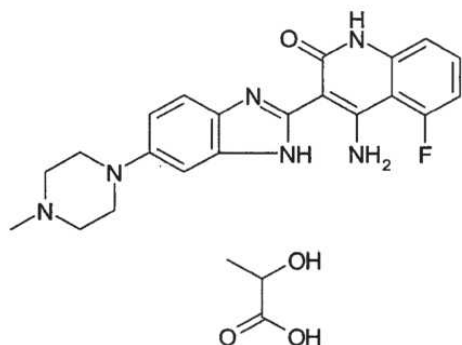


15

[Compuesto 5]



[Compuesto 6]



- 5 6. Un método para evaluar la susceptibilidad al cáncer de un sujeto, si un sujeto se ve afectado con cáncer, o si el cáncer evolucionó en un sujeto, en particular, en donde el cáncer es cáncer de vejiga, tumor cerebral, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de pulmón, adenocarcinoma pulmonar, carcinoma de células escamosas del pulmón, melanoma de piel, cáncer de esófago, cáncer gástrico o cáncer de hígado, mediante la determinación de la presencia o ausencia de un polipéptido de fusión que comprende un polipéptido FGFR3 y un polipéptido BAIAP2L1 o la determinación de la presencia o ausencia de un polinucleótido que codifica un polipéptido de fusión que comprende un polipéptido FGFR3 y un polipéptido BAIAP2L1 en una muestra aislada del sujeto;
- 10 en donde el polipéptido FGFR3 es la totalidad o una parte de un polipéptido de tipo salvaje que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o 7,
- en donde el polipéptido BAIAP2L1 es la totalidad o una parte de un polipéptido de tipo salvaje que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; y
- 15 en donde el método se basa en el criterio de que un sujeto tiene más probabilidades de desarrollar cáncer, se ve afectado o padece de un cáncer evolucionado cuando se detecta el polipéptido o polinucleótido de fusión que codifica el polipéptido de fusión.
7. Un polipéptido de fusión que comprende un polipéptido FGFR3 y un polipéptido BAIAP2L1:
- en donde el polipéptido FGFR3 es la totalidad o una parte de un polipéptido de tipo salvaje que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 o 7; y
- 20 el polipéptido BAIAP2L1 es la totalidad o una parte de un polipéptido de tipo salvaje que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, en particular, en donde el polipéptido de fusión se derive de cáncer de vejiga o cáncer de pulmón, más particularmente, en donde el polipéptido de fusión consiste en la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO: 32 o 38.
- 25 8. Un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión de la reivindicación 7, en particular, en donde el polinucleótido comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 16, más particularmente, en donde el polinucleótido comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 31 o 37, o un vector que comprende dicho polinucleótido.

9. Una célula recombinante que comprende el vector de la reivindicación 8.

10. Un método para la detección de

5 (a) un polipéptido de fusión que comprende un polipéptido FGFR3 y un polipéptido BAIAP2L1, que comprende la etapa de detección del polipéptido de fusión en una muestra aislada de un sujeto mediante el uso de un fragmento de unión al anticuerpo o antígeno del mismo que se une al polipéptido de fusión de la reivindicación 7 o

10 (b) un polinucleótido que codifica un polipéptido de fusión que comprende un polipéptido FGFR3 y un polipéptido BAIAP2L1, que comprende la etapa de detección de un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión en una muestra aislada de un sujeto mediante el uso de un par de cebadores de oligonucleótido que consiste en cebadores sentido y antisentido que se hibridan cada uno en un polinucleótido que codifica el polipéptido de fusión la reivindicación 7 para la detección o amplificación del polinucleótido.

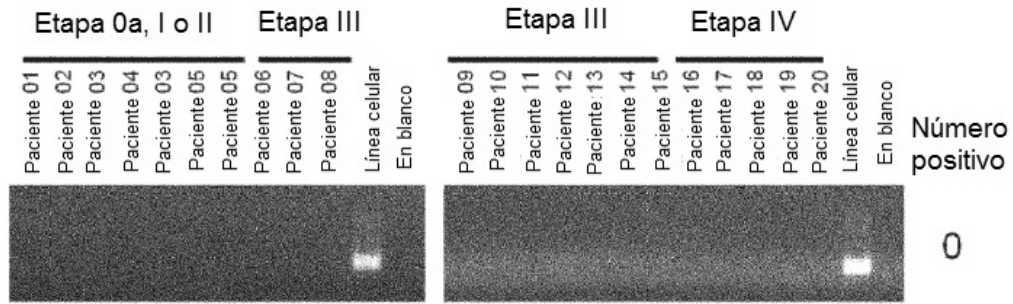


FIG. 1

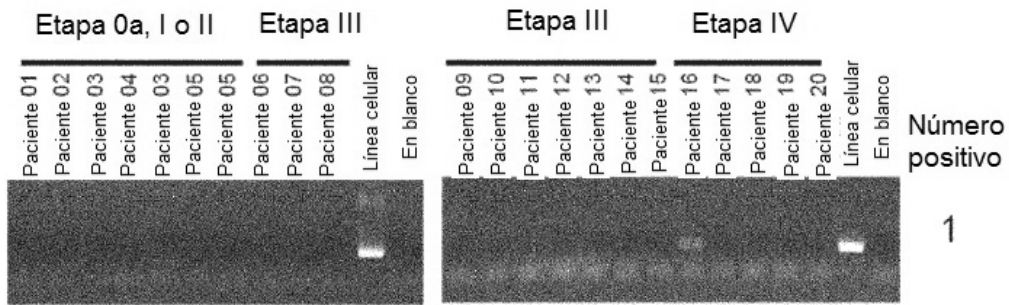


FIG. 2

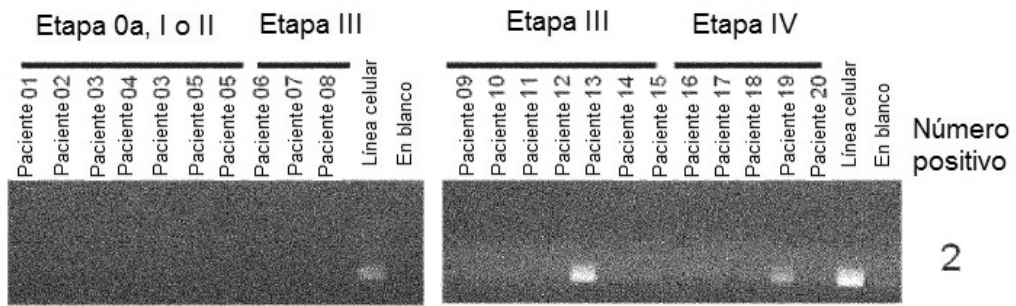
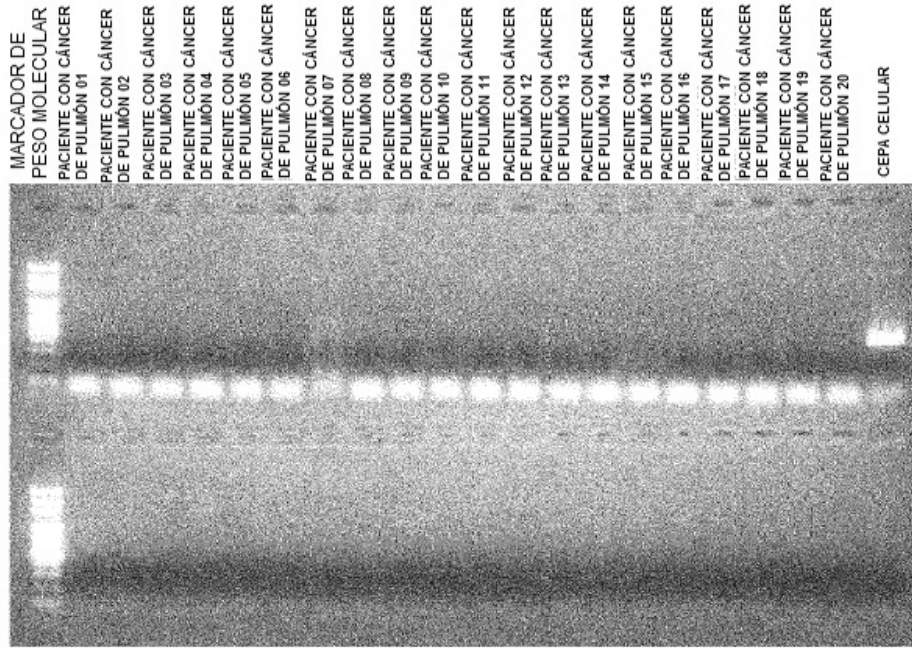


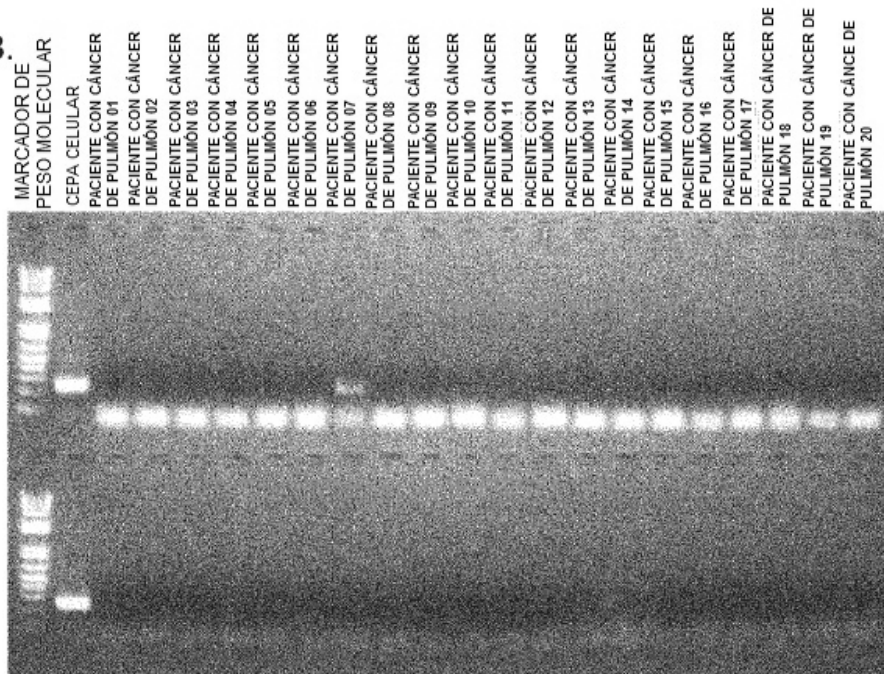
FIG. 3

A.



MARCADOR DE PESO MOLECULAR
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 01
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 02
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 03
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 04
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 05
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 06
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 07
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 08
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 09
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 10
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 11
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 12
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 13
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 14
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 15
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 16
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 17
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 18
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 19
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 20
 EN BLANCO

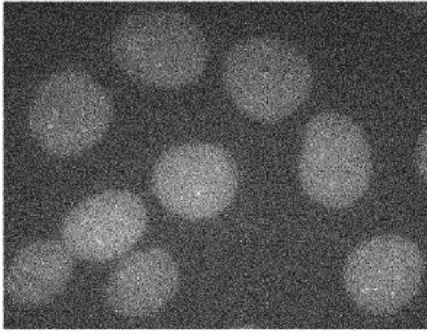
B.



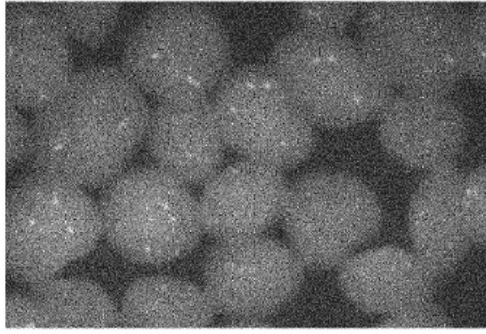
MARCADOR DE PESO MOLECULAR
 CEPA CELULAR
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 01
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 02
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 03
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 04
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 05
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 06
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 07
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 08
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 09
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 10
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 11
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 12
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 13
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 14
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 15
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 16
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 17
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 18
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 19
 PACIENTE CON CÁNCER DE PULMÓN 20

FIG. 4

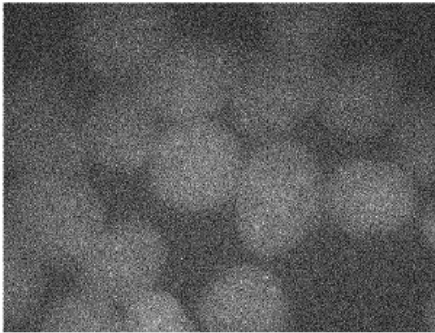
A 1.



A 2.



B 1.



B 2.

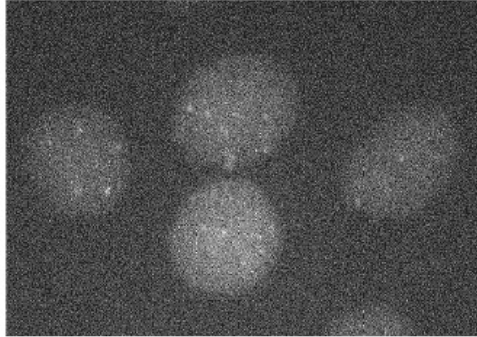


FIG. 5

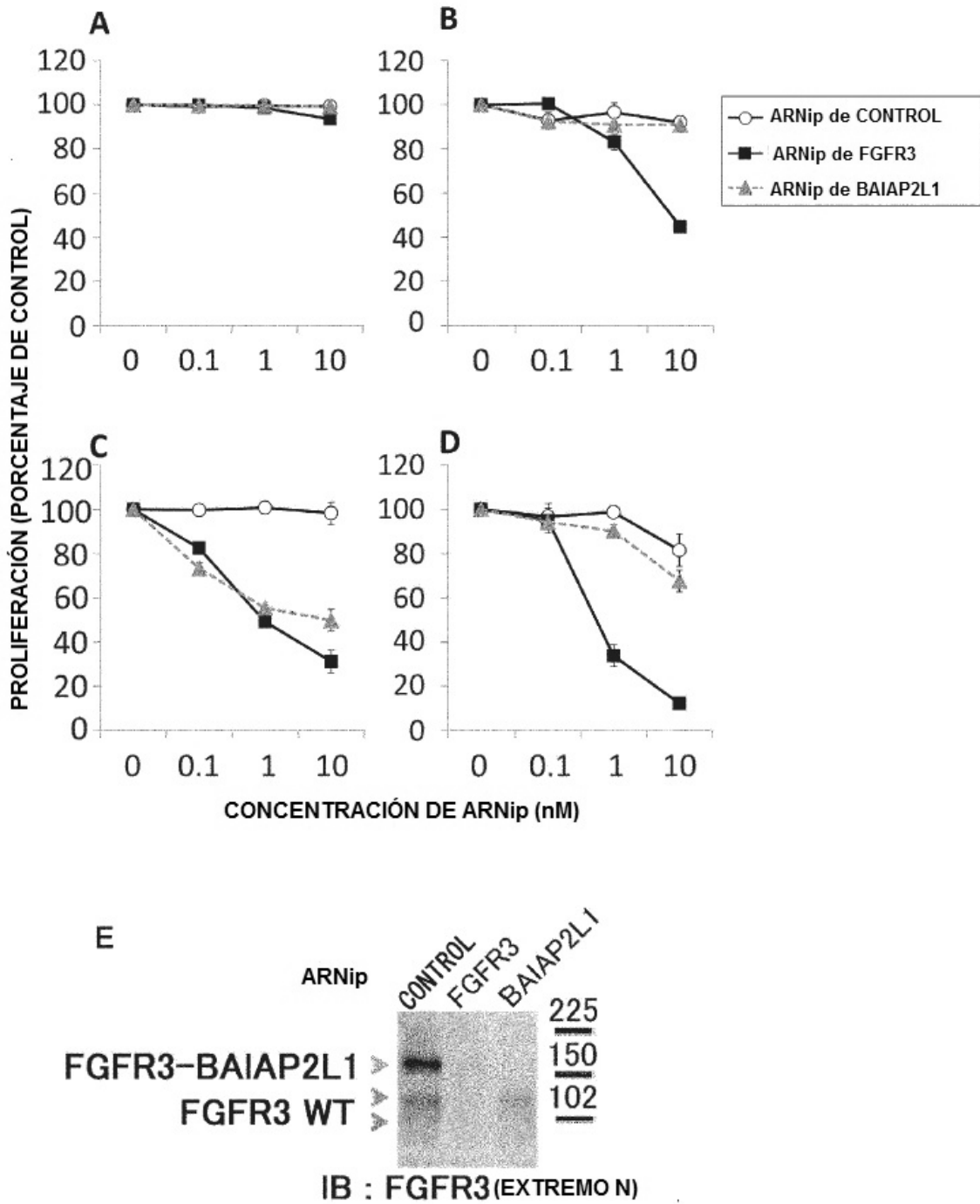


FIG. 6

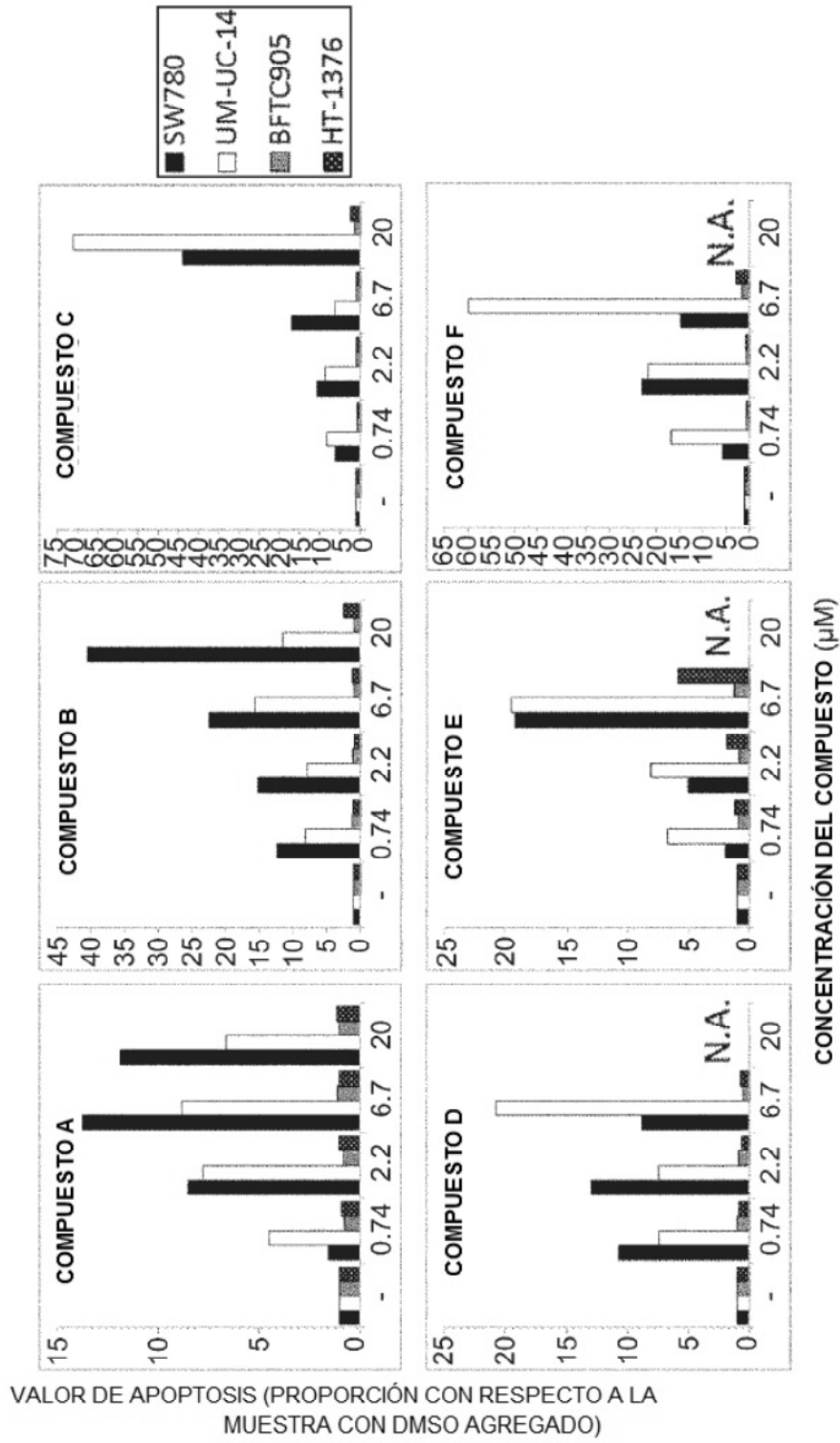
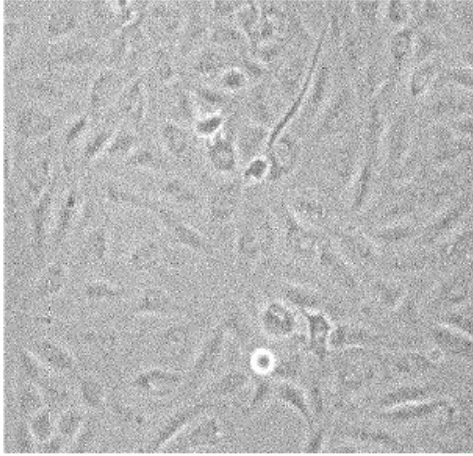


FIG. 7

CULTIVO DE MONOCAPA

FGFR3 DE TIPO SALVAJE



FGFR3-BAIAP2L1

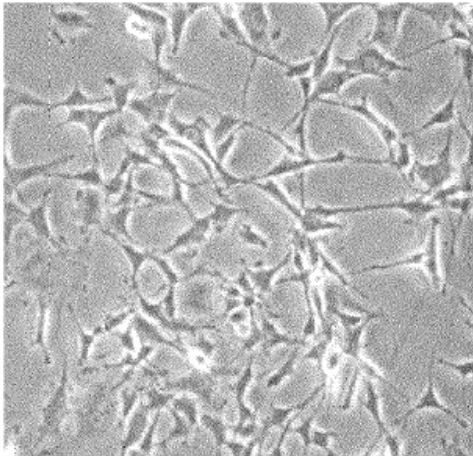


FIG. 8

CULTIVO ESFEROIDE

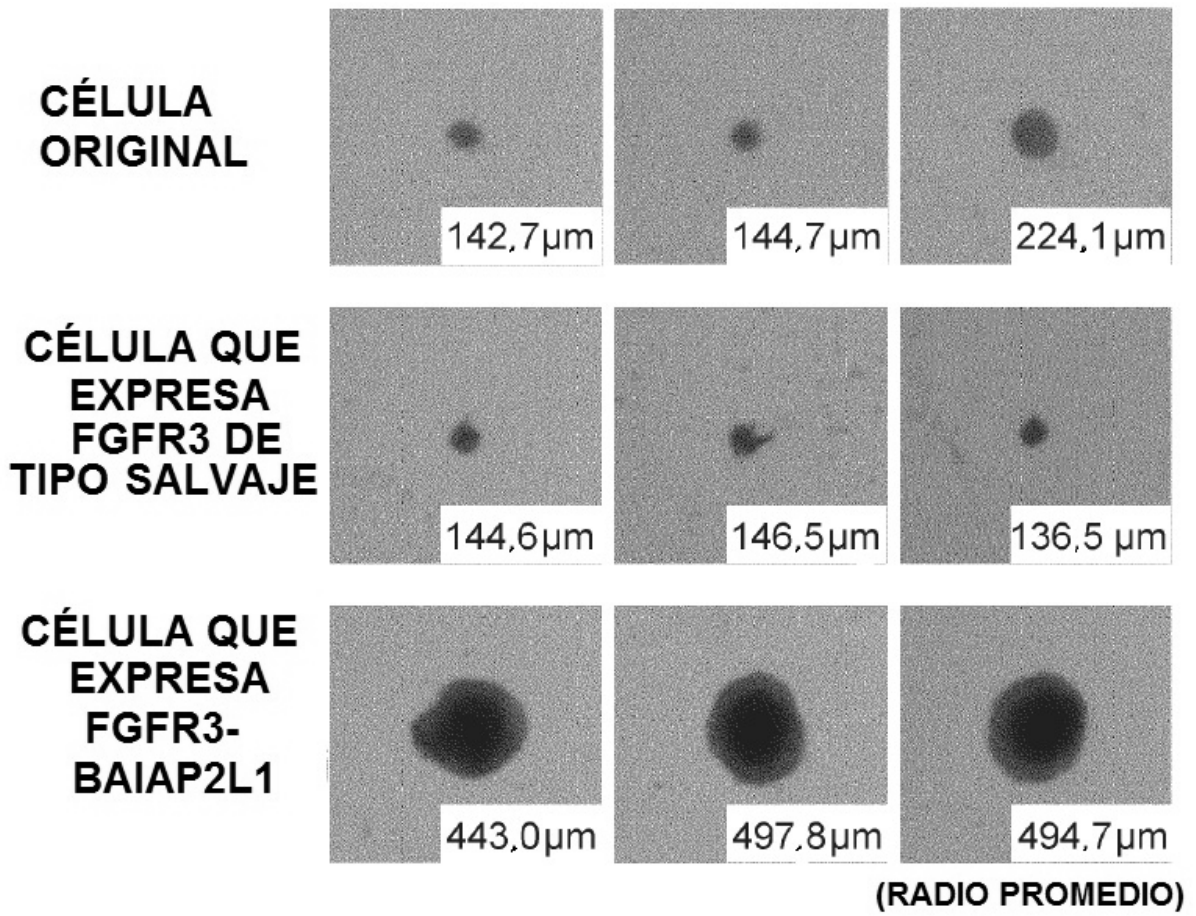


FIG. 9

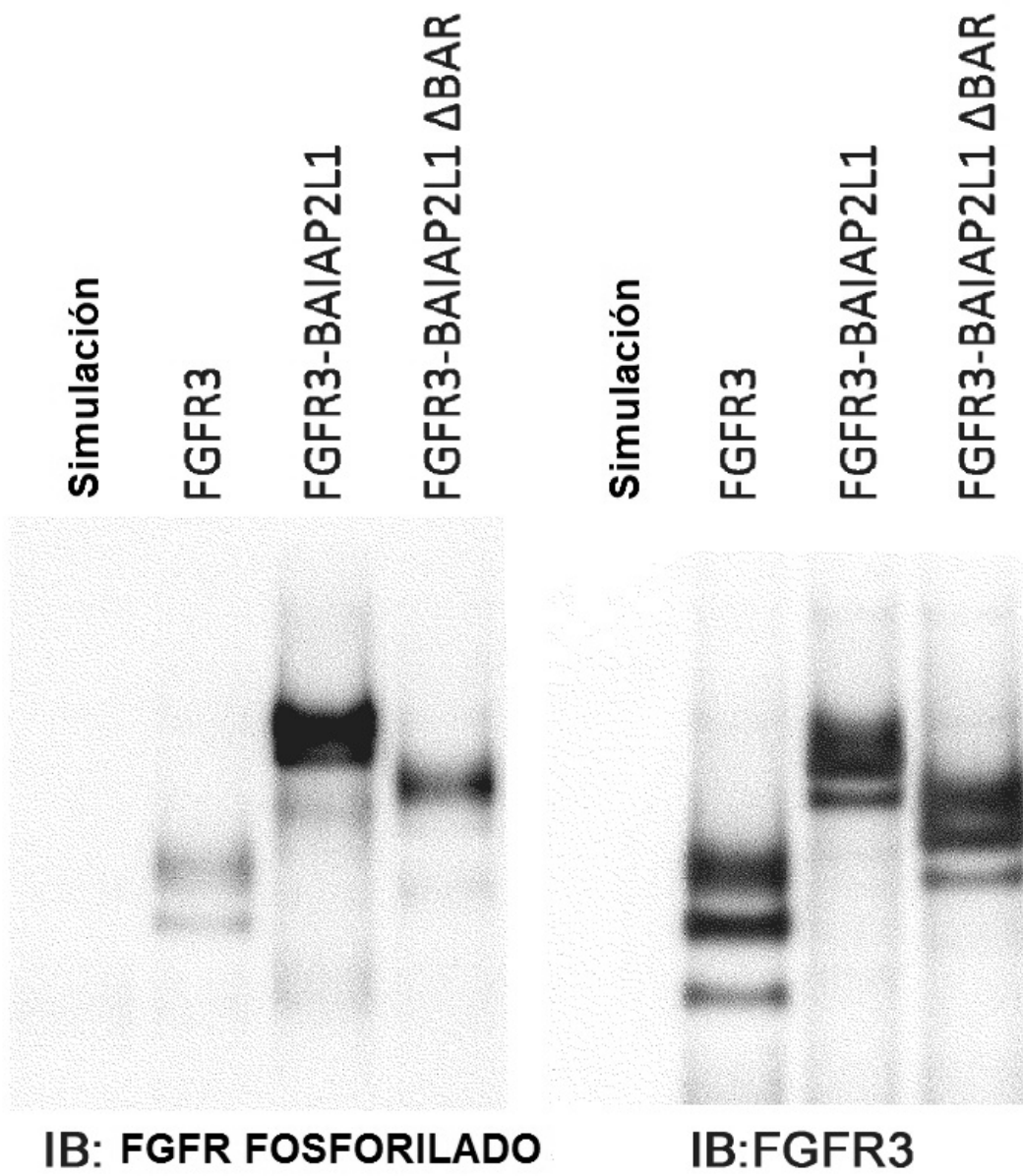


FIG. 10

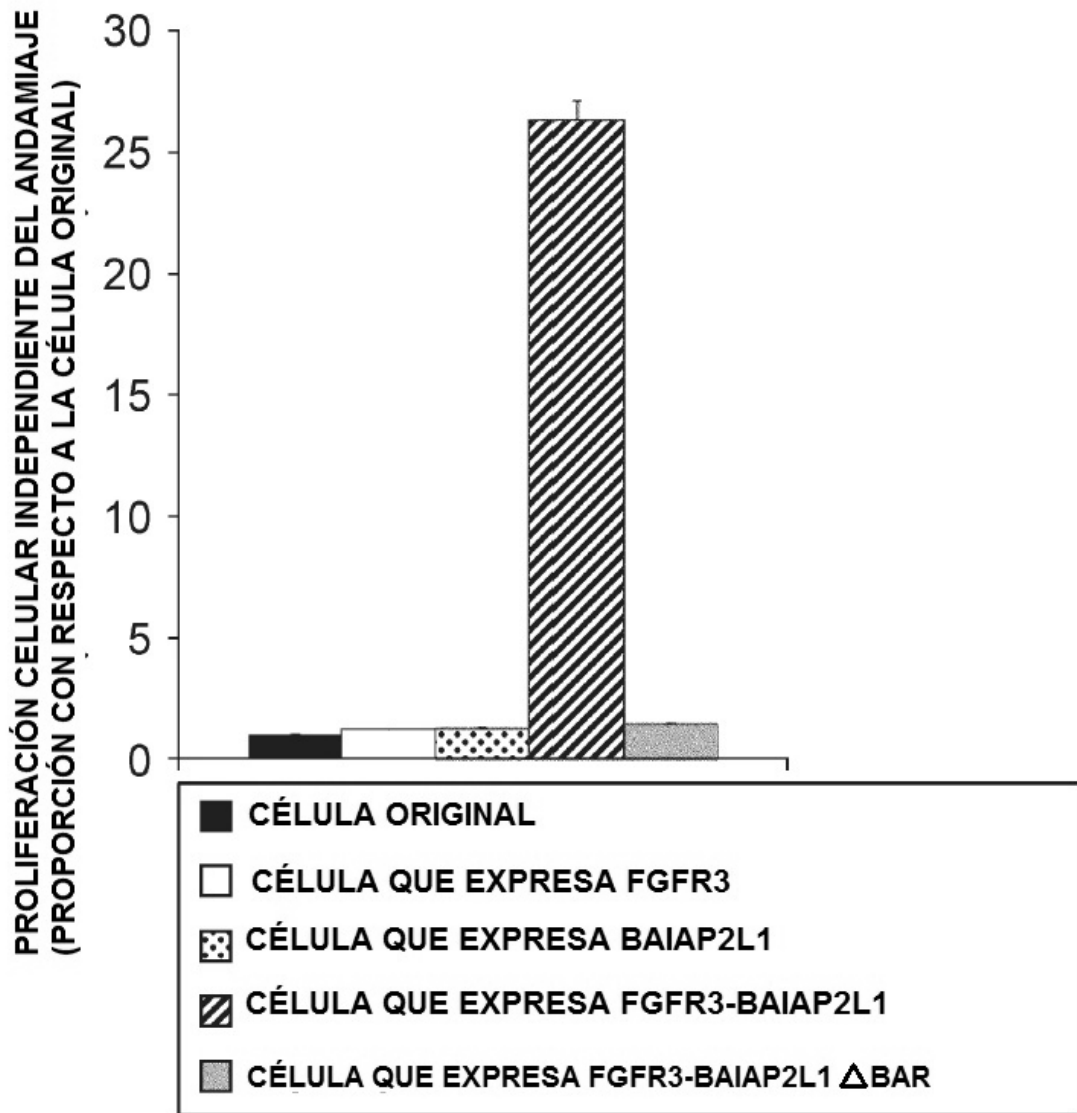


FIG. 11

FGFR3_BAIAP2L1
(FORMA CON ELIMINACIÓN
DEL DOMINIO BAR)



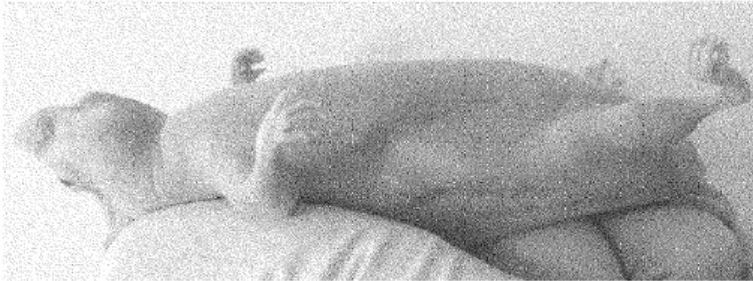
<100 mm³
N=5

FGFR3-BAIAP2L1



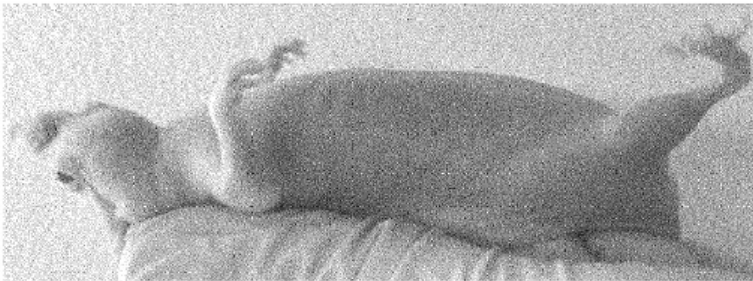
>2000 mm³
N=5

BAIAP2L1



<100 mm³
N=5

FGFR3



<100 mm³
N=5

FIG. 12

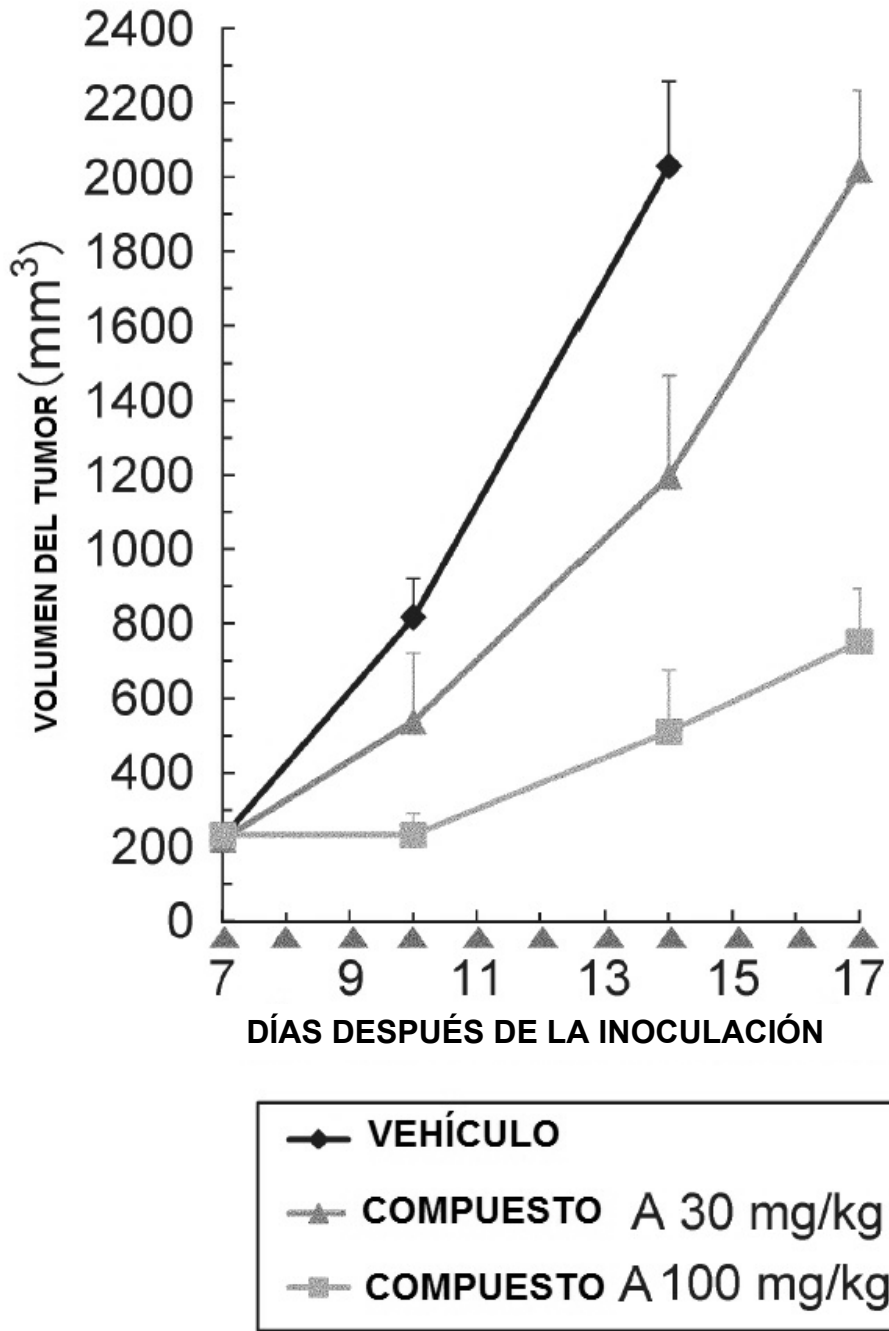


FIG. 13