

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 660 414**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00	(2006.01)
A61K 38/20	(2006.01)
A61K 38/21	(2006.01)
A61K 39/39	(2006.01)
A61P 35/00	(2006.01)
A61P 35/02	(2006.01)
A61P 43/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.10.2008 PCT/JP2008/069267**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **30.04.2009 WO09054471**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.10.2008 E 08840900 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.12.2017 EP 2213301**

54 Título: **Inductor de la respuesta inmunitaria**

30 Prioridad:

25.10.2007 JP 2007277578
25.10.2007 JP 2007277611
25.10.2007 JP 2007277240
26.10.2007 JP 2007279113

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.03.2018

73 Titular/es:

TORAY INDUSTRIES, INC. (100.0%)
1-1, NIHONBASHI-MUROMACHI 2-CHOME,
CHUO-KU
TOKYO, 103-8666, JP

72 Inventor/es:

ISHIBASHI, MASAKI y
OKANO, FUMIYOSHI

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 660 414 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

Inductor de la respuesta inmunitaria

5 Campo de la técnica

La presente invención se refiere a un nuevo agente inductor de la inmunidad útil como agente terapéutico y/o profiláctico para un cáncer(es).

10 Técnica antecedente

Los cánceres son la causa más común de muerte entre todas las causas de muerte, y por lo tanto las terapias son principalmente el tratamiento quirúrgico en combinación con radioterapia y quimioterapia. Además de los desarrollos de nuevos métodos quirúrgicos y el descubrimiento de nuevos agentes anti-cáncer en años recientes, los resultados del tratamiento de cánceres no han mejorado mucho hasta ahora excepto en algunos cánceres. En años recientes, gracias al desarrollo de la biología molecular y la inmunología del cáncer, se identificaron los antígenos del cáncer reconocidos por células T reactivas con los cánceres, así como los genes que codifican los antígenos del cáncer, y han aumentado las expectativas para las inmunoterapias específicas de antígeno (véase la bibliografía no patente 1). En inmunoterapia, para reducir los efectos secundarios, es necesario que el péptido o proteína que se reconoce como un antígeno casi no exista en células normales y exista específicamente en células cancerosas. En 1991, Boon et al. del Instituto Ludwig de Bélgica aislaron el antígeno MAGE 1 del melanoma humano reconocido por células T positivas a CD8 por un método de clonación de expresión de ADNc utilizando una línea celular autóloga y células T reactivas contra el cáncer (véase la bibliografía no patente 2). A partir de entonces, se informó del método SEREX (identificaciones serológicas de antígenos por clonación de la expresión recombinante), en el que los antígenos tumorales reconocidos por anticuerpos producidos en el cuerpo vivo de un paciente con cáncer en respuesta al cáncer del propio paciente se identificaron mediante la aplicación de un método de clonación de la expresión genética (Bibliografía no patente 3; bibliografía patente 1), y se han aislado distintos antígenos cancerígenos (véase las bibliografías no patentes 4 a 9). Utilizando una parte de los mismos como dianas, se han iniciado ensayos clínicos para inmunoterapia del cáncer.

Por otra parte, como en los seres humanos, se conocen en perros y gatos varios tumores tales como el tumor de glándula mamaria y carcinoma de células escamosas, y también se clasifican como altos en las estadísticas de las enfermedades de perros y gatos. Sin embargo, hasta ahora, no existe ningún agente terapéutico, profiláctico o de diagnóstico que sea eficaz para los cánceres en perros y gatos. La mayoría de los tumores de los perros y gatos son descubiertos por los dueños solo después de que hayan avanzado a un crecimiento mayor, y en muchos casos, ya es demasiado tarde para visitar un hospital para someterse a la extirpación quirúrgica del tumor o recibir un fármaco humano (una preparación anticáncer o similar), de manera que los perros y gatos mueren poco después del tratamiento. En dichas circunstancias, si estuvieran disponibles los agentes terapéuticos, agentes profilácticos y agentes diagnósticos eficaces para los cánceres para perros y gatos, se espera que se desarrollaran sus usos para los cánceres caninos.

Bibliografía patente 1: Documento US 5698396 B

Bibliografía no patente 1: Tsuyoshi Akiyoshi, Cancer and Chemotherapy, 24, 551-519 (1997)

Bibliografía no patente 2: Bruggen P. et al., Science, 254:1643-1647 (1991)

Bibliografía no patente 3: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92:11810-11813 (1995)

Bibliografía no patente 4: Int. J. Cancer, 72:965-971 (1997)

Bibliografía no patente 5: Cancer Res., 58:1034-1041 (1998)

Bibliografía no patente 6: Int. J. Cancer, 29:652-658 (1998)

Bibliografía no patente 7: Int. J. Oncol., 14:703-708 (1999)

Bibliografía no patente 8: Cancer Res., 56:4766-4772 (1996)

Bibliografía no patente 9: Hum. Mol. Genet 6:33-39, 1997

Bibliografía no patente 10: Naokazu Inoue, Ryo Yamaguchi y Masahito Ikawa, Protein, Nucleic Acid and Enzyme, Vol. 50, No. 11, 1405-1412

Bibliografía no patente 11: J Cell Sci. 115:1825-35

Bibliografía no patente 12: Blood. 95:1788-96

Bibliografía no patente 13: Mol Endocrinol. 9:243-54 (1995)

Bibliografía no patente 14: J Cell Biol. 145: 83-98 (1999)

Divulgación de la invención**Problemas a resolver por la invención**

Un objetivo de la presente invención es proporcionar un nuevo agente inductor de la inmunidad que es útil como agente terapéutico y/o profiláctico para un cáncer(es).

Medios para resolver los problemas

Los presentes inventores estudiaron intensamente para obtener un ADNc que codificara una proteína que se una a un anticuerpo existente en el suero derivado de un cuerpo vivo que alberga un cáncer por el método SEREX
 5 utilizando una biblioteca de ADNc derivada de testículos caninos y suero de un perro que alberga un cáncer, cuyo ADNc se utilizó para preparar un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos se muestra en la SEQ ID NO: 2, una proteína calmegina canina que tiene la secuencia de aminoácidos se muestra en la SEQ ID NO: 16, una proteína centrosómica canina (que se puede abreviar de aquí en adelante como CEP) que tiene la secuencia de aminoácidos que se muestra en SEQ ID NO: 26, y interactor 11 del receptor de la hormona tiroidea canina (que se
 10 puede describir de aquí en adelante como "TRIP 11") que tiene la secuencia de aminoácidos que se muestra en SEQ ID NO: 39. Además, basándose en un gen canino registrado que tiene una alta homología con la CEP canina de la SEQ ID NO: 26 descrita anteriormente, se preparó una CEP canina que tiene una secuencia de aminoácidos que se muestra en SEQ ID NO: 28. Además, basándose en un gen humano homólogo del gen obtenido se prepararon un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos que se muestra en SEQ ID NO: 4, una proteína calmegina humana que tiene la secuencia de aminoácidos se muestra en la SEQ ID NO: 18, una CEP humana que tiene la secuencia de aminoácidos se muestra en la SEQ ID NO: 30, y un TRIP11 humano que tiene la secuencia de aminoácidos se muestra en la SEQ ID NO: 41. Los inventores descubrieron entonces que estos polipéptidos pueden inducir inmunocitos en un cuerpo vivo y producía la regresión de un tumor ya existente cuando se administraba al cuerpo vivo, completando de esta manera la presente invención.

20 Es decir, la presente invención proporciona un agente para su uso en el tratamiento terapéutico y/o terapéutico de un cáncer(es), como se define en las reivindicaciones.

25 La presente invención también proporciona el uso de un polipéptido o vector recombinante en la fabricación de un agente para su uso en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de un cáncer(es) como se define en las reivindicaciones.

Efecto de la invención

30 Mediante la presente invención, se proporciona un nuevo agente inductor de inmunidad útil como un agente terapéutico y/o profiláctico para un cáncer(es). Como se indica en el Ejemplo A posterior, el polipéptido utilizado en la presente invención puede inducir inmunocitos en un perro que alberga un cáncer y también puede producir la reducción o regresión de un tumor ya existente cuando se administra a un perro que alberga un cáncer. Por lo tanto el polipéptido es útil para la terapia y profilaxis de un cáncer(es).

35 **Breve descripción de los dibujos**

La Fig. 1 muestra el patrón de expresión del gen identificado en el Ejemplo A-1 en líneas celulares de tejidos normales y tumorales. Referencia número 1: patrón de expresión del gen identificado; Referencia número 2:
 40 patrón de expresión del gen *GAPDH*.

La Fig. 2 muestra la detección por tinción de Coomassie de la proteína derivada de caninos producida en *E. coli* y purificada en el Ejemplo A, cuya proteína se identificó en la presente invención. Referencia número 3: la banda de la proteína derivada de caninos de la presente invención.

45 La Fig. 3 muestra el patrón de expresión del gen de la calmegina identificado en la presente divulgación en líneas celulares de tejidos normales y tumorales. Referencia número 1: patrón de expresión del gen de la calmegina; Referencia número 2: el patrón de expresión del gen *GAPDH*.

La Fig. 4 muestra la detección por tinción de Coomassie de la proteína calmegina canina, que es un ejemplo del polipéptido utilizado en la presente divulgación, producida en *E. coli* y purificada en el Ejemplo B. Referencia número 3: la banda para la proteína calmegina canina.

50 La Fig. 5 muestra el patrón de expresión del gen que codifica la proteína CEP en líneas celulares de tejidos normales y tumorales. Referencia número 1: el patrón de expresión del gen que codifica la proteína CEP; Referencia número 2: el patrón de expresión del gen *GAPDH*.

La Fig. 6 muestra la detección por tinción de Coomassie de la CEP canina de la SEQ ID NO: 26, que es un ejemplo del polipéptido utilizado en la presente divulgación, producido en *E. coli* y purificada en el Ejemplo C. Referencia número 3: la banda para la proteína CEP canina.

55 La Fig. 7 muestra el patrón de expresión del gen que codifica la proteína TRIP11 en líneas celulares de tejidos normales y tumorales. Referencia número 1: el patrón de expresión del gen que codifica la proteína TRIP11; Referencia número 2: el patrón de expresión del gen *GAPDH*.

60 La Fig. 8 muestra la detección por tinción de Coomassie de la proteína TRIP11 canina, que es uno de los polipéptidos utilizados en la presente divulgación, producido en *E. coli* y purificado en el Ejemplo D. Referencia número 3: la banda para la proteína TRIP11 canina.

Mejor modo para llevar a cabo la invención

65 Se debería señalar que la expresión "que tiene la secuencia de aminoácidos" en la presente invención significa que los restos de aminoácidos se alinean en ese orden. En consecuencia, por ejemplo, "un polipéptido que tiene la

secuencia de aminoácidos se muestra en la SEQ ID NO: 2" significa un polipéptido que tiene un tamaño de 306 restos de aminoácidos, cuya secuencia de aminoácidos es Met Ala Ala Leu ...(corte)... sigue con Thr Ser Por como se muestra en SEQ ID NO: 2. Además, "un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos se muestra en la SEQ ID NO: 2" se puede abreviar como "un polipéptido de SEQ ID NO: 2". Esto se aplica también a la expresión "que tiene la secuencia de bases".

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "actividad inductora de inmunidad" significa la capacidad para inducir inmunocitos que secretan citocinas tales como interferones en un cuerpo vivo. Se puede confirmar si un polipéptido tiene una actividad inductora de inmunidad o no utilizando, por ejemplo, el conocido ensayo ELISPOT. Más particularmente, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos posteriores, se obtienen células tales como células mononucleares periféricas de un cuerpo vivo al que se ha administrado un polipéptido cuya actividad inductora de inmunidad se va a evaluar, cuyas células se co-cultivan entonces con el polipéptido seguido por la medición de la cantidad de una citocina producida por las células utilizando un anticuerpo específico, midiendo de esta manera el número de inmunocitos en las células, que hace posible la evaluación de la actividad inductora de inmunidad. Además, como se describe en los Ejemplos posteriores, un polipéptido preparado basándose en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, 4, 16, 18, 26, 28, 30, 39 o 41 pueden producir regresión de un tumor por su actividad inductora de inmunidad cuando se administra a un cuerpo vivo que alberga un cáncer. Por lo tanto, la actividad inductora de inmunidad descrita anteriormente se puede evaluar también como la capacidad para inhibir las células cancerosas que expresan el polipéptido de SEQ ID NO: 2, 4, 16, 18, 26, 28, 30, 39 o 41 o para producir la reducción o desaparición de un tejido canceroso (tumor) (al que se hace referencia de aquí en adelante como "actividad anti-tumoral"). La actividad anti-tumoral de un polipéptido se puede confirmar, por ejemplo, por observación de si se reduce o no el tumor cuando se administra el polipéptido a un cuerpo vivo que alberga un cáncer, como se describe más particularmente en los Ejemplos posteriores. Además, la actividad anti-tumoral de un polipéptido se puede evaluar también por la observación de si las células T estimuladas con el polipéptido (es decir, se pone en contacto las células T con células presentadoras de antígeno que presentan el polipéptido) muestran actividad citotóxica o no contra las células tumorales *in vitro*. El contacto entre las células T y las células presentadoras de antígeno se puede llevar a cabo por co-cultivo de ambos en un medio líquido como se menciona posteriormente. La medición de la actividad citotóxica se puede llevar a cabo, por ejemplo, por un método conocido llamado ensayo de liberación de ⁵¹Cr descrito en Int. J. Cancer, 58: p 317, 1994. En los casos en los que se utiliza un polipéptido para la terapia y/o profilaxis de un cáncer(es), la evaluación de la actividad inductora de inmunidad se lleva a cabo preferentemente utilizando la actividad anti-tumoral como un índice, aunque el índice no está restringido.

La secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 2 del LISTADO DE SECUENCIAS es la secuencia de aminoácidos del polipéptido con función desconocida que se aísla como un polipéptido que se une a un anticuerpo que existe específicamente en el suero de un perro que alberga un cáncer, cuyo aislamiento se llevó a cabo por el método SEREX utilizando una biblioteca de ADNc derivada de testículos caninos y suero de un perro que alberga un cáncer (véase el Ejemplo A-1). Está registrado en la base de datos NCBI bajo el N° de registro XP_535343 (proteína) y N° de registro XM_535343 (gen codificante), pero su función no se ha desvelado. Además, la secuencia de aminoácidos se muestra en la SEQ ID NO: 4 es una secuencia de aminoácidos de un vector homólogo humano del polipéptido de SEQ ID NO: 2 aislado como se ha descrito anteriormente. Este factor homólogo humano también es una proteína cuya función es desconocida, que se registró en la base de datos del NCBI bajo el N° de registro NP_689873 (proteína) y N° de registro NM_152660 (gen codificante). La homología entre ellos es un 93 % en términos de secuencia de bases y un 99 % en términos de secuencia de aminoácidos.

Las secuencias de aminoácidos respectivas que se muestran en las SEQ ID NO: 16 y 18 son las de la proteína calmegina aislada como un polipéptido y un factor homólogo humano del mismo, cuyo polipéptido se une a un anticuerpo existente específicamente en el suero derivado de un perro que alberga un cáncer, cuyo aislamiento se lleva a cabo por el método SEREX utilizando una biblioteca de ADNc derivada de testículos caninos y suero de un perro que alberga un cáncer (véase el Ejemplo B-1). La calmegina se identificó como una proteína que se expresa específicamente en el momento de la diferenciación de una espermática, y tiene una actividad chaperona *in vitro*. Como se expresa solo en los testículos y desaparece en el espermatozoides maduro, la calmegina se considera que tiene la función de plegar las proteínas implicadas en la diferenciación de la espermática (Bibliografía no patente 10, Naokazu Inoue, Ryo Yamaguchi y Masahito Ikawa, Protein, Nucleic Acid and Enzyme, Vol. 50, No. 11, 1405-1412). Sin embargo, no hay informes que demuestren que la proteína se exprese en un cáncer y sea útil para la terapia o profilaxis del mismo. La homología entre el gen de calmegina canina y el gen de la calmegina humana es de un 90 % en términos de secuencia de bases y de un 89 % en términos de secuencia de aminoácidos.

Las secuencias de aminoácidos respectivas que se muestran en las SEQ ID NO: 26, 28 y 30 son las de la CEP aislada como un polipéptido, un factor canino que tiene una alta homología con el polipéptido y un factor homólogo humano del polipéptido, cuyo polipéptido se une a un anticuerpo existente específicamente en el suero derivado de un perro que alberga un cáncer, cuyo aislamiento se llevó a cabo por el método SEREX utilizando una biblioteca de ADNc derivado de testículos caninos y suero de un perro que alberga un cáncer (véase Ejemplo C-1). La CEP es una proteína que es necesaria para que el centrosoma controle los microtúbulos y también está implicada en la maduración del centrosoma. Se sabe que se produce una translocalización cromosómica frecuentemente en algunos trastornos mieloproliferativos, y como el gen *CEP* existe en el punto donde se produce la translocalización,

se considera que la CEP tiene cierta relación con los trastornos. Sin embargo, no hay informes que demuestren que la proteína se expresa en un cáncer y es útil para la terapia o profilaxis del mismo (Bibliografía no patente 11: J Cell Sci. 115:1825-35; Bibliografía no patente 12: Blood. 95:1788-96). La homología entre el gen *CEP* canino que codifica la CEP de la SEQ ID NO: 26 y el gen *CEP* humano es de un 87 % en términos de secuencia de bases y de un 84 % en términos de secuencia de aminoácidos.

Las secuencias respectivas de aminoácidos que se muestran en las SEQ ID NO: 39 y 41 son las de la proteína TRIP11 aislada como un polipéptido y un factor homólogo humano del mismo, cuyo polipéptido se une a un anticuerpo existente específicamente en el suero derivado de un perro que alberga un cáncer, cuyo aislamiento se lleva a cabo por el método SEREX utilizando una biblioteca de ADNc derivada de testículos caninos y suero de un perro que alberga un cáncer (véase el Ejemplo D-1). El TRIP11 (interactor 11 del receptor de la hormona tiroidea) se identificó por primera vez como un factor que interactúa con el receptor β de la hormona tiroidea, y su unión a los cuerpos de Golgi y los microtúbulos también se vuelven evidentes, de manera se considera que el TRIP11 tiene un papel en el mantenimiento de la forma de estos orgánulos. Sin embargo, no hay ningún informe que demuestre que la proteína se exprese en un cáncer y sea útil para la terapia o profilaxis del mismo (Bibliografía no patente 13, Mol Endocrinol. 9:243-54 (1995); Bibliografía no patente 14, J Cell Biol. 145: 83-98 (1999)). La homología entre el gen *TRIP11* canino y el gen *TRIP11* humano es de un 88 % en términos de secuencia de bases y de un 86 % en términos de secuencia de aminoácidos.

Como un principio de la inducción inmunitaria por administración de un polipéptido antigénico, se conoce el siguiente procedimiento: el polipéptido se incorpora en una célula presentadora de antígenos y entonces se degrada en fragmentos más pequeños por las peptidasas de la célula, seguido por la presentación de los fragmentos en la superficie de la célula. Los fragmentos entonces son reconocidos por una célula T citotóxica o similar, lo que destruye selectivamente las células que presentan el antígeno.

Como se ha descrito anteriormente, como un polipéptido que se incorpora a una célula presentadora de antígenos es escindido en sitios aleatorios por las peptidasas de la célula para dar lugar a distintos fragmentos de polipéptido, que entonces se presentan en la superficie de las células presentadoras de antígeno, la administración de un gran polipéptido tal como la región completa de SEQ ID NO: 2 o 4 produce inevitablemente la producción de fragmentos de polipéptido por degradación del mismo en la célula presentadora de antígenos, cuyos fragmentos son eficaces para la inducción inmunitaria mediante la célula presentadora de antígenos.

El polipéptido descrito anteriormente (b) es el mismo polipéptido que el polipéptido descrito anteriormente (a) excepto en que se han sustituido, eliminado y/o insertado un pequeño número de restos de aminoácidos, que tiene una homología de no menos de un 98 % con una secuencia original, y tiene una actividad inductora de inmunidad. Se sabe bien en la técnica que, en general, hay casos en el que un antígeno proteico mantiene sustancialmente la misma antigenicidad que el original incluso si se ha modificado la secuencia de aminoácidos de la proteína de manera que se han sustituido, eliminado y/o insertado un pequeño número de aminoácidos. Por lo tanto como el polipéptido descrito anteriormente (b) también puede ejercer una actividad inductora de inmunidad, se puede utilizar para la preparación del agente inductor de inmunidad de la presente invención. Además, el polipéptido descrito anteriormente (b) también es preferentemente el mismo polipéptido que el que tiene la secuencia de aminoácidos que se muestra en SEQ ID NO: 2 o 4 excepto en que se han sustituido, eliminado y/o insertado uno o varios restos de aminoácidos.

Como se utiliza en el presente documento, el término "homología" de secuencias de aminoácidos significa un valor expresado en porcentaje que se calcula alineando dos secuencias de aminoácidos que se van a comparar de manera que el número de restos de aminoácidos coincidentes sea el máximo, y dividiendo el número de aminoácidos coincidentes por el número total de restos de aminoácidos. Cuando se lleva a cabo el alineamiento descrito anteriormente, se inserta(n) un hueco(s) en uno o ambas secuencias que se van a comparar si fuera necesario. Dicho alineamiento de secuencias se puede llevar a cabo utilizando un programa bien conocido tal como BLAST, FASTA o CLUSTAL W. Cuando se inserta(n) un hueco(s), el número descrito anteriormente de los restos de aminoácidos totales se calcula contando un hueco como un resto de aminoácido. Cuando el número de los restos de aminoácidos totales que se cuenta es diferente entre las dos secuencias que se comparan, la homología (%) se calcula dividiendo el número de restos de aminoácidos coincidentes por el número de restos de aminoácidos totales en la secuencia más larga.

Los 20 tipos de aminoácidos que constituyen la proteína de origen natural se pueden clasificar en grupos cada uno de los cuales tienen propiedades similares, por ejemplo, en aminoácidos neutros con cadenas laterales que tienen una baja polaridad (Gly, Ile, Val, Leu, Ala, Met, Pro), aminoácidos neutros que tienen cadenas laterales hidrófilas (Asn, Gln, Thr, Ser, Tyr, Cys), aminoácidos ácidos (Asp, Glu), aminoácidos básicos (Arg, Lys, His) y aminoácidos aromáticos (Phe, Tyr, Trp). Se sabe que, en la mayoría de los casos, las sustituciones de aminoácidos con el mismo grupo no cambian las propiedades del polipéptido. Por lo tanto, en los casos en los que se sustituyen restos de aminoácidos en el polipéptido (a) descrito anteriormente en la presente invención, la probabilidad de que se pueda mantener la actividad inductora de inmunidad puede ser alta llevando a cabo la sustitución con el mismo grupo.

Por ejemplo, los polipéptidos descritos anteriormente se pueden sintetizar por un método de síntesis química tal como el método Fmoc (método fluoroenilmetilcarbonilo) o el método tBoc (método *t*-butiloxicarbonilo). Además, se pueden sintetizar por métodos convencionales utilizando distintos sintetizadores de péptidos disponibles en el mercado. Además, el polipéptido de interés se puede obtener por un método de modificación genética conocido en el que el polinucleótido que codifica el polipéptido descrito anteriormente se prepara e incorpora en un vector de expresión, que se introduce entonces en una célula huésped, en la que se produce el polipéptido.

El polinucleótido que codifica el polipéptido descrito anteriormente se puede preparar fácilmente por un método de modificación genética conocido o un método convencional utilizando un sintetizador de ácidos nucleicos disponible en el mercado. Por ejemplo, se puede preparar el ADN que tiene la secuencia de bases de SEQ ID NO: 1 llevando a cabo una PCR utilizando el ADN cromosómico o una biblioteca de ADNc de un perro como matriz y utilizando un par de cebadores diseñados de manera que los cebadores puedan amplificar la secuencia de bases descrita en la SEQ ID NO: 1. El ADN que tiene la secuencia de bases de SEQ ID NO: 3 se puede preparar de manera similar utilizando como la matriz que se ha descrito anteriormente el ADN cromosómico o una biblioteca de ADNc humanos. Las condiciones para la reacción de PCR se puede seleccionar como sea apropiado, y los ejemplos de las condiciones incluyen, pero no se limitan a, aquellas en las que se repite un ciclo que comprende las etapas de reacción de 94 °C durante 30 segundos (desnaturalización), 55 °C durante 30 segundos a 1 minuto (hibridación), y 72 °C durante 2 minutos (extensión), por ejemplo 30 veces, seguido por permitir que la reacción se produzca a 72 °C durante 7 minutos. Además, se puede aislar un ADN deseado preparando una sonda o cebador apropiados basándose en la información de la secuencia de bases y la secuencia de aminoácidos que se muestran en las SEQ ID NO: 1 a 4 del LISTADO de SECUENCIAS de la presente memoria descriptiva y después utilizando la sonda o el cebador para explorar una biblioteca de ADNc humanos o de perro. La biblioteca de ADNc se prepara preferentemente a partir de células, un órgano o un tejido que exprese la proteína de las SEQ ID NO: 2 o 4.

Las operaciones tales como la preparación de una sonda o un cebador descrita anteriormente, la construcción de una biblioteca de ADNc, la exploración de una biblioteca de ADNc y la clonación de un gen de interés son conocidas por los expertos en la técnica, y se pueden llevar a cabo de acuerdo con, por ejemplo, *Molecular Cloning*, 2ª Ed. o *Current Protocols in Molecular Biology*. A partir del ADN obtenido de esa manera, se puede obtener el ADN que codifica el polipéptido (a) descrito anteriormente. Además, como se conocen los codones que codifican cada aminoácido, la secuencia de bases de un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos específica se puede especificar fácilmente. Por lo tanto, las secuencias de bases de polinucleótidos que codifican el polipéptido (b) y el polipéptido (c) descritos anteriormente también se pueden especificar fácilmente, de manera que dichos polinucleótidos también se pueden sintetizar fácilmente utilizando un sintetizador de ácidos nucleicos disponible en el mercado de acuerdo con un método convencional.

Las células huésped descritas anteriormente no están restringida a condición de que puedan expresar el polipéptido descrito anteriormente, y ejemplos de las mismas incluyen, pero no se limitan a, células procariotas tales como *E. coli*; y células eucariotas tales como células de mamífero cultivadas que incluyen células de riñón de mono COS1 y células ováricas de hámster chino CHO, levaduras germinadas, levaduras fusionadas, células de gusano de seda, y células de huevos de *Xenopus laevis*.

En los casos en los que se utilizan células procariotas como células huésped, se utiliza un vector de expresión que tiene el origen que hace posible su replicación en una célula procariota, un promotor, un sitio de unión al ribosoma, un sitio de clonación de ADN, un terminador y similares como vector de expresión. Ejemplos del vector de expresión para *E. coli* incluyen el sistema pUC, pBluescript II, el sistema de expresión pET y el sistema de expresión de pGEX. Incorporando el ADN que codifica el polipéptido descrito anteriormente en dicho vector de expresión y transformando las células huésped procariotas con el vector, seguido por el cultivo los transformantes obtenidos, se puede expresar el polipéptido codificado por el ADN descrito anteriormente en las células huésped procariotas. En este caso, el polipéptido también se puede expresar como una proteína de fusión con otra proteína.

En los casos en los que se utilizan células eucariotas como células huésped, un vector de expresión para células eucariotas que tienen un promotor, un sitio de corte y empalme, un sitio de adición de poli(A) y similares se utiliza como vector de expresión. Ejemplos de dicho vector de expresión incluyen pKA1, pCDM8, pSVK3, pMSG, pSVL, pBK-CMV, pBK-RSV, el vector EBV, pRS, pcDNA3, pMSG y pYES2. De la misma manera que se ha descrito anteriormente, incorporando el ADN que codifica el polipéptido descrito anteriormente en dicho vector de expresión y transformando células huésped eucariotas con el vector, seguido por el cultivo de los transformantes obtenidos, se puede expresar el polipéptido codificado por el ADN descrito anteriormente en las células huésped eucariotas. En los casos en los que se utilizó pIND/V5-His, pFLAG-CMV-2, pEGFP-N1 o pEGFP-C1 como vector de expresión, se puede expresar el polipéptido descrito anteriormente como una proteína de fusión que tiene añadidos distintos marcadores tales como un marcador His, marcador FLAG, marcador myc, marcador HA o GFP.

La introducción del vector de expresión en las células huésped se puede llevar a cabo utilizando un método bien conocido tal como la electroporación, el método de fosfato de calcio, el método de liposomas o el método de DEAE dextrano.

El aislamiento y purificación de un polipéptido de interés de las células huésped se pueden llevar a cabo por una combinación de operaciones de separación conocidas. Ejemplos de las operaciones incluyen, pero no se limitan al, tratamiento con un desnaturalizante tal como la urea o mediante un tensioactivo; tratamiento por ultrasonificación; precipitación proteica por adición de sal y precipitación fraccional en disolvente; diálisis; centrifugación; ultrafiltración; filtración en gel; SDS-PAGE; enfoque isoeléctrico; cromatografía de intercambio iónico; cromatografía hidrófoba; cromatografía de afinidad; y cromatografía de fase inversa.

Los polipéptidos obtenidos por el método anterior incluyen, como se ha mencionado anteriormente, aquellos en forma de una proteína de fusión con otra proteína arbitraria. Ejemplos de los mismos incluyen proteínas de fusión con glutatión S-transferasa (GST) y con un marcador His. Dicho polipéptido en forma de una proteína de fusión también está incluido en el alcance de la presente invención como el polipéptido (c) descrito anteriormente. Además, en algunos casos, un polipéptido que se expresa en una célula transformada se modifica de distintas maneras en la célula después de la traducción del mismo. Dicho polipéptido que tienen una modificación post-traduccional también está incluido en el alcance de la presente invención a condición de que tenga actividad inductora de inmunidad. Ejemplos de dicha modificación post-traduccional incluye la eliminación de la metionina del extremo N, acetilación del extremo N, glicosilación, degradación limitada por una proteasa intracelular, miristoilación, isoprenilación y fosforilación.

Como se describe concretamente en los siguientes Ejemplos, el polipéptido descrito anteriormente que tiene actividad inductora de inmunidad puede producir regresión de un tumor ya existente cuando se administra en un cuerpo vivo que albergaba un cáncer. Por lo tanto, el agente inductor de inmunidad de la presente invención se puede utilizar como un agente terapéutico y/o profiláctico para un cáncer(es). En este caso, los cánceres que se van a tratar son los que expresan el gen que codifica el polipéptido de la SEQ ID NO: 2 o 4, y ejemplos de los mismos incluyen, pero no se libera a, tumor cerebral; carcinomas de células escamosas de cabeza, cuello, pulmón, útero y esófago; melanoma; adenocarcinomas de pulmón, útero y esófago; melanoma; adenocarcinomas de pulmón, mama y útero; cáncer renal; tumor mixto maligno; carcinoma hepatocelular; carcinoma de células basales; épolus acantomatoso; tumor intraoral; adenocarcinoma perianal; tumor de sacos anales; carcinoma apocrino de sacos anales; tumor de células de Sertoli; cáncer de vulva; adenocarcinoma sebáceo; epiteloma sebáceo; adenoma sebáceo; carcinoma de glándulas sudoríparas; adenocarcinoma intranasal; adenocarcinoma nasal; cáncer tiroideo; cáncer de colon; adenocarcinoma bronquial; adenocarcinoma; carcinoma ductal; adenocarcinoma mamario; adenocarcinoma mamario combinado; tumor mixto maligno de la glándula mamaria; adenocarcinoma papilar intraductal; fibrosarcoma; hemangiopericitoma; osteosarcoma; condrosarcoma; sarcoma de tejidos blandos; sarcoma histiocítico; mixosarcoma; sarcoma indiferenciado; cáncer de pulmón; mastocitoma; leiomioma cutáneo; leiomioma intra-abdominal; leiomioma; leucemia linfocítica crónica; linfoma gastrointestinal; linfoma de órganos digestivos; linfoma de células medias o células pequeñas; tumor adrenomedular; tumor de células de la granulosa; feocromocitoma; cáncer de vejiga (carcinoma de células transicionales); inflamación supurativa; tumor hepático intra-abdominal; cáncer de hígado; plasmocitoma; hemangiopericitoma maligno; angiosarcoma; adenocarcinoma de sacos anales; cáncer oral; melanoma metastático maligno; melanoma maligno amelanótico; melanoma maligno cutáneo; mioepitelioma maligno; seminoma maligno; seminoma; adenocarcinoma del intestino grueso; adenocarcinoma gástrico; carcinoma sebáceo de bajo grado; adenocarcinoma ceruminoso; carcinoma apocrino; carcinoma de glándulas sudoríparas apocrino pobremente diferenciado; histiocitoma fibroso maligno; mieloma múltiple; tumor mesenquimático maligno; liposarcoma; osteosarcoma; sarcoma de origen desconocido; sarcoma de partes blandas (tumor celular del huso); sarcoma diferenciado pobremente; sarcoma sinovial; angiosarcoma; angiosarcoma; epiteloma maligno metastático; adenocarcinoma tubular mamario; carcinoma ductal mamario; cáncer de mama inflamatorio; germinoma; leucemia; tricoepitelioma invasivo; linfoma de células medias; linfoma multicéntrico; osteosarcoma (glándula mamaria); mastocitoma (Patnaik tipo II); mastocitoma (Grado II); y leiomiomasarcoma. Los animales que se van a tratar son mamíferos, especialmente preferentemente seres humanos, perros y gatos.

La vía de administración del agente inductor de inmunidad de la presente invención a un cuerpo vivo puede ser la administración oral o la administración parenteral, y es preferentemente la administración parenteral tal como la administración intramuscular, administración subcutánea, administración intravenosa o administración intra-arterial. En los casos en los que el agente inductor de inmunidad se utiliza para la terapia de un cáncer, se puede administrar en un ganglio linfático en la vecindad del tumor que se va a tratar, como se describe en los Ejemplos posteriormente, con el fin de aumentar su actividad anticáncer. La dosis puede ser una dosis tan grande como la dosis que sea eficaz para la inducción inmunitaria, y en los casos en los que se utiliza el agente para la terapia y/o profilaxis de un cáncer, la dosis puede ser la que sea eficaz para la terapia y/o profilaxis del cáncer. La dosis eficaz para la terapia y/o profilaxis de un cáncer se selecciona apropiadamente dependiendo del tamaño del tumor, el síntoma y similares, y habitualmente, se pueden administrar de 0,0001 µg a 1000 µg, preferentemente de 0,001 µg a 1000 µg del agente en términos de principio activo, una vez o varias veces por día por animal a tratarse. El agente se administra preferentemente en varias veces, cada varios días a varios meses, Como se muestra concretamente en los Ejemplos posteriores, el agente inductor de la inmunidad de la presente invención puede producir la regresión de un tumor ya existente. Por lo tanto, como el agente puede ejercer su actividad anticáncer también contra un pequeño número de células cancerosas en estado temprano, el desarrollo o recurrencia del cáncer se puede evitar utilizando el agente antes del desarrollo de un cáncer o después de la terapia para un cáncer. Es decir, el agente inductor de inmunidad de la presente invención es eficaz tanto para la terapia y profilaxis de un cáncer.

El agente inductor de inmunidad de la presente invención puede contener solo un polipéptido o se puede formular mezclando como sea apropiado con un aditivo tal como un vehículo, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, adecuado para cada modo de administración. Los métodos de formulación y los aditivos que se pueden utilizar son bien conocidos en el campo de la formulación de agentes farmacéuticos, y se pueden utilizar cualquiera de los métodos y aditivos. Ejemplos específicos de los aditivos incluyen, pero no se limitan a, diluyentes tales como soluciones tampón fisiológicas; vehículos tales como la sacarosa, lactosa, almidón de maíz, fosfato cálcico, sorbitol y glicina; aglutinantes tales como el jarabe, gelatina, goma arábiga, sorbitol, cloruro de polivinilo, y tragacanto; y lubricantes tales como el estearato magnésico, polietilenglicol, talco y sílice. Ejemplos de la formulación incluyen preparaciones orales tales como comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos y jarabes; y preparaciones parenterales tales como inhalantes, soluciones para inyección, supositorios y soluciones. Estas formulaciones se pueden preparar por métodos de producción conocidos comúnmente.

El agente inductor de inmunidad de la presente invención se puede utilizar en combinación con un inmunopotenciador capaz de aumentar la respuesta inmunitaria en un cuerpo vivo. El inmunopotenciador puede estar contenido en el agente inductor de inmunidad de la presente invención o administrarse como una composición separada a un paciente en combinación con el agente inductor de la inmunidad de la presente invención.

Ejemplos de los inmunopotenciadores descritos anteriormente incluyen adyuvantes. Los adyuvantes pueden aumentar la respuesta inmunitaria proporcionando un reservorio de antígeno (extracelularmente o en los macrófagos), activando los macrófagos y estimulando conjuntos específicos de linfocitos, aumentando de esta manera la actividad anticáncer. Por lo tanto, especialmente en los casos en los que el agente inductor de la inmunidad de la presente invención se utiliza para la terapia y/o profilaxis de un cáncer, el agente inductor de la inmunidad preferentemente comprende un adyuvante, además del polipéptido descrito anteriormente como ingrediente eficaz. Se conocen bien muchos tipos de adyuvantes en la técnica, y se puede utilizar cualquiera de estos adyuvantes. Ejemplos específicos de los adyuvantes incluyen MPL (SmithKline Beecham) y homólogos de lipopolisacárido Re 595 de *Salmonella minnesota* obtenido tras purificación e hidrólisis ácida del lipopolisacárido; QS21 (SmithKline Beecham) saponina QA-221 pura purificada de extracto de *Quillja saponaria*; DQS21 descrita en el documento WO96/33739 (SmithKline Beecham); QS-7, QS-17, QS-18 y QS-L1 (So y otros 10, "Molecules and cells", 1997, Vol. 7, p. 178-186); adyuvante incompleto de Freund; adyuvante completo de Freund; vitamina E; Montanida; aluminio; oligonucleótidos CpG (véase, por ejemplo, Kreig y otros 7, "Nature", Vol. 374, p. 546-549); poli I:C y derivados del mismo (por ejemplo, poli ICLC); y distintas emulsiones de agua en aceite preparadas a partir de aceites biodegradables tales como el escualeno y/o tocoferol. Entre estos, se prefieren el adyuvante incompleto de Freund, Montanida, poli I:C y derivados de los mismos, y oligonucleótidos CpG. La relación de mezcla entre el adyuvante descrito anteriormente y el polipéptido es normalmente aproximadamente de 1:10 a 10:1, preferentemente aproximadamente de 1:5 a 5:1, más preferentemente aproximadamente de 1:1. Sin embargo, el adyuvante no se limita a los ejemplos descritos anteriormente, y se pueden utilizar otros adyuvantes conocidos en la técnica distintos a los descritos anteriormente (por ejemplo, véase Coding, "Monoclonal Antibodies: Principles and Practice", 2ª edición, 1986) cuando se administra el agente inductor de inmunidad de la presente invención. Los métodos de preparación para las mezclas y emulsiones de un polipéptido y un adyuvante son bien conocidos para los expertos en la técnica de la vacunación.

Adicionalmente, además de los adyuvantes descritos anteriormente, se pueden utilizar factores que estimulan la respuesta inmunitaria del sujeto como el inmunopotenciador descrito anteriormente. Por ejemplo, se pueden utilizar distintas citocinas que tiene la propiedad para estimular linfocitos y/o células presentadoras de antígeno como inmunopotenciador en combinación con el agente inductor de inmunidad de la presente invención. Varias de dichas citocinas capaces de aumentar la respuesta inmunitaria son conocidas por los expertos en la técnica, y los ejemplos de las mismas incluyen, pero no se limitan a, interleucina-12 (IL-12), GM-CSF, IL-18, interferón- α , interferón- β , interferón- ω , interferón- γ , y ligando Flt3, que han demostrado que promueven la acción profiláctica de las vacunas. Dichos factores se pueden utilizar también como el inmunopotenciador descrito anteriormente, y pueden estar contenidos en el agente inductor de inmunidad de la presente invención, o se pueden preparar como una composición separada para administrarse a un paciente en combinación con el agente inductor de inmunidad de la presente invención.

Además, poniendo en contacto el polipéptido descrito anteriormente con las células presentadoras de antígeno *in vitro*, se puede hacer que las células presentadoras de antígeno presenten el polipéptido. Es decir, los polipéptidos descritos anteriormente se pueden utilizar como agentes para tratar las células presentadoras de antígeno. Como las células presentadoras de antígenos, se pueden emplear preferentemente células dendríticas o células B, que tengan moléculas de MHC clase I. Se han identificado distintas moléculas de MHC clase I y son bien conocidas. Las moléculas del MHC en seres humanos se llaman HLA. Ejemplo de moléculas de HLA clase I incluyen HLA-A, HLA-B y HLA-C, más específicamente HLA-A1, HLA-A0201, HLA-A0204, HLA-A0205, HLA-A0206, HLA-A0207, HLA-A11, HLA-A24, HLA-A31, HLA-A6801, HLA-B7, HLA-B8, HLA-B2705, HLA-B37, HLA-Cw0401 y HLA-Cw0602.

Las células dendríticas o células B que tienen moléculas del MHC clase I se pueden preparar a partir de la sangre periférica por un método bien conocido. Por ejemplo, las células dendríticas específicas del tumor se pueden inducir por células dendríticas inductoras de la médula ósea, sangre del cordón umbilical o sangre periférica del paciente utilizando un factor estimulante de colonias de granulocitos macrófagos (GM-CSF) e IL-3 (o IL-4), y después añadir

un péptido relacionado con el tumor en el sistema de cultivo. Administrando una cantidad eficaz de dichas células dendríticas, se puede inducir una respuesta deseada para la terapia de un cáncer. Como células que sean útiles, se pueden utilizar las de médula ósea o sangre de cordón umbilical donadas por un individuo sano, o de la médula ósea, sangre periférica, o similares del propio paciente. Cuando se utilizan células autólogas el paciente, se puede alcanzar una alta seguridad y se espera que se eviten efectos secundarios graves. La sangre periférica o la médula ósea pueden ser una muestra reciente, una muestra almacenada en frío o una muestra congelada. En cuanto a la sangre periférica, se puede cultivar la sangre completa o se pueden separar y cultivar los componentes leucocitarios solos. Además, entre los componentes leucocitarios, se pueden separar las células mononucleares. En los casos en los que las células se originan de médula ósea o sangre de cordón umbilical, se pueden cultivar todas las células que constituyen la médula ósea, o se pueden separar de las mismas las células mononucleares y cultivarse. La sangre periférica, los componentes leucocitarios de la misma y las células de médula ósea contienen células mononucleares, células madre hematopoyéticas y células dendríticas inmaduras, de las que se originan las células dendríticas, y también células positivas a CD4, y similares. En cuanto a las citocinas que se van a utilizar, el método de producción no está restringido y se pueden emplear citocinas de origen natural o recombinantes, o similares a condición de que se haya confirmado su seguridad y actividad fisiológica. Preferentemente, se utiliza una preparación con una calidad asegurada para su uso médico en una cantidad mínima necesaria. La concentración de las citocinas que se van a añadir no está restringida a condición de que si induzcan las células dendríticas, y habitualmente, la concentración total de la citocina(s) es preferentemente aproximadamente de 10 a 1000 ng/ml, más preferentemente aproximadamente de 20 a 500 ng/ml. El cultivo se puede llevar a cabo utilizando un medio bien conocido utilizado habitualmente para el cultivo de leucocitos. La temperatura del cultivo no está restringida a condición de que se consiga la proliferación de los leucocitos, y la más preferida es la de aproximadamente 37 °C que es la temperatura corporal del ser humano. El ambiente atmosférico durante el cultivo no está restringido a condición de que se consiga la proliferación de los leucocitos, y se prefiere un flujo de CO₂ de un 5 %. El periodo de cultivo no está restringido a condición de que se induzca el número de células necesario, y es habitualmente de 3 días a 2 semanas. En cuanto a los aparatos que se utilizan para la separación y el cultivo de las células se pueden emplear los aparatos apropiados, preferentemente en los que cuya seguridad cuando se aplica a usos médicos se ha confirmado, y cuyas operaciones son estables y simples. Particularmente en cuanto a los aparatos de cultivo celular, no solo se pueden utilizar recipientes generales tales como palcas de Petri, matraces y botellas, sino también recipientes tipo capa, recipientes multiestadio, botellas giratorias, botellas tipo centrífuga, recipientes de cultivo tipo bolsa, columnas de fibra perforada y similares.

Poner en contacto el péptido descrito anteriormente de la presente invención con las células presentadoras de antígeno *in vitro* se puede llevar a cabo por un método bien conocido. Por ejemplo, se puede llevar a cabo cultivando las células presentadoras de antígeno en un medio de cultivo que tiene el polipéptido descrito anteriormente. La concentración del péptido en el medio no está restringida, y habitualmente es de aproximadamente 1 µg/ml a 100 µg/ml, preferentemente de 5 µg/ml a 20 µg/ml. La densidad celular durante el cultivo no está restringida y es habitualmente de aproximadamente 10³ células/ml a 10⁷ células/ml preferentemente de aproximadamente 5 x 10⁴ células/ml a 5 x 10⁶ células/ml. El cultivo se puede llevar a cabo de acuerdo con un método convencional, y se lleva a cabo preferentemente a 37 °C bajo una atmósfera de un 5 % de CO₂. La longitud máxima del péptido que se puede presentar en la superficie de las células presentadoras de antígeno es habitualmente de 30 restos de aminoácidos. Por lo tanto, en los casos en los que las células presentadoras de antígeno se ponen en contacto con el polipéptido *in vitro*, el polipéptido se puede preparar de manera que su longitud no sea mayor de aproximadamente 30 restos de aminoácido.

Cultivando las células presentadoras de antígeno en coexistencia con el polipéptido descrito anteriormente, el polipéptido se incorpora en las moléculas del MHC de las células presentadoras de antígeno y se presenta en la superficie de las células presentadoras de antígeno. Por lo tanto, utilizando el polipéptido descrito anteriormente, se pueden preparar células presentadoras de antígeno aisladas que contienen el complejo entre el polipéptido y la molécula del MHC. Dichas células presentadoras de antígeno pueden presentar el polipéptido a las células T *in vivo* o *in vitro*, e inducir, y permitir la proliferación de, células T citotóxicas específicas para la polipéptido.

Al poner en contacto las células presentadoras de antígeno preparadas como se ha descrito anteriormente que tengan el complejo entre el polipéptido descrito anteriormente y la molécula del MHC con las células T *in vitro*, se pueden inducir células T citotóxicas específicas para el polipéptido y permitir que proliferen. Esto se puede llevar a cabo co-cultivando las células presentadoras de antígeno descritas anteriormente y las células T en un medio líquido. Por ejemplo, se puede conseguir suspendiendo las células presentadoras de antígeno en un medio líquido, colocando la suspensión en recipientes tales como pocillos de una microplaca, añadiendo células T a los mismos y después cultivando las células. La relación de mezcla de las células presentadoras de antígeno respecto a las células T en el co-cultivo no está restringida, y es habitualmente de 1:1 a 1:100, preferentemente aproximadamente de 1:5 a 1:20 en términos de número de células. La densidad de las células presentadoras de antígeno suspendidas en el medio líquido no está restringida, y es habitualmente de aproximadamente 100 a 10.000.000 células/ml, preferentemente de aproximadamente 10.000 a 1.000.000 células/ml. El co-cultivo se lleva a cabo preferentemente a 37 °C bajo una atmósfera con un 5 % de CO₂ de acuerdo con un método convencional. El tiempo de cultivo no está restringido, y es habitualmente de 2 días a 3 semanas, preferentemente de aproximadamente 4 días a 2 semanas. El co-cultivo se lleva a cabo preferentemente en presencia de una o más interleucinas tales como IL-2, IL-6, IL-7 e IL-12. En este caso, la concentración de IL-2 e IL-7 es habitualmente de aproximadamente 5 U/ml a 20

U/ml, la concentración de IL-6 es habitualmente de aproximadamente 500 U/ml a 2000 U/ml, y la concentración de IL-12 es habitualmente de aproximadamente 5 ng/ml a 20 ng/ml, pero la concentración de interleucinas no se restringe a estas. El co-cultivo descrito anteriormente se puede repetir una vez a varias veces. Las condiciones de cada co-cultivo pueden ser las mismas que se han descrito anteriormente.

5 Mediante el co-cultivo descrito anteriormente, se inducen células T citotóxicas específicas del polipéptido y se permite que proliferen. Por lo tanto, utilizando el polipéptido descrito anteriormente, se pueden preparar células T aisladas que se unan selectivamente al complejo entre el polipéptido y la molécula del MHC.

10 Como se describe en los Ejemplos posteriormente, los genes que codifican los polipéptidos de las SEQ ID NO: 2, 16, 26, 28 y 39 y las SEQ ID NO: 4, 18, 30 y 41 se expresan específicamente en células cancerosas y en testículos de perros y seres humanos, respectivamente. Por lo tanto, en las células cancerosas, existe un número significativamente más alto de polipéptidos de SEQ ID NO: 2, 16, 26, 28 y 39 o SEQ ID NO: 4, 18, 30 y 41 que en células normales. Cuando las células T citotóxicas preparadas como se describe anteriormente se administran a un cuerpo vivo mientras una parte de los polipéptidos que existen en las células cancerosas se presentan por las moléculas del MHC sobre las superficies de las células cancerosas, las células T citotóxicas pueden dañar las células cancerosas utilizando los polipéptidos presentados como marcadores. Como las células presentadoras de antígeno que presentan los polipéptidos descritos anteriormente pueden inducir, y permitir la proliferación de células T citotóxicas específicas para los polipéptidos también *in vivo*, también se pueden dañar las células cancerosas administrando las células presentadoras de antígeno a un cuerpo vivo. Es decir, las células T citotóxicas descritas anteriormente y las células presentadoras de antígeno descritas anteriormente preparadas utilizando el polipéptido descrito anteriormente también son eficaces como agentes terapéuticos y/o profilácticos para un cáncer(es).

25 En los casos en los que las células presentadoras de antígeno descritas anteriormente o las células T aisladas se van a administrar a un cuerpo vivo, se preparan preferentemente tratando las células presentadoras de antígeno o las células T recolectadas del paciente que se va a tratar con el polipéptido como se ha descrito anteriormente con el fin de evitar la respuesta inmunitaria en el cuerpo humano que ataque estas células como cuerpos extraños.

30 Las células presentadoras de antígeno o las células T se van a administrar preferentemente por medio de una vía de administración parenteral tal como la administración intravenosa o intra-arterial. La dosis se selecciona apropiadamente dependiendo del síntoma, el fin de la administración y similares, y es habitualmente de 1 célula a 10.000.000.000.000 células, preferentemente de 1.000.000 células a 1.000.000.000 células, cuya dosis se administra una vez por varios días a una vez por varias semanas. La formulación puede ser, por ejemplo, las células suspendidas en solución salina fisiológica tampón, y la formulación se puede utilizar en combinación con otras preparaciones anticáncer y/o citocinas. Además, se pueden añadir también uno o más aditivos bien conocidos en el campo de la formulación de agentes farmacéuticos.

40 También mediante la expresión del polinucleótido que codifica el polipéptido descrito anteriormente en el cuerpo del animal que se va a tratar, se puede inducir la producción de anticuerpos y células T citotóxicas en el cuerpo vivo, y se puede obtener un efecto comparable a la administración de un polipéptido. Es decir, el agente inductor de inmunidad de la presente invención puede ser el que comprende como ingrediente eficaz un vector recombinante que tiene un polinucleótido que codifica el polipéptido descrito anteriormente, cuyo vector recombinante es capaz de expresar el polipéptido en un cuerpo vivo. Dicho vector recombinante capaz de expresar un polipéptido antigénico también se llama vacuna genética. El vector que se utiliza para la producción de una vacuna genética no se restringe a condición de que sea un vector capaz de expresar un polipéptido en las células del animal que se va a tratar (preferentemente una célula de mamífero), y puede ser un vector plasmídico o un vector vírico, y se puede utilizar cualquier vector conocido en el campo de las vacunas genéticas. El polinucleótido tal como un ADN o ARN que codifica el polipéptido descrito anteriormente se puede preparar fácilmente, como se ha mencionado anteriormente, por un método convencional. La incorporación del polinucleótido en un vector se puede llevar a cabo utilizando un método bien conocido por los expertos en la técnica.

55 La vía de administración de la vacuna genética preferentemente es una vía parenteral tal como la administración intramuscular, subcutánea, intravenosa o intra-arterial, y la dosis se puede seleccionar apropiadamente dependiendo del tipo de antígeno y similares, y habitualmente es de aproximadamente 0,1 µg a 100 mg, preferentemente aproximadamente de 1 µg a 10 mg en términos de peso de vacuna genética por 1 kg de peso corporal.

60 Un vector vírico puede utilizarse en métodos en los que un polinucleótido que codifica el polipéptido descrito anteriormente se incorpora en un virus ARN o virus ADN tal como un retrovirus, adenovirus, virus adeno-asociado, herpes virus, virus vaccinia, poxvirus, poliovirus y virus Sindbis, y entonces el animal que se va a tratar se infecta por el virus resultante. Entre estos métodos, los que utilizan retrovirus, adenovirus, virus adeno-asociado, virus vaccinia o similares se prefieren especialmente.

65 Un plásmido de expresión puede utilizarse en métodos en los que se administra directamente por vía intramuscular (método de vacuna de ADN), el método del liposoma, método de lipofectina, método por microinyección, método de fosfato cálcico, método de electroporación, y similares, y el método de vacuna de ADN y el método de liposoma se prefieren especialmente.

Los métodos para hacer actualmente el gen que codifica el polipéptido descrito anteriormente de la presente invención que actúa como un agente farmacéutico incluyen el método *in vivo* en el que el gen se va a introducir en el cuerpo, y el método *ex vivo* en el que un tipo de células se recolectan del animal que se va a tratar, el gen se introduce en las células *ex vivo*, y entonces las células se devuelven al cuerpo (Nikkei Science, 1994, Abril, p. 20-45; The Pharmaceutical Monthly, 1994, Vol. 36, No. 1, p. 23-48; Experimental Medicine, Edición Extra, 1994, Vol. 12, Nº 15; y referencias citadas en estos papeles y similares). Es más preferido el método *in vivo*.

En los casos en los que el gen se va a administrar por el método *in vivo*, el gen puede administrarse mediante una vía de administración apropiada dependiendo de la enfermedad que se va a tratar, los síntomas y demás. Se puede administrar por ejemplo, por administración intravenosa, intra-arterial, subcutánea, intramuscular o similar. En los casos en los que el gen se va a administrar por el método *in vivo*, el gen se puede formular en una preparación tal como una solución, y en general, se formula en una solución para inyección o similar que contiene el ADN que codifica el péptido descrito anteriormente de la presente invención como ingrediente eficaz. Un vehículo(s) utilizado comúnmente se puede añadir si fuera necesario. En el caso de un liposoma o liposoma de fusión de membrana (virus Sendai (HVJ)-liposoma o similares) que contienen el ADN, el liposoma se puede formular en una preparación liposómica tal como una suspensión, una preparación congelada o una preparación congelada concentrada por centrifugación.

En la presente invención, "la secuencia de bases se muestra en la SEQ ID NO: 1" incluye no solo la secuencia de bases que se ha escrito expresamente en la SEQ ID NO: 1, sino también la secuencia complementaria de la misma. Por tanto, "un polinucleótido que tiene la secuencia de bases se muestra en la SEQ ID NO: 1" incluye un polinucleótido de cadena sencilla que tiene la secuencia de bases que se ha escrito expresamente en la SEQ ID NO: 1, un polinucleótido de cadena sencilla que tiene la secuencia de bases complementaria de la misma, y un polinucleótido de doble cadena compuesto de estos polinucleótidos de cadena sencilla. Cuando se preparan los polinucleótidos que codifican el polipéptido que se utiliza en la presente invención, cualquiera de estas secuencias de bases se debería seleccionar apropiadamente, y los expertos en la técnica pueden llevar a cabo fácilmente la selección.

Ejemplos

La presente invención se describirá ahora más concretamente por medio de Ejemplos.

Ejemplo A-1: Adquisición de un nuevo antígeno proteico del cáncer por el método SEREX

(1) Preparación de una biblioteca de ADNc

Se preparó el ARN total a partir de tejido testicular de un perro sano con el método del guanidinio ácido-fenol-cloroformo, y se purificó el ARN con poli(A) utilizando el kit de purificación de ARNm Oligotex-dT30 (fabricado por Takara Shuzo Co., Ltd.) de acuerdo con el protocolo adjunto al kit.

Utilizando el ARNm obtenido (5 µg), se sintetizó una biblioteca de fagos ADNc de testículo de perro. La preparación de la biblioteca de fagos ADNc se llevó a cabo utilizando un kit de síntesis de ADNc, Kit de síntesis ADNc-ZAP, y kit de clonación ZAP-ADNc Gigapack III Gold (fabricado por STRATAGENE) de acuerdo con los protocolos adjuntos al kit. El tamaño de la biblioteca de fagos ADNc era de $1,3 \times 10^6$ ufp/ml.

(2) Exploración de la biblioteca de ADNc con suero

Utilizando la biblioteca de fagos ADNc derivada de testículos de perro preparada como se ha descrito anteriormente, se llevó a cabo una inmunoexploración. Más particularmente, se infectaron células huésped de *E. coli* (XL 1-Blue MRF[']) con la biblioteca de manera que deberían aparecer 2.340 clones en una placa de agarosa NZY que tengan un tamaño de $\Phi 90 \times 15$ mm, y se cultivaron a 42 °C durante 3 a 4 horas para permitir el fago para formar placas. La placa se cubrió con una membrana de nitrocelulosa (Hybond C Extra: fabricada por GE Healthcare Bio-Science) impregnada con IPTG (isopropil-p-D-tiogalactósido) a 37 °C durante 4 horas para inducir y expresar proteínas, que se transfirieron de esta manera a la membrana. Posteriormente, la membrana se recuperó y se empapó en TPBS (10 mM Tris-HCl, 150 mM de NaCl; pH 7,5) que contenía un 0,5 % de leche en polvo desnatada, seguido por agitado a 4 °C durante una noche para suprimir las reacciones no específicas. Se permitió que el filtro reaccionara con el suero de un paciente canino diluido 500 veces a temperatura ambiente durante 2 a 3 horas.

Se utilizó como suero del paciente canino descrito anteriormente, el suero recolectado por pacientes caninos que padecen carcinoma de células escamosas. El suero se almacenó a -80 °C y se pre-trató inmediatamente antes de su uso. El método del pre-tratamiento del suero era el siguiente. Es decir, se infectaron las células huésped de *E. coli* (XL 1-Blue MRF[']) con el fago λ ZAP Express en el que no se había insertado ningún gen ajeno, y entonces se cultivó en una placa con medio NZY a 37 °C durante una noche. Posteriormente, se añadió el tampón de 0,2 M de NaHCO₃, pH 8,3 que contenía 0,5 M de NaCl a la placa, y se dejó en reposo la placa a 4 °C durante 15 horas, seguido por la recolección del sobrenadante como un extracto de *E. coli*/fago. A continuación, se permitió que el extracto *E. coli*/fago recolectado fluyera a través de una columna NHS (fabricada por GE Healthcare Bio-Science)

para inmovilizar las proteínas derivados de *E. coli*/fago en la misma. Se permitió que el suero de los pacientes caninos fluyera a través y reaccionara con esta columna con proteínas inmovilizada para retirar los anticuerpos adsorbidos sobre la *E. coli* y/o el fago. La fracción sérica que pasó a través de la columna estaba diluido 500 veces con TBS que contenía un 0,5 % de leche en polvo desnatada, y el diluyente resultante se utilizó como el material para la inmunoe exploración.

La membrana sobre la que se transfirieron el suero tratado de esta manera y la proteína de fusión descrita anteriormente se lavó cuatro veces con TBS-T (0,05 % Tween 20/TBS), y se le permitió que reaccionara con anti-IgG de perro de cabra (anti-IgG-h+I de perro conjugado con HRP: fabricado por BETHYL Laboratories) diluido 5000 veces con TBS que contenía un 0,5 % de leche en polvo desnatada como anticuerpo secundario a temperatura ambiente durante 1 hora, seguido por la detección por la reacción enzimática colorante utilizando la solución de reacción NBT/BCIP (fabricada por Roche). Se observaron las colonias en las posiciones donde eran positivas las reacciones coloreadas y se recuperaron de la placa de agarosa NZY las que tuvieran un tamaño de $\Phi 90 \times 15$ mm, y se disolvieron en 500 μ l de tampón SM (100 mM de NaCl, 10 mM de $MgClSO_4$, 50 mM de Tris-HCl, 0,01 % de gelatina; pH 7,5). La exploración se repitió como una segunda y tercera exploraciones de la misma manera que se ha descrito anteriormente hasta que se obtuvo una única colonia positiva a la reacción coloreada, aislando de esta manera un clon positivo tras la exploración de 30.940 clones de fagos reactivos con la IgG del suero.

(3) Búsqueda de homología del gen de antígeno aislado

Para someter el único clon positivo aislado por el método descrito anteriormente al análisis de secuencia de bases, se llevó a cabo una operación de conversión del vector fago a un vector plásmido. Más particularmente, se mezclaron 200 μ l de una solución preparada para contener una *E. coli* huésped (XL 1-Blue MRF') de manera que la DO_{600} debería ser de 1,0 con 100 μ l de una solución de fago purificado y además con 1 μ l de fago auxiliar ExAssist (fabricado por STRATAGENE), y se permitió que se produjera la reacción a 37 °C durante 15 minutos. A la mezcla de reacción se añadieron 3 ml de medio LB, y se cultivó la mezcla a 37 °C durante 2,5 a 3 horas, seguido por la incubación inmediata en un baño de agua a 70 °C durante 20 minutos. La mezcla se centrifugó entonces a 4 °C a 1000 x g durante 15 minutos, y se recuperó el sobrenadante como una solución de fagémidos. Posteriormente, se mezclaron 200 μ l de una solución preparada para que contuviera una *E. coli* huésped (SOLR) fagémido de manera que la absorbancia DO_{600} debería ser 1,0 con 10 μ l de una solución de fagos purificados, y se permitió que la reacción procediera a 37 °C durante 15 minutos. A continuación, se colocaron en placas 50 μ l de la mezcla de reacción se colocó en una placa que contenía un medio LB agar con ampicilina (concentración final: 50 μ g/ml), y se cultivó a 37 °C durante una noche. Una única colonia de la SOLR transformada se recuperó y se cultivó en medio LB que contenía ampicilina (concentración final: 50 μ g/ml) a 37 °C, seguido por la purificación del ADN plasmídico que tiene una inserción de interés utilizando el Kit plasmid Miniprep QIAGEN (fabricado por Qiagen).

El plásmido purificado se sometió a un análisis de la secuencia completa de la inserción por el método de cebador en avance utilizando el cebador T3 descrito en la SEQ ID NO: 5 y el cebador T7 descrito en la SEQ ID NO: 6. Mediante este análisis de secuencia, se obtuvo la secuencia genética descrita en la SEQ ID NO: 1. Utilizando la secuencia de bases y la secuencia de aminoácidos de este gen, se llevó a cabo la búsqueda de homología contra genes conocidos utilizando el programa de búsqueda de homología BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Como resultado, se reveló que el gen obtenido es el gen (Nº de registro XM_535343) que codifica una proteína (Nº de registro XP_535343) cuya función es desconocida. El factor homólogo humano de este gen era el gen (Nº de registro NM_152660) que codifica una proteína (Nº de registro NP_689873) cuya función también es desconocida (homología: secuencia de bases, un 93 %; secuencia de aminoácidos, un 99 %). La secuencia de bases del factor homólogo humano se muestra en la SEQ ID NO: 3, y la secuencia de aminoácidos del mismo se muestra en SEQ ID NO: 4.

(4) Análisis de expresión en cada tejido

La expresión del gen, que se obtiene por el método descrito anteriormente, en tejidos normales y en distintas líneas celulares de perros y seres humanos se investigó por el método RT-PCR (PCR de transcripción inversa). La reacción de transcripción inversa se llevó a cabo de la siguiente manera. Es decir, el ARN total se extrajo de 50 a 100 mg de cada tejido o de 5 a 10 x 10⁶ células de cada línea celular utilizando el reactivo TRIZOL (fabricado por Invitrogen) de acuerdo con el protocolo adjunto al kit. Utilizando este ARN total, se sintetizó el ADNc por el sistema de síntesis de primera-cadena Superscript para RT-PCR (fabricado por Invitrogen) de acuerdo con el protocolo adjunto al kit. Con respecto a los ADNc de tejidos humanos normales (cerebro, hipocampo, testículo, colon y placenta), se utilizaron el agrupamiento genético de ADNc (fabricado por Invitrogen), el ADNc QUICK-Clone (fabricado por CLONTECH) y la biblioteca de ADN de gran inserción (fabricado por CLONTECH). Las reacciones PCR se llevaron a cabo como sigue utilizando cebadores (descritos en las SEQ ID NO: 7 y 8) específicos para el gen canino obtenido y su gen homólogo humano. Es decir, se mezclaron los reactivos respectivos y el tampón adjunto de manera que la mezcla debería contener 0,25 μ l de la muestra preparada por la reacción de transcripción inversa, 2 mM de cada uno de los cebadores anteriores, 0,2 mM de cada uno de los dNTP, y 0,65 U de la polimerasa ExTaq (fabricada por Takara Shuzo Co., Ltd.) en un volumen total de 25 μ l, y la reacción se llevó a cabo con 30 ciclos de 94 °C durante 30 segundos, 55 °C durante 30 segundos y 72 °C durante 1 min utilizando el Thermal Cycler (fabricado por BIO RAD). Los cebadores específicos del gen que tienen las secuencias de bases que se

muestran en las SEQ ID NO: 7 y 8 descritos anteriormente eran los que amplifican las regiones de las bases 87^a a 606^a de la secuencia de bases de SEQ ID NO: 1 y las bases 173^a a 695^a de la secuencia de bases de SEQ ID NO: 3, y se puede utilizar para la investigación de la expresión de el gen canino y su gen homólogo humano. Como control para la comparación, se utilizaron simultáneamente cebadores (descritos en las SEQ ID NO: 9 y 10) específicos parara GAPDH. Como resultado, como se muestra en la Fig. 1, se observaba una fuerte expresión del gen canino obtenido en los testículos entre los tejidos normales de perro y por otra parte, se observó una fuerte expresión en la línea celular de cáncer de mama canino. La expresión del gen homólogo humano se confirmó, como en el caso del gen canino, solamente en los testículos entre los tejidos normales humanos pero la expresión se detectó en células de tumor cerebral, leucemia, cáncer de mama y células de cáncer de pulmón entre las líneas celulares. Por lo tanto, también se confirmó que el gen homólogo humano se expresa específicamente en los testículos y en células cancerosas.

En la Fig. 1, el número de referencia 1 en las ordenadas indica el patrón de expresión del gen identificado anteriormente, y el número de referencia 2 indica el patrón de expresión del gen *GAPDH* como control de comparación.

Ejemplo A-2: Preparación de nuevos antígenos proteicos del cáncer

(1) Preparación de la proteína recombinante

Basándose en el gen de SEQ ID NO: 1 obtenido en el Ejemplo A-1, se preparó una proteína recombinante por el siguiente método. Los reactivos respectivos y el tampón adjunto se mezclaron de manera que la mezcla debería contener 1 µl del vector que se preparó de la solución de fagémido obtenida en el Ejemplo A-1 y se sometió a análisis de secuencia, 0,4 mM de cada uno de los dos tipo de cebadores que tenían los sitios de restricción *NdeI* y *XhoI* (descritos en las SEQ ID NO: 11 y 12), 0,2 mM de dNTP y 1,25 U de polimerasa PrimeSTAR HS (fabricada por Takara Shuzo Co., Ltd.) en un volumen total de 50 µl, y se llevó a cabo la PCR con 30 ciclos de 98 °C durante 10 segundos, 55 °C durante 15 segundos y 72 °C durante 1 minuto utilizando el Thermal Cycler (fabricado por BIO RAD). Los dos tipos de cebadores descritos anteriormente eran los que amplifican la región que codifica la secuencia de aminoácidos completa de SEQ ID NO: 2. Después de la PCR, el ADN amplificado se sometió a electroforesis utilizando un 1 % de gel de agarosa y se purificó un fragmento de ADN de aproximadamente 930 pb utilizando el kit de extracción en gel QIAquick (fabricado por QIAGEN).

El fragmento de ADN purificado se ligó en un vector de clonación pCR-Blunt (fabricado por Invitrogen). Se transformó la *E. coli* con el resultante producto de la ligadura, y se recuperaron los plásmidos a continuación, seguido por la confirmación, por secuenciación, de que el fragmento de gen amplificado coincidía con la secuencia de interés. El plásmido que coincidía con la secuencia de interés se trató con las enzimas de restricción *NdeI* y *XhoI* y se purificó utilizando el Kit de extracción en gel QIAquick, seguido por la inserción de la secuencia genética de interés en el vector de expresión para *E. coli*, pET16b (fabricado por Novagen) que se había tratado con *NdeI* y *XhoI*. El uso de este vector hacía posible la producción de una proteína de fusión recombinante con marcador His. La *E. coli* para la expresión, BL21 (DE3), se transformó con este plásmido, y la expresión de la proteína de interés se indujo en *E. coli* con 1 mM de IPTG.

Por otra parte, basándose en el gen de SEQ ID NO: 3, se preparó una proteína recombinante del gen homólogo humano mediante el siguiente método. Los reactivos respectivos y el tampón adjunto se mezclaron de manera que la mezcla debería contener 1 µl del ADNc preparado en el Ejemplo A-1 cuya expresión se podía confirmar por el método RT-PCR en distintos tejidos/células, 0,4 mM de cada uno de los tipos de cebadores que tenían sitios de restricción *EcoRV* y *EcoRI* (descritos en las SEQ ID NO: 13 y 14), 0,2 mM de dNTP y 1,25 U de polimerasa PrimeSTAR HS (fabricada por Takara Shuzo Co., Ltd.) en un volumen total de 50 µl, y se llevó a cabo una PCR con 30 ciclos a 98 °C durante 10 segundos, 55 °C durante 15 segundos y 72 °C durante 1 minuto utilizando un Thermal Cycler (fabricado por BIO RAD). Los dos tipos de cebadores descritos anteriormente eran los que amplificaban la región que codifica la secuencia de aminoácidos completa de SEQ ID NO: 4. Después de la PCR, el ADN amplificado se sometió a electroforesis utilizando un 1 % de gel de agarosa, y se purificó un fragmento de ADN de aproximadamente 930 pb utilizando el kit de extracción en gel QIAquick (fabricado por QIAGEN).

El fragmento de ADN purificado se ligó en un vector de clonación pCR-Blunt (fabricado por Invitrogen). La *E. coli* se transformó con el producto resultante de la ligadura, y se recuperaron los plásmidos a continuación, seguido por la confirmación, por secuenciación, de que el fragmento de gen amplificado coincidía con la secuencia de interés. El plásmido que coincidía con la secuencia de interés se trató con las enzimas de restricción *EcoRV* y *EcoRI* y se purificó utilizando un Kit de extracción en gel QIAquick, seguido por la inserción de la secuencia genética de interés en un vector de expresión para *E. coli*, pET30a (fabricado por Novagen) que se había tratado con *EcoRV* y *EcoRI*. El uso de este vector hacía posible la producción de una proteína recombinante de fusión con marcador His. La *E. coli* para la expresión, BL21 (DE3), se transformó con este plásmido, y se indujo la expresión de la proteína de interés con 1 mM de IPTG.

65

(2) Purificación de la proteína recombinante

Las células de *E. coli* recombinantes que expresaban la SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 3, respectivamente, se cultivaron en 100 µg/ml de medio LB que contenía ampicilina a 37 °C hasta que la absorbancia a 600 nm alcanzaba aproximadamente 0,7, y entonces se añadió al mismo isopropil-P-D-1-tiogalactopiranosido de manera que su concentración final debería ser de 1 mM, seguido por el cultivo a 37 °C durante 4 horas. Posteriormente, las células se recolectaron por centrifugación a 4.800 rpm durante 10 minutos. El aglomerado de células se suspendió en solución salina tampón fosfato y adicionalmente se sometió a centrifugación a 4.800 rpm durante 10 minutos para lavar las células.

Las células se suspendieron en 50 mM de tampón Tris-HCl (pH 8,0) y se sometieron a sonicación en hielo. La solución de *E. coli* sonicada se centrifugó a 6.000 rpm durante 20 minutos para obtener el sobrenadante como fracción soluble y el precipitado como fracción insoluble.

La fracción insoluble se suspendió en 50 mM de tampón Tris-HCl (pH 8,0) y se centrifugó a 6.000 rpm durante 15 minutos. Esta operación se repitió dos veces y se llevó a cabo una operación de retirada de proteasas.

El resto se suspendió en hidrócloruro de guanidina 6 M, 50 M de tampón Tris-HCl (pH 8,0) que contenía cloruro sódico 0,15 M, y la suspensión resultante se dejó en reposo a 4 °C durante 20 horas para desnaturalizar las proteínas. A continuación, se centrifugó la suspensión a 6.000 rpm durante 30 minutos, y la fracción soluble obtenida se colocó en una columna con quelante de níquel preparada por un método convencional (vehículo: Fast Flow Sepharose Chelating (marca registrada) (GE Healthcare); volumen de columna: 5 ml; tampón de equilibración: hidrócloruro de guanidina 6 M, 50 M de tampón Tris-HCl, que contenía 0,15 M de cloruro sódico (pH 8,0)), seguido por un reposo a 4 °C durante una noche permitiendo la adsorción del vehículo de níquel quelado. Se recuperó el sobrenadante por centrifugación de este vehículo de la columna a 1.500 rpm durante 5 minutos, y el vehículo de la columna se suspendió en solución salina tampón fosfato, seguido por rellenado de la columna con la suspensión resultante.

La fracción que no se adsorbió a la columna se lavó con 10 volúmenes de columna de 0,1 M de tampón de acetato (pH 4,0) que contenía 0,5 M de cloruro sódico, y se llevó a cabo inmediatamente la elución con 0,1 M de tampón de acetato (pH 3,0) que contenía 0,5 M de cloruro sódico para obtener una fracción purificada, que se utilizó como material para los ensayos de administración a continuación. Las proteínas de interés en las fracciones eluidas respectivas se confirmaron por tinción de Coomassie llevada a cabo de acuerdo con un método convencional. Entre estas, la proteína canina de interés se muestra en la Fig. 2.

El tampón contenido en la preparación purificada obtenida por el método descrito anteriormente se sustituyó con un tampón de reacción (50 mM de Tris-HCl, 100 mM de NaCl, 5 mM de CaCl₂; pH 8,0) y se llevó a cabo la escisión del marcador His por la proteasa Factor Xa y la purificación de la proteína de interés, utilizando el kit de captura de escisión FactorXa (fabricado por Novagen), de acuerdo con los protocolos adjuntos al kit. Posteriormente, el tampón contenido en 1,2 ml de la preparación purificada obtenida por el método descrito anteriormente se sustituyó con tampón de fosfato fisiológico (fabricado por Nissui Pharmaceutical) por ultrafiltración utilizando NANOSEP 10K OMEGA (fabricado por PALL), y se utilizó en los siguientes experimentos.

Ejemplo A-3: Ensayo de Administración de una proteína recombinante a perros que albergan un cáncer

(1) Ensayo antitumoral

El efecto antitumoral de los dos tipos de proteínas recombinantes que se purificaron como se ha descrito anteriormente se evaluó en dos individuos caninos que albergaban un tumor, que tenían un tumor epidérmico (los 2 individuos tenían tumores de glándulas mamarias).

Se mezcló una cantidad igual de adyuvante incompleto de Freund (fabricado por Wako Pure Chemicals) con 100 µg (0,5 ml) de los polipéptidos recombinantes (derivados de perro y ser humano), respectivamente, para preparar dos tipos de agentes terapéuticos para un cáncer(es). Cada uno de estos agentes se administró en un ganglio linfático en la vecindad del tumor un total de 3 veces, llevando a cabo las administraciones posteriores a los 3 días y 7 días después de la primera administración. Como resultado los tumores con un tamaño de aproximadamente 25 mm³ y 50 mm³ en el momento de la administración de los agentes terapéuticos para un cáncer(es) (derivados de perro y ser humano), respectivamente, se redujeron en tamaño a 20 mm³ y 42 mm³, respectivamente, 10 días después de la primera administración; 13 mm³ y 26 mm³, respectivamente 20 días después de la primera administración; y a 5 mm³ y 10 mm³, respectivamente 30 días después de la primera administración.

Adicionalmente, se administró por vía intra-cutánea a un paciente canino que padecía un melanoma maligno, una mezcla de 100 µg (0,5 ml) del polipéptido descrito anteriormente derivado del perro y 0,5 ml de adyuvante incompleto de Freund en la periferia del tumor un total de 3 veces en los mismos intervalos descritos anteriormente. Además, simultáneamente a las respectivas administraciones, se administraron por vía subcutánea 10 mU de "Intercat" que es un interferón recombinante felino. Como resultado el tumor, con un tamaño de aproximadamente

142 mm³ en el momento de la administración del agente terapéutico para un cáncer(es) remitió completamente 29 días después de la primera administración.

Además, se administró a un paciente canino que padecía un adenocarcinoma nasal, una mezcla de 100 µg (0,5 ml) del polipéptido descrito anteriormente derivado del perro y 0,5 ml de adyuvante incompleto de Freund de la misma manera que se ha descrito anteriormente un total de 3 veces. Además, simultáneamente a las respectivas administraciones, se administraron 100 µg de interleucina-12 canina por vía subcutánea. Como resultado, el tumor con un tamaño de aproximadamente 57 mm³ en el momento de la administración del agente terapéutico para un cáncer(es) remitió completamente 14 días después de la primera administración.

(2) Ensayo de inducción de la inmunidad

Se obtuvo sangre del paciente canino en el que se obtuvo el efecto antitumoral en el ensayo de administración de (1) descrito anteriormente antes de la administración del agente terapéutico para un cáncer(es), y 10 días y 30 días después de la primera administración. Se aislaron las células mononucleares de sangre periférica de acuerdo con un método convencional, y usándolas en el ensayo ELISPOT para IFN γ , se ensayó la inducción de inmunidad de cada proteína recombinante administrada.

En una placa de 96 pocillos fabricada por Millipore (MultiScreen-IP, MAIPS 4510), se colocaron 100 µl/pocillo de etanol al 70 % y la placa se dejó en reposo durante 5 minutos, seguido por la retirada del etanol por aspiración. La placa se lavó con agua estéril y se colocaron 300 µl/pocillo de Bicarbonato sódico 200 mM (pH 8,2) en los mismos. Después de dejarlo en reposo durante 5 minutos se retiró el Bicarbonato Sódico por aspiración, y entonces la placa se lavó. Posteriormente, se colocaron 0,5 µl/pocillo de anticuerpo monoclonal anti-interferón γ canino (fabricado por R&D, clon 142529, MAB781) mezclado con 200 mM de Bicarbonato Sódico, y la placa se incubó a 37 °C durante una noche para inmovilizar el anticuerpo primario. Después de retirar el anticuerpo primario por aspiración, se añadieron a los pocillos 300 µl/pocillo de una solución bloqueante (un 1 % de BSA-5 % de sacarosa-200 mM de Bicarbonato Sódico (pH 8,2)), y la placa se incubó a 4 °C durante una noche para bloquear la placa. Después de retirar la solución bloqueante por aspiración se colocaron 300 µl/pocillo de medio RPMI que contenía un 10 % de suero fetal bovino (fabricado por Invitrogen) en los pocillos, y la placa se dejó en reposo durante 5 minutos, seguido por la retirada del medio por aspiración. Posteriormente, se colocaron en la placa 5 x 10⁵ células /pocillo de las células mononucleares de sangre periférica caninas suspendidas en medio RPMI que contenía un 10 % de suero fetal bovino, y se añadieron 10 µl/pocillo del polipéptido derivado de caninos o el polipéptido derivado de seres humanos utilizando en cada administración a las mismas, seguido por el cultivo de las células en condiciones de 37 °C y un 5 % de CO₂. Durante 24 horas, para permitir que los inmunocitos que pudieran existir en las células mononucleares de sangre periférica produjeran interferón γ . Después del cultivo, se retiró el medio, y los pocillos se lavaron 6 veces con una solución de lavado (un 0,1 % de Tween 20- 200 mM de Bicarbonato Sódico (pH 8,2). En cada pocillo se colocaron 100 µl de anticuerpo policlonal de conejo anti-perro diluido 1000 veces con la solución bloqueante descrita anteriormente, y la placa se incubó a 4 °C durante una noche. Después de lavar los pocillos 3 veces con la solución de lavado descrita anteriormente, se colocaron en cada pocillo 100 µl de anticuerpo anti-conejo marcado con HRP diluido 1000 veces con la solución bloqueante descrita anteriormente, y se permitió proceder la reacción a 37 °C durante 2 horas. Después de lavar los pocillos 3 veces con la solución de lavado descrita anteriormente, el resultado se coloreó con inmunotinción de Konica (fabricado por Konica), y los pocillos se lavaron con agua para parar la reacción. A continuación, se secó la membrana, y se hizo el recuento del número de puntos que aparecían utilizando el KS ELISPOT (fabricado por Carl Zeiss, Inc.).

Como resultado en el paciente canino al que se administró el polipéptido canino o el polipéptido humano, la muestra de células mononucleares de sangre periférica que se había extraído antes de la administración del polipéptido no presentaba puntos. Por otra parte, en el paciente canino al que se había administrado el polipéptido canino, las muestras de células mononucleares de sangre periférica extraídas 10 días y 30 días después de la administración presentaban 20 y 36 puntos, respectivamente. En el paciente en el que se había administrado el polipéptido humano, las muestras de células mononucleares de sangre periférica extraídas a los 10 días y 30 días después de la administración presentaban 24 y 36 puntos, respectivamente.

A partir de los resultados anteriores, se confirmó que se inducían inmunocitos que reaccionaban específicamente con la proteína recombinante administrada y que producían interferón γ y en todos los pacientes caninos a los que se había administrado la proteína recombinante, y se cree que el efecto anti-tumoral descrito en (1) se ejerció por inmunorreacciones en las que estaban implicados principalmente estos inmunocitos.

Ejemplo de referencia B-1: Adquisición del nuevo antígeno proteico del cáncer por el método SEREX

(1) Preparación de la biblioteca de ADNc

Se preparó el ARN total del tejido testicular de un perro sano por el método de guanidinio ácido-Fenol-Cloroformo y se purificó el ARN poli(A) utilizando el kit de purificación Oligotex-dT30 ARNm (fabricado por Takara Shuzo Co., Ltd.) de acuerdo con el protocolo adjunto al kit.

Utilizando el ARNm obtenido (5 µg), se sintetizó una biblioteca de fagos ADNc. La preparación de la biblioteca de fagos ADNc se llevó a cabo utilizando un kit de síntesis de ADNc, el kit de síntesis ZAP-ADNc, y el kit de clonación ZAP-cDNA Gigapack III Gold (fabricado por STRATAGENE) de acuerdo con los protocolos adjuntos a los kits. El tamaño de la biblioteca de fagos ADNc era de $1,3 \times 10^6$ ufp/ml.

5

(2) Exploración de la biblioteca de ADNc con suero

Utilizando la biblioteca de fagos ADNc derivada de testículo de perro preparada como se ha descrito anteriormente, se llevó a cabo la inmunoexploración. Más particularmente, se infectaron células de *E. coli* (XL 1-Blue MRF') con la biblioteca de manera que deberían aparecer 2.340 clones en una placa de agarosa NZY que tenía un tamaño de $\Phi 90 \times 15$ mm, y se cultivaron a 42 °C durante 3 a 4 horas para permitir al fago que formase placas. La placa se cubrió con una membrana de nitrocelulosa (Hybond C Extra: fabricada por GE Healthcare Bio-Science) impregnada con IPTG (isopropil-p-D-tiogalactósido) a 37 °C durante 4 horas para inducir y expresar las proteínas, que se transferían entonces a la membrana. Posteriormente se recuperó la membrana y se empapó en TBS (10 mM de Tris-HCl, 150 mM de NaCl; pH 7,5) que contenía un 0,5 % de leche en polvo desnatada, seguido por el agitado a 4 °C durante una noche para suprimir las reacciones no específicas. Se permitió que el filtro reaccionara con el suero del paciente canino diluido 500 veces a temperatura ambiente durante 2 a 3 horas.

Respecto al suero del paciente canino descrito anteriormente, se utilizó el suero recolectado de pacientes caninos que padecían un tumor proximal del ano. El suero se almacenó a -80 °C y se pre-trató inmediatamente antes de su uso. El método del pre-tratamiento era el siguiente. Es decir, se infectaron las células huésped de *E. coli* (XL 1-Blue MRF') con el fago λ ZAP Express en el que no se había insertado ningún gen ajeno, y entonces se cultivó en una placa con medio NZY a 37 °C durante una noche. Posteriormente, se añadió a la placa el tampón de 0,2 M de NaHCO₃, pH 8,3 que contenía 0,5 M de NaCl, y la placa se dejó en reposo a 4 °C durante 15 horas, seguido por la recolección del sobrenadante como extracto de *E. coli*/fago. A continuación, se permitió que el extracto *E. coli*/fago recolectado fluyera a través de una columna NHS (fabricada por GE Healthcare Bio-Science) para inmovilizar las proteínas derivadas de *E. coli*/fago en la misma. Se permitió que el suero de los pacientes caninos fluyera a través y reaccionara con esta columna de proteína inmovilizada para retirar los anticuerpos absorbidos en la *E. coli* y/o el fago. La fracción de suero que pasó a través de la columna estaba diluida 500 veces con TBS que contenía un 0,5 % de leche en polvo desnatada, y el diluyente resultante se utilizó como el material para la inmunoexploración.

La membrana sobre la cual el suero tratado de esta manera y la proteína de fusión descrita anteriormente se transfirieron se lavó 4 veces con TBS-T (0,05 % de Tween 20/TBS), y se permitió que reaccionara con anti-IgG de perro de cabra (anti-IgG-h+l de perro de cabra conjugado con HRP: fabricado por BETHYL Laboratories) diluido 5000 veces con TBS que contenía un 0,5 % de leche en polvo desnatada como un anticuerpos secundario a temperatura ambiente durante 1 hora, seguido por la detección por la reacción de coloración enzimática utilizando la solución de reacción NBT/BCIP (fabricada por Roche). Las colonias en las posiciones donde se observó la reacción de coloración era positiva se recuperaron de la placa de NZY agarosa que tiene un tamaño de $\Phi 90 \times 15$ mm, y se disolvieron en 500 µl de tampón SM (100 mM de NaCl, 10 mM de MgClSO₄, 50 mM de Tris-HCl, 0,01 % de gelatina; pH 7,5). Se repitió la exploración como una segunda y tercera exploración de la misma manera que se ha descrito anteriormente hasta que se obtenía una única colonia positiva a la reacción coloreada, aislando de esta manera un clon positivo después de la exploración de 30.940 clones de fago reactivos con la IgG del suero.

(3) Búsqueda de homología del gen antigénico aislado

Para someter el único clon positivo aislado por el método descrito anteriormente a un análisis de secuencia de bases, se llevó a cabo una operación de conversión del vector fago a un vector plasmídico. Más particularmente, se mezclaron 200 µl de una solución preparada para contener una *E. coli* huésped (XL 1-Blue MRF') de manera que la absorbancia a DO₆₀₀ debería ser 1,0 con 100 µl de una solución de fago purificado y adicionalmente con 1 µl del fago auxiliar ExAssist (fabricado por STRATAGENE), y se permitió que la reacción procediera a 37 °C durante 25 minutos. A la mezcla de reacción, se añadieron 3 ml de medio LB, y se cultivó la mezcla a 37 °C durante 2,5 a 3 horas, seguido por incubación inmediata en un baño de agua a 70 °C durante 20 minutos. La mezcla se centrifugó entonces a 4 °C a 1000 x g durante 15 minutos, y el sobrenadante se recuperó como una solución de fagémidos. Posteriormente, se mezclaron 200 µl de una solución preparada para contener una *E. coli* huésped fagémido (SOLR) de manera que la DO₆₀₀ debería ser de 1,0 con 10 µl de una solución de fagos purificados, y se permitió que procediera la reacción a 37 °C durante 15 minutos. A continuación, 50 µl de la mezcla de reacción se colocaron en una placa con medio LB agar que contenía ampicilina (concentración final: 50 µg/ml) a 37 °C durante una noche. Se recuperó una única colonia de SOLR transformadas y se cultivó en medio LB que contenía ampicilina (concentración final: 50 µg/ml) a 37 °C, seguido por purificación del ADN plasmídico que tiene una inserción de interés utilizando el kit QIAGEN plasmid Miniprep (fabricado por Qiagen).

El plásmido purificado se sometió a un análisis de la secuencia completa de la inserción por el método del cebador en avance utilizando el cebador T3 descrito en la SEQ ID NO: 5 y el cebador T7 descrito en la SEQ ID NO: 6. Mediante este análisis de secuencia, se obtuvo la secuencia genética descrita en la SEQ ID NO: 15. Utilizando la secuencia de bases y la secuencia de aminoácidos de este gen, se llevó a cabo una búsqueda de homología contra genes conocidos utilizando el programa de búsqueda de homología BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

65

Como resultado, se reveló que el gen obtenido es el gen de la calmegina. El factor homólogo humano del gen de la calmegina canina era el de calmegina humana (homología: secuencia de bases, 90 %; secuencia de aminoácidos, 89 %). La secuencia de bases de la calmegina humana se muestra en la SEQ ID NO: 17, y la secuencia de aminoácidos de la misma se muestra en la SEQ ID NO: 18.

- 5 (4) Análisis de expresión en cada tejido
- La expresión del gen, que se obtuvo por el método descrito anteriormente, en tejidos normales y en distintas líneas celulares de perros y seres humanos se investigó por el método RT-PCR (PCR de transcripción inversa). La reacción de transcripción inversa se llevó a cabo de la siguiente manera. Es decir, el ARN total se extrajo de 50 a 100 mg de cada tejido o de 5 a 10 x 10⁶ células de cada línea celular utilizando el reactivo TRIZOL (fabricado por Invitrogen) de acuerdo con el protocolo adjunto al kit. Utilizando este ARN total, se sintetizó el ADNc por el sistema de síntesis de primera-cadena Superscript para RT-PCR (fabricado por Invitrogen) de acuerdo con el protocolo adjunto al kit. Con respecto a los ADNc de tejidos humanos normales (cerebro, hipocampo, testículo, colon y placenta), se utilizaron el agrupamiento genético de ADNc (fabricado por Invitrogen), el ADNc QUICK-Clone (fabricado por CLONTECH) y la biblioteca de ADN de gran inserción (fabricado por CLONTECH). Las reacciones PCR se llevaron a cabo como sigue utilizando cebadores (descritos en las SEQ ID NO: 19 y 20) específicos para el gen obtenido. Es decir, se mezclaron los reactivos respectivos y el tampón adjunto de manera que la mezcla debería contener 0,25 µl de la muestra preparada por la reacción de transcripción inversa, 2 mM de cada uno de los cebadores anteriores, 0,2 mM de cada uno de los dNTP, y 0,65 U de la polimerasa ExTaq (fabricada por Takara Shuzo Co., Ltd.) en un volumen total de 25 µl, y la reacción se llevó a cabo con 30 ciclos de 94 °C durante 30 segundos, 55 °C durante 30 segundos y 72 °C durante 1 min utilizando el Thermal Cycler (fabricado por BIO RAD). Los cebadores específicos del gen eran los que amplifican las regiones de las bases 755^a a 1318^a de la secuencia de bases de SEQ ID NO: 15 (gen de la calmegina canina) y las bases 795^a a 1358^a de la secuencia de bases de SEQ ID NO: 17 (gen de la calmegina humana), y se puede utilizar para la investigación de la expresión tanto del gen de calmegina canino como del gen de calmegina humano. Como control para la comparación, se utilizaron simultáneamente cebadores (descritos en las SEQ ID NO: 9 y 10) específicos parara GAPDH. Como resultado, como se muestra en la Fig. 3, se observaba una fuerte expresión del gen de calmegina canino obtenido en los testículos entre los tejidos normales de perro y por otra parte, se observó una fuerte expresión en líneas celulares tumorales caninas. La expresión del gen de calmegina humano se confirmó, como en el caso del gen de calmegina canino, solamente en los testículos entre los tejidos normales humanos pero la expresión se detectó en células de tumor cerebral, leucemia y células de cáncer de esófago entre las líneas celulares. Por lo tanto, también se confirmó que el gen de calmegina humano se expresa específicamente en los testículos y en células cancerosas.
- 35 En la Fig. 3, el número de referencia 1 en las ordenadas indica el patrón de expresión del gen de la calmegina, y el número de referencia 2 indica el patrón de expresión del gen *GAPDH* como control de comparación.

Ejemplo de referencia B-2: Preparación de proteínas Calmegina canina y humana

- 40 (1) Preparación de la proteína recombinante
- Basándose en el gen de SEQ ID NO: 15 obtenido en el Ejemplo B-1, se preparó una proteína recombinante por el siguiente método. Los reactivos respectivos y el tampón adjunto se mezclaron de manera que la mezcla debería contener 1 µl del vector que se preparó de la solución de fagémido obtenida en el Ejemplo B-1 y se sometió a análisis de secuencia, 0,4 mM de cada uno de los dos tipo de cebadores que tenían los sitios de restricción *Bam*HI y *Eco*RI (descritos en las SEQ ID NO: 21 y 22), 0,2 mM de dNTP y 1,25 U de polimerasa PrimeSTAR HS (fabricada por Takara Shuzo Co., Ltd.) en un volumen total de 50 µl, y se llevó a cabo la PCR con 30 ciclos de 98 °C durante 10 segundos, 55 °C durante 15 segundos y 72 °C durante 2 minutos utilizando el Thermal Cycler (fabricado por BIO RAD). Los dos tipos de cebadores descritos anteriormente eran los que amplifican la región que codifica la secuencia de aminoácidos completa de SEQ ID NO: 16. Después de la PCR, el ADN amplificado se sometió a electroforesis utilizando un 1 % de gel de agarosa y se purificó un fragmento de ADN de aproximadamente 1,9 kpb utilizando el kit de extracción en gel QIAquick (fabricado por QIAGEN).
- El fragmento de ADN purificado se ligó en un vector de clonación pCR-Blunt (fabricado por Invitrogen). Se transformó la *E. coli* con el resultante producto de la ligadura, y se recuperaron los plásmidos a continuación, seguido por la confirmación, por secuenciación, de que el fragmento de gen amplificado coincidía con la secuencia de interés. El plásmido que coincidía con la secuencia de interés se trató con las enzimas de restricción *Bam*HI y *Eco*RI y se purificó utilizando el Kit de extracción en gel QIAquick, seguido por la inserción de la secuencia genética de interés en el vector de expresión para *E. coli*, pET16b (fabricado por Novagen) que se había tratado con *Bam*HI y *Eco*RI. El uso de este vector hacía posible la producción de una proteína de fusión recombinante con marcador His. La *E. coli* para la expresión, BL21 (DE3), se transformó con este plásmido, y la expresión de la proteína de interese se indujo en *E. coli* con 1 mM de IPTG.
- Por otra parte, basándose en el gen de SEQ ID NO: 17, se preparó una proteína recombinante del gen homólogo humano mediante el siguiente método. Los reactivos respectivos y el tampón adjunto se mezclaron de manera que la mezcla debería contener 1 µl del ADNc preparado en el Ejemplo B-1 cuya expresión se podía confirmar por el

- método RT-PCR en distintos tejidos/células, 0,4 mM de cada uno de los tipos de cebadores que tenían sitios de restricción *EcoRI* y *XhoI* (descritos en las SEQ ID NO: 23 y 24), 0,2 mM de dNTP y 1,25 U de polimerasa PrimeSTAR HS (fabricada por Takara Shuzo Co., Ltd.) en un volumen total de 50 µl, y se llevó a cabo una PCR con 30 ciclos a 98 °C durante 10 segundos, 55 °C durante 15 segundos y 72 °C durante 2 minutos utilizando un Thermal Cycler (fabricado por BIO RAD). Los dos tipos de cebadores descritos anteriormente eran los que amplificaban la región que codifica la secuencia de aminoácidos completa de SEQ ID NO: 18. Después de la PCR, el ADN amplificado se sometió a electroforesis utilizando un 1 % de gel de agarosa, y se purificó un fragmento de ADN de aproximadamente 1,9 kpb utilizando el kit de extracción en gel QIAquick (fabricado por QIAGEN).
- 10 El fragmento de ADN purificado se ligó en un vector de clonación pCR-Blunt (fabricado por Invitrogen). La *E. coli* se transformó con el producto resultante de la ligadura, y se recuperaron los plásmidos a continuación, seguido por la confirmación, por secuenciación, de que el fragmento de gen amplificado coincidía con la secuencia de interés. El plásmido que coincidía con la secuencia de interés se trató con las enzimas de restricción *EcoRI* y *XhoI* y se purificó utilizando un Kit de extracción en gel QIAquick, seguido por la inserción de la secuencia genética de interés en un vector de expresión para *E. coli*, pET30a (fabricado por Novagen) que se había tratado con *EcoRI* y *XhoI*. El uso de este vector hacía posible la producción de una proteína recombinante de fusión con marcador His. La *E. coli* para la expresión, BL21 (DE3), se transformó con este plásmido, y se indujo la expresión de la proteína de interés con 1 mM de IPTG.
- 20 (2) Purificación de la proteína recombinante
- Las células de *E. coli* recombinantes que expresaban la SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 17, respectivamente, se cultivaron en 30 µg/ml de medio LB que contenía kanamicina a 37 °C hasta que la absorbancia a 600 nm alcanzaba aproximadamente 0,7, y entonces se añadió al mismo isopropil-P-D-1-tiogalactopiranosido de manera que su concentración final debería ser de 1 mM, seguido por el cultivo a 37 °C durante 4 horas. Posteriormente, las células se recolectaron por centrifugación a 4.800 rpm durante 10 minutos. El aglomerado de células se suspendió en solución salina tampón fosfato y adicionalmente se sometió a centrifugación a 4.800 rpm durante 10 minutos para lavar las células.
- 30 El aglomerado obtenido de células de *E. coli* se suspendieron en 20 mM de tampón de fosfato (pH 7,0) y se sometieron a sonicación en hielo. La solución de *E. coli* sonicada se centrifugó a 6.000 rpm durante 20 minutos para obtener el sobrenadante como fracción soluble y el precipitado como fracción insoluble.
- 35 La fracción soluble se colocó en una columna de intercambio iónico (vehículo: SP Sepharose Fast Flow (marca registrada) (GE Healthcare); volumen de columna: 5 ml; tampón de equilibración: 20 mM de tampón fosfato (pH 7,0)). La columna se lavó con 10 volúmenes de columna de 20 mM de tampón de fosfato (pH 7,0), y se llevó a cabo la elución con un gradiente de densidad de sal de 20 mM de tampón fosfato que contenía 0,3 M-1,0 M de cloruro sódico (pH 7,0). Se recolectaron seis volúmenes de columna de la fracción eluída en cada etapa de elución.
- 40 Entre estas fracciones eluídas, la 1ª a 6ª fracciones eluídas con 20 mM de tampón fosfato que contenía 0,3 M de cloruro sódico (pH 7,0) y la 1ª fracción eluída con 20 mM de tampón de fosfato que contenía 1,0 de cloruro sódico (pH 7,0) se combinaron, y la solución resultante se sometió a purificación adicional por una columna secundaria.
- 45 Para la columna secundaria, se utilizó un vehículo de columna Bio gel HT Type II (BioRad). El volumen de columna era 5 ml. La columna se equilibró con 10 volúmenes de columna de 20 mM de tampón fosfato que contenía 0,3 M de cloruro sódico (pH 7,0), y las fracciones eluídas descritas anteriormente se colocaron en la columna. Las fracciones que no se adsorbieron a la columna se lavaron con 10 volúmenes de columna de 20 mM de tampón de fosfato que contenía 0,3 M de cloruro sódico (pH 7,0) y 0,1 de tampón fosfato (pH 7,0), y se llevó a cabo la elución con 0,2 M de tampón fosfato (pH 7,0) para obtener la fracción purificada, que se utilizó como material para los ensayos de administración a continuación. Las proteínas de interés de las fracciones eluídas se confirmaron por tinción de Coomassie llevada a cabo de acuerdo con un método convencional. Entre estas, la proteína calmegina canina se muestra en la Fig. 4.
- 50 Para 1 ml del tampón de reacción (20 mM de Tris-HCl, 50 mM de NaCl, 5 mM de CaCl₂; pH 7,4) se hicieron alícuotas de 200 µl de la preparación purificada obtenida por el método descrito anteriormente, y se añadieron 2 µl de enterocinasa (fabricada por Novagen) a la misma, dejándolo en reposo a continuación a temperatura ambiente durante una noche para escindir el marcador His. El producto resultante se purificó utilizando el Kit de captura de escisión de enterocinasa (Fabricado por Novagen) de acuerdo con los protocolos adjuntos al kit. Posteriormente, el tampón contenido en 1,2 ml de la preparación purificada obtenida por el método descrito anteriormente se sustituyó con tampón de fosfato fisiológico (fabricado por Nissui Pharmaceutical) por ultra-filtración utilizando NANOSEP 10K OMEGA (fabricado por PALL), y se utilizó en los siguientes experimentos.
- 60

Ejemplo de referencia B-3: Ensayo de Administración de una proteína recombinante a perros que albergan un cáncer

(1) Ensayo antitumoral

5 El efecto antitumoral de los dos tipos de proteínas recombinantes que se purificaron como se ha descrito anteriormente se evaluó en dos individuos caninos que albergaban un tumor, que tenían un tumor epidérmico (los 2 individuos tenían tumores de glándulas mamarias).

10 Se mezcló una cantidad igual de adyuvante incompleto de Freund (fabricado por Wako Pure Chemicals) con 100 µg (0,5 ml) de las proteínas recombinantes calmegina canina y calmegina humana, respectivamente, para preparar agentes terapéuticos para un cáncer(es). Cada uno de estos agentes se administró en un ganglio linfático en la vecindad del tumor un total de 3 veces, llevando a cabo las administraciones posteriores a los 3 días y 7 días después de la primera administración. Como resultado los tumores con un tamaño de aproximadamente 45 mm³ y 78 mm³, respectivamente, en el momento de la administración de los agentes terapéuticos, se redujeron a 27 mm³ y 46 mm³, respectivamente, 10 días después de la primera administración; 15 mm³ y 26 mm³, respectivamente, 20 días después de la primera administración; y a 7 mm³ y 15 mm³, respectivamente 30 días después de la primera administración.

20 Adicionalmente, se administró a un paciente canino que padecía un melanoma maligno, una mezcla de 100 µg (0,5 ml) de la proteína calmegina canina descrita anteriormente y 0,5 ml de adyuvante incompleto de Freund un total de 3 veces de la misma manera descrita anteriormente. Además, simultáneamente a las respectivas administraciones, se administraron por vía subcutánea 100 µg de interleucina 12 canina. Como resultado el tumor, con un tamaño de aproximadamente 38 mm³ en el momento de la administración del agente terapéutico remitió completamente 21 días después de la primera administración del agente terapéutico.

(2) Ensayo de inducción de la inmunidad

30 Se obtuvo sangre del paciente canino en el que se obtuvo el efecto antitumoral en el ensayo de administración de (1) descrito anteriormente antes de la administración del agente terapéutico para un cáncer(es), y 10 días y 30 días después de la primera administración. Se aislaron las células mononucleares de sangre periférica de acuerdo con un método convencional, y usándolas en el ensayo ELISPOT para IFN γ , se ensayó la inducción de inmunidad de cada proteína recombinante administrada.

35 En una placa de 96 pocillos fabricada por Millipore (MultiScreen-IP, MAIPS 4510), se colocaron 100 µl/pocillo de etanol al 70 % y la placa se dejó en reposo durante 5 minutos, seguido por la retirada del etanol por aspiración. La placa se lavó con agua estéril y se colocaron 300 µl/pocillo de Bicarbonato sódico 200 mM (pH 8,2) en los mismos. Después de dejarlo en reposo durante 5 minutos se retiró el Bicarbonato Sódico por aspiración, y entonces la placa se lavó. Posteriormente, se colocaron 0,5 µg/pocillo de anticuerpo monoclonal anti-interferón γ canino (fabricado por R&D, clon 142529, MAB781) mezclado con 200 mM de Bicarbonato Sódico, y la placa se incubó a 37 °C durante una noche para inmovilizar el anticuerpo primario. Después de retirar el anticuerpo primario por aspiración, se añadieron a los pocillos 300 µl/pocillo de una solución bloqueante (un 1 % de BSA-5 % de sacarosa-200 mM de Bicarbonato Sódico (pH 8,2)), y la placa se incubó a 4 °C durante una noche para bloquear la placa. Después de retirar la solución bloqueante por aspiración se colocaron 300 µl/pocillo de medio RPMI que contenía un 10 % de suero fetal bovino (fabricado por Invitrogen) en los pocillos, y la placa se dejó en reposo durante 5 minutos, seguido por la retirada del medio por aspiración. Posteriormente, se colocaron en la placa 5 x 10⁵ células /pocillo de las células mononucleares de sangre periférica caninas suspendidas en medio RPMI que contenía un 10 % de suero fetal bovino, y se añadieron a las mismas 10 µl/pocillo la proteína calmegina canina o calmegina humana que se utilizada en cada administración, seguido por el cultivo de las células en condiciones de 37 °C y un 5 % de CO₂ durante 24 horas, para permitir que los inmunocitos que pudieran existir en las células mononucleares de sangre periférica produjeran interferón γ . Después del cultivo, se retiró el medio, y los pocillos se lavaron 6 veces con una solución de lavado (un 0,1 % de Tween 20- 200 mM de Bicarbonato Sódico (pH 8,2)). En cada pocillo se colocaron 100 µl de anticuerpo policlonal de conejo anti-perro diluido 1000 veces con la solución bloqueante descrita anteriormente, y la placa se incubó a 4 °C durante una noche. Después de lavar los pocillos 3 veces con la solución de lavado descrita anteriormente, se colocaron en cada pocillo 100 µl de anticuerpo anti-conejo marcado con HRP diluido 1000 veces con la solución bloqueante descrita anteriormente, y se permitió proceder la reacción a 37 °C durante 2 horas. Después de lavar los pocillos 3 veces con la solución de lavado descrita anteriormente, el resultado se coloreó con inmunotinción de Konica (fabricado por Konica), y los pocillos se lavaron con agua para parar la reacción. A continuación, se secó la membrana, y se hizo el recuento del número de puntos que aparecían utilizando el KS ELISPOT (fabricado por Carl Zeiss, Inc., Alemania).

65 Como resultado, en cualquier paciente canino al que se administró calmegina canina o calmegina humana, la muestra de células mononucleares de sangre periférica que se había extraído antes de la administración no presentaba puntos. Por otra parte, en el paciente canino al que se había administrado la calmegina canina, las muestras de células mononucleares de sangre periférica extraídas 10 días y 30 días después de la administración presentaban 15 y 45 puntos, respectivamente. En el paciente canino en el que se había administrado la calmegina

humana, las muestras de células mononucleares de sangre periférica extraídas a los 10 días y 30 días después de la administración presentaban 12 y 39 puntos, respectivamente.

A partir de los resultados anteriores, se confirmó que se inducían inmunocitos que reaccionaban específicamente con la proteína recombinante administrada y que producían interferón γ , en todos los pacientes caninos a los que se había administrado la proteína recombinante, y se cree que el efecto anti-tumoral descrito en (1) se ejerció por inmunorreacciones en las que estaban implicados principalmente estos inmunocitos.

Ejemplo de referencia C-1: Adquisición del nuevo antígeno proteico del cáncer por el método SEREX

(1) Preparación de la biblioteca de ADNc

Se preparó el ARN total del tejido testicular de un perro sano por el método de guanidinio ácido-Fenol-Cloroformo y se purificó el ARN poli(A) utilizando el kit de purificación Oligotex-dT30 ARNm (fabricado por Takara Shuzo Co., Ltd.) de acuerdo con el protocolo adjunto al kit.

Utilizando el ARNm obtenido (5 μ g), se sintetizó una biblioteca de fagos ADNc. La preparación de la biblioteca de fagos ADNc se llevó a cabo utilizando un kit de síntesis de ADNc, el kit de síntesis ZAP-ADNc, y el kit de clonación ZAP-cDNA Gigapack III Gold (fabricado por STRATAGENE) de acuerdo con los protocolos adjuntos a los kits. El tamaño de la biblioteca de fagos ADNc era de $1,3 \times 10^6$ ufp/ml.

(2) Exploración de la biblioteca de ADNc con suero

Utilizando la biblioteca de fagos ADNc derivada de testículo de perro preparada como se ha descrito anteriormente, se llevó a cabo la inmunoexploración. Más particularmente, se infectaron células de *E. coli* (XL 1-Blue MRF') con la biblioteca de manera que deberían aparecer 2.340 clones en una placa de agarosa NZY que tenía un tamaño de $\Phi 90 \times 15$ mm, y se cultivaron a 42 °C durante 3 a 4 horas para permitir al fago que formase placas. La placa se cubrió con una membrana de nitrocelulosa (Hybond C Extra: fabricada por GE Healthcare Bio-Science) impregnada con IPTG (isopropil-p-D-tiogalactósido) a 37 °C durante 4 horas para inducir y expresar las proteínas, que se transferían entonces a la membrana. Posteriormente se recuperó la membrana y se empapó en TBS (10 mM de Tris-HCl, 150 mM de NaCl; pH 7,5) que contenía un 0,5 % de leche en polvo desnatada, seguido por el agitado a 4 °C durante una noche para suprimir las reacciones no específicas. Se permitió que el filtro reaccionara con el suero del paciente canino diluido 500 veces a temperatura ambiente durante 2 a 3 horas.

Respecto al suero del paciente canino descrito anteriormente, se utilizó el suero recolectado de pacientes caninos que padecían un tumor proximal del ano. El suero se almacenó a -80 °C y se pre-trató inmediatamente antes de su uso. El método del pre-tratamiento era el siguiente. Es decir, se infectaron las células huésped de *E. coli* (XL 1-Blue MRF') con el fago λ ZAP Express en el que no se había insertado ningún gen ajeno, y entonces se cultivó en una placa con medio NZY a 37 °C durante una noche. Posteriormente, se añadió a la placa el tampón de 0,2 M de NaHCO₃, pH 8,3 que contenía 0,5 M de NaCl, y la placa se dejó en reposo a 4 °C durante 15 horas, seguido por la recolección del sobrenadante como extracto de *E. coli*/fago. A continuación, se permitió que el extracto *E. coli*/fago recolectado fluyera a través de una columna NHS (fabricada por GE Healthcare Bio-Science) para inmovilizar las proteínas derivadas de *E. coli*/fago en la misma. Se permitió que el suero de los pacientes caninos fluyera a través y reaccionara con esta columna de proteína inmovilizada para retirar los anticuerpos adsorbidos en la *E. coli* y/o el fago. La fracción de suero que pasó a través de la columna estaba diluida 500 veces con TBS que contenía un 0,5 % de leche en polvo desnatada, y el diluyente resultante se utilizó como el material para la inmunoexploración.

La membrana sobre la cual el suero tratado de esta manera y la proteína de fusión descrita anteriormente se transfirieron se lavó 4 veces con TBS-T (0,05 % de Tween 20/TBS), y se permitió que reaccionara con anti-IgG de perro de cabra (anti-IgG-h+I de perro de cabra conjugado con HRP: fabricado por BETHYL Laboratories) diluido 5000 veces con TBS que contenía un 0,5 % de leche en polvo desnatada como un anticuerpos secundario a temperatura ambiente durante 1 hora, seguido por la detección por la reacción de coloración enzimática utilizando la solución de reacción NBT/BCIP (fabricada por Roche). Las colonias en las posiciones donde se observó la reacción de coloración era positiva se recuperaron de la placa de NZY agarosa que tiene un tamaño de $\Phi 90 \times 15$ mm, y se disolvieron en 500 μ l de tampón SM (100 mM de NaCl, 10 mM de MgClSO₄, 50 mM de Tris-HCl, 0,01 % de gelatina; pH 7,5). Se repitió la exploración como una segunda y tercera exploración de la misma manera que se ha descrito anteriormente hasta que se obtenía una única colonia positiva a la reacción coloreada, aislando de esta manera un clon positivo después de la exploración de 30.940 clones de fago reactivos con la IgG del suero.

(3) Búsqueda de homología del gen antigénico aislado

Para someter el único clon positivo aislado por el método descrito anteriormente a un análisis de secuencia de bases, se llevó a cabo una operación de conversión del vector fago a un vector plasmídico. Más particularmente, se mezclaron 200 μ l de una solución preparada para contener una *E. coli* huésped (XL 1-Blue MRF') de manera que la absorbancia a DO₆₀₀ debería ser 1,0 con 100 μ l de una solución de fago purificado y adicionalmente con 1 μ l del fago auxiliar ExAssist (fabricado por STRATAGENE), y se permitió que la reacción procediera a 37 °C durante 25

minutos. A la mezcla de reacción, se añadieron 3 ml de medio LB, y se cultivó la mezcla a 37 °C durante 2,5 a 3 horas, seguido por incubación inmediata en un baño de agua a 70 °C durante 20 minutos. La mezcla se centrifugó entonces a 4 °C a 1000 x g durante 15 minutos, y el sobrenadante se recuperó como una solución de fagémidos. Posteriormente, se mezclaron 200 µl de una solución preparada para contener una *E. coli* huésped fagémido (SOLR) de manera que la DO₆₀₀ debería ser de 1,0 con 10 µl de una solución de fagos purificados, y se permitió que procediera la reacción a 37 °C durante 15 minutos. A continuación, 50 µl de la mezcla de reacción se colocó en una placa con medio LB agar que contenía ampicilina (concentración final: 50 µg/ml) a 37 °C durante una noche. Se recolectó una única colonia de SOLR transformada y se cultivó en medio LB que contenía ampicilina (concentración final: 50 µg/ml) a 37 °C, seguido por purificación del ADN plasmídico que tiene una inserción de interés utilizando el kit QIAGEN plasmid Miniprep (fabricado por Qiagen).

El plásmido purificado se sometió a un análisis de la secuencia completa de la inserción por el método del cebador en avance utilizando el cebador T3 descrito en la SEQ ID NO: 5 y el cebador T7 descrito en la SEQ ID NO: 6. Mediante este análisis de secuencia, se obtuvo la secuencia genética descrita en la SEQ ID NO: 15. Utilizando la secuencia de bases y la secuencia de aminoácidos de este gen, se llevó a cabo una búsqueda de homología contra genes conocidos utilizando el programa de búsqueda de homología BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Como resultado, se reveló que el gen obtenido es el gen tenía un 99 % de homología (que se calculó solo en la región solapada con el gen *CEP* descrito en la SEQ ID NO: 27 en términos de secuencias de bases y de secuencia de aminoácidos, de manera que se juzgó que el gen era el gen *CEP*. El factor homólogo humano de la *CEP* canina era la *CEP* humana (homología respecto al gen *CEP* descrito en la SEQ ID NO: 25: secuencia de bases, 87 %; secuencia de aminoácidos, 84 %). La secuencia de bases del *CEP* humano se muestra en la SEQ ID NO: 29, y la secuencia de aminoácidos de la misma se muestra en la SEQ ID NO: 30.

(4) Análisis de expresión en cada tejido

La expresión del gen, que se obtuvo por el método descrito anteriormente, en tejidos normales y en distintas líneas celulares de perros y seres humanos se investigó por el método RT-PCR (PCR de transcripción inversa). La reacción de transcripción inversa se llevó a cabo de la siguiente manera. Es decir, el ARN total se extrajo de 50 a 100 mg de cada tejido o de 5 a 10 x 10⁶ células de cada línea celular utilizando el reactivo TRIZOL (fabricado por Invitrogen) de acuerdo con el protocolo adjunto al kit. Utilizando este ARN total, se sintetizó el ADNc por el sistema de síntesis de primera-cadena Superscript para RT-PCR (fabricado por Invitrogen) de acuerdo con el protocolo adjunto al kit. Con respecto a los ADNc de tejidos humanos normales (cerebro, hipocampo, testículo, colon y placenta), se utilizaron el agrupamiento genético de ADNc (fabricado por Invitrogen), el ADNc QUICK-Clone (fabricado por CLONTECH) y la biblioteca de ADN de gran inserción (fabricado por CLONTECH). Las reacciones PCR se llevaron a cabo como sigue utilizando cebadores (descritos en las SEQ ID NO: 31 y 32) específicos para el gen obtenido. Es decir, se mezclaron los reactivos respectivos y el tampón adjunto de manera que la mezcla debería contener 0,25 µl de la muestra preparada por la reacción de transcripción inversa, 2 mM de cada uno de los cebadores anteriores, 0,2 mM de cada uno de los dNTP, y 0,65 U de la polimerasa ExTaq (fabricada por Takara Shuzo Co., Ltd.) en un volumen total de 25 µl, y la reacción se llevó a cabo con 30 ciclos de 94 °C durante 30 segundos, 55 °C durante 30 segundos y 72 °C durante 1 min utilizando el Thermal Cycler (fabricado por BIO RAD). Los cebadores específicos del gen eran los que amplifican las regiones de las bases 4582^a a 5124^a de la secuencia de bases de SEQ ID NO: 25 y 27 (gen *CEP* canino) y las bases 4610^a a 5152^a de la secuencia de bases de SEQ ID NO: 29 (gen *CEP* humano), y se puede utilizar para la investigación de la expresión tanto del gen *CEP* canino como del gen *CEP* humano. Como control para la comparación, se utilizaron simultáneamente cebadores (descritos en las SEQ ID NO: 9 y 10) específicos para GAPDH. Como resultado, como se muestra en la Fig. 5, se observaba una fuerte expresión del gen *CEP* canino obtenido en los testículos entre los tejidos normales de perro y por otra parte, se observó una fuerte expresión en líneas celulares tumorales caninas. La expresión del gen *CEP* humano se confirmó, como en el caso del gen *CEP* canino, solamente en los testículos entre los tejidos normales humanos pero la expresión se detectó en células de tumor cerebral, leucemia y células de cáncer de esófago entre las líneas celulares, y especialmente, se observaba una fuerte expresión en la línea celular de leucemia. Por lo tanto, también se confirmó que el gen *CEP* humano se expresa específicamente en los testículos y en células cancerosas.

En la Fig. 5, el número de referencia 1 en las ordenadas indica el patrón de expresión del gen *CEP*, y el número de referencia 2 indica el patrón de expresión del gen *GAPDH* como control de comparación.

Ejemplo de referencia C-2: Preparación de *CEP* canina y humana

(1) Preparación de la proteína recombinante

Basándose en el gen de SEQ ID NO: 1 obtenido en el Ejemplo C-1, se preparó una proteína recombinante por el siguiente método. Los reactivos respectivos y el tampón adjunto se mezclaron de manera que la mezcla debería contener 1 µl del vector que se preparó de la solución de fagémido obtenida en el Ejemplo C-1 y se sometió a análisis de secuencia, 0,4 mM de cada uno de los dos tipo de cebadores que tenían los sitios de restricción *Bam*HI y *Sa*II (descritos en las SEQ ID NO: 33 y 34), 0,2 mM de dNTP y 1,25 U de polimerasa PrimeSTAR HS (fabricada por Takara Shuzo Co., Ltd.) en un volumen total de 50 µl, y se llevó a cabo la PCR con 30 ciclos de 98 °C durante 10 segundos, 55 °C durante 5 segundos y 72 °C durante 7 minutos utilizando el Thermal Cycler (fabricado por BIO

RAD). Los dos tipos de cebadores descritos anteriormente eran los que amplifican la región que codifica la secuencia de aminoácidos completa de SEQ ID NO: 26. Después de la PCR, el ADN amplificado se sometió a electroforesis utilizando un 1 % de gel de agarosa y se purificó un fragmento de ADN de aproximadamente 7,0 kpb utilizando el kit de extracción en gel QIAquick (fabricado por QIAGEN).

5 El fragmento de ADN purificado se ligó en un vector de clonación pCR-Blunt (fabricado por Invitrogen). Se transformó la *E. coli* con el resultante producto de la ligadura, y se recuperaron los plásmidos a continuación, seguido por la confirmación, por secuenciación, de que el fragmento de gen amplificado coincidía con la secuencia de interés. El plásmido que coincidía con la secuencia de interés se trató con las enzimas de restricción *Bam*HI y *Sal*I y se purificó utilizando el Kit de extracción en gel QIAquick, seguido por la inserción de la secuencia genética de interés en el vector de expresión para *E. coli*, pET16b (fabricado por Novagen) que se había tratado con *Bam*HI y *Sal*I. El uso de este vector hacía posible la producción de una proteína de fusión recombinante con marcador His. La *E. coli* para la expresión, BL21 (DE3), se transformó con este plásmido, y la expresión de la proteína de interés se indujo en *E. coli* con 1 mM de IPTG. De la misma manera, basándose en el gen de la SEQ ID NO: 27, utilizando el ADNc de testículos caninos como matriz y dos tipos de cebadores que tenían los sitios de restricción *Bam*HI y *Sal*I (SEQ ID NO: 33 y 35), se preparó una proteína recombinante del gen *CEP* canino registrado. Los dos tipos de cebadores descritos anteriormente eran los que amplificaban la región de aproximadamente 7,8 kpb que codifica la secuencia de aminoácidos completa de SEQ ID NO: 28.

20 Además, basándose en el gen de SEQ ID NO: 29, se preparó una proteína recombinante del gen homólogo humano mediante el siguiente método. Los reactivos respectivos y el tampón adjunto se mezclaron de manera que la mezcla debería contener 1 µl del ADNc preparado en el Ejemplo C-1 cuya expresión se podía confirmar por el método RT-PCR en distintos tejidos/células, 0,4 mM de cada uno de los tipos de cebadores que tenían sitios de restricción *Bam*HI y *Sal*I (descritos en las SEQ ID NO: 36 y 37), 0,2 mM de dNTP y 1,25 U de polimerasa PrimeSTAR HS (fabricada por Takara Shuzo Co., Ltd.) en un volumen total de 50 µl, y se llevó a cabo una PCR con 30 ciclos a 98 °C durante 10 segundos, 55 °C durante 5 segundos y 72 °C durante 7 minutos utilizando un Thermal Cycler (fabricado por BIO RAD). Los dos tipos de cebadores descritos anteriormente eran los que amplificaban la región que codifica la secuencia de aminoácidos completa de SEQ ID NO: 30. Después de la PCR, el ADN amplificado se sometió a electroforesis utilizando un 1 % de gel de agarosa, y se purificó un fragmento de ADN de aproximadamente 7,0 kpb utilizando el kit de extracción en gel QIAquick (fabricado por QIAGEN).

35 El fragmento de ADN purificado se ligó en un vector de clonación pCR-Blunt (fabricado por Invitrogen). La *E. coli* se transformó con el producto resultante de la ligadura, y se recuperaron los plásmidos a continuación, seguido por la confirmación, por secuenciación, de que el fragmento de gen amplificado coincidía con la secuencia de interés. El plásmido que coincidía con la secuencia de interés se trató con las enzimas de restricción *Bam*HI y *Sal*I y se purificó utilizando un Kit de extracción en gel QIAquick, seguido por la inserción de la secuencia genética de interés en un vector de expresión para *E. coli*, pET30a (fabricado por Novagen) que se había tratado con *Bam*HI y *Sal*I. El uso de este vector hacía posible la producción de una proteína recombinante de fusión con marcador His. La *E. coli* para la expresión, BL21 (DE3), se transformó con este plásmido, y se indujo la expresión de la proteína de interés con 1 mM de IPTG.

(2) Purificación de la proteína recombinante

45 Las células de *E. coli* recombinantes que expresaban la SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27 y SEQ ID NO: 29, respectivamente, se cultivaron en 30 µg/ml de medio LB que contenía kanamicina a 37 °C hasta que la absorbancia a 600 nm alcanzaba aproximadamente 0,7, y entonces se añadió al mismo isopropil-P-D-1-tiogalactopiranosido de manera que su concentración final debería ser de 1 mM, seguido por el cultivo a 30 °C durante 20 horas. Posteriormente, las células se recolectaron por centrifugación a 4.800 rpm durante 10 minutos. El aglomerado de células se suspendió en solución salina tampón fosfato y adicionalmente se sometió a centrifugación a 4.800 rpm durante 10 minutos para lavar las células.

55 Las células se suspendieron en solución salina de tampón de fosfato y se sometieron a sonicación en hielo. La solución de *E. coli* sonicada se centrifugó a 7000 rpm durante 20 minutos para obtener el sobrenadante como fracción soluble y el precipitado como fracción insoluble. La fracción insoluble se suspendió en un 4 % de solución de Triton X-100 y la suspensión resultante se centrifugó a 7000 rpm durante 20 minutos. Esta operación se repitió dos veces y se llevó a cabo una operación de retirada de proteasas. El resto se suspendió en 10 mM de Tris-HCl que contenía urea 8 M, 100 mM de tampón fosfato (al que se hace referencia de aquí en adelante como solución de urea 8 M) y una solución de un coctel de inhibidores de proteasa, y la suspensión resultante se dejó en reposo a 4 °C durante 20 horas para desnaturalizar las proteínas.

60 A continuación, se centrifugó la suspensión a 7.000 rpm durante 20 minutos, y la fracción soluble obtenida se colocó en una columna con quelante de níquel preparada por un método convencional (vehículo: Fast Flow Sepharose Chelating (marca registrada) (GE Healthcare); volumen de columna: 5 ml; tampón de equilibración: solución de urea 8 M), seguido por un reposo a 4 °C durante una noche. Se recuperó el sobrenadante por centrifugación de este vehículo de la columna a 1.500 rpm durante 5 minutos, y el vehículo de la columna se suspendió en solución salina tampón fosfato, seguido por rellenado de la columna con la suspensión resultante. La fracción que no se adsorbió a

la columna se lavó con 5 volúmenes de columna de solución de urea 8 M, 10 volúmenes de columna de 0,1 M de tampón de acetato que contenía 0,5 M de cloruro sódico (pH 5,0) y 20 mM de tampón fosfato que contenía 10 mM de imidazol (pH 8,0), y se llevó a cabo inmediatamente la elución con un gradiente de densidad de cinco etapas de 100 mM-500 mM de imidazol para obtener una fracción purificada, que se utilizó como material para los ensayos de administración a continuación. Las proteínas de interés en las fracciones eluidas respectivas se confirmaron por tinción de Coomasie llevada a cabo de acuerdo con un método convencional. Entre estas, la CEP canina recombinante descrita en la SEQ ID NO: 26 se muestra en la Fig. 6.

Para 1 ml del tampón de reacción (20 mM de Tris-HCl, 50 mM de NaCl, 2 mM de CaCl_2 ; pH 7,4) se hicieron alícuotas de 200 μl de la preparación purificada obtenida por el método descrito anteriormente, y se añadieron 2 μl de enterocinasa (fabricada por Novagen) a la misma, dejándolo en reposo a continuación a temperatura ambiente durante una noche para escindir el marcador His. El producto resultante se purificó utilizando el Kit de captura de escisión de enterocinasa (Fabricado por Novagen) de acuerdo con los protocolos adjuntos al kit. Posteriormente, el tampón contenido en 1,2 ml de la preparación purificada obtenida por el método descrito anteriormente se sustituyó con tampón de fosfato fisiológico (fabricado por Nissui Pharmaceutical) por ultra-filtración utilizando NANOSEP 10K OMEGA (fabricado por PALL), y la solución resultante se filtró asépticamente utilizando HT Tuffryn Acrodisc de 0,22 mm (fabricado por PALL) y se utilizó en los siguientes experimentos.

Ejemplo de referencia C-3: Ensayo de Administración de una proteína recombinante a perros que albergan un cáncer

(1) Ensayo antitumoral

El efecto antitumoral de los dos tipos de proteínas recombinantes que se purificaron como se ha descrito anteriormente se evaluó en dos individuos caninos que albergaban un tumor, que tenían un tumor epidérmico (los 2 individuos tenían tumores de glándulas mamarias).

Se mezcló una cantidad igual de adyuvante incompleto de Freund (fabricado por Wako Pure Chemicals) con 100 μg (0,5 ml) de cada una de CEP canina recombinante descrita en la SEQ ID NO: 26 y CEP humana purificadas como se ha descrito anteriormente para preparar agentes terapéuticos para un cáncer(es). Cada uno de estos agentes se administró en un ganglio linfático en la vecindad del tumor un total de 3 veces, llevando a cabo las administraciones posteriores a los 3 días y 7 días después de la primera administración. Como resultado los tumores con un tamaño de aproximadamente 87 mm^3 y 69 mm^3 en el momento de la administración de los agentes terapéuticos para un cáncer(es) (derivados de perro y ser humano), respectivamente, se redujeron en tamaño a 69 mm^3 y 56 mm^3 , respectivamente, 10 días después de la primera administración; 24 mm^3 y 31 mm^3 , respectivamente 20 días después de la primera administración; y a 10 mm^3 y 8 mm^3 , respectivamente 30 días después de la primera administración.

Adicionalmente, se administró a un paciente canino que padecía un adenocarcinoma mamario, una mezcla de 100 μg (0,5 ml) de la proteína CEP canina descrita en la SEQ ID NO: 26 con 0,5 ml de adyuvante incompleto de Freund un total de 3 veces de la misma manera descrita anteriormente. Además, simultáneamente a las respectivas administraciones, se administraron por vía subcutánea 10 mU de "Intercat" que es un interferón recombinante felino. Como resultado el tumor, con un tamaño de aproximadamente 126 mm^3 en el momento de la administración del agente terapéutico para un cáncer(es) remitió completamente 26 días después de la primera administración del agente terapéutico. De manera similar, en el caso en el que se utilizó la CEP canina descrita en la SEQ ID NO: 28, también se observó un efecto anti-tumoral en un perro que albergaba un cáncer.

Además, se administró a un paciente canino que padecía un mastocitoma, una mezcla de 100 μg (0,5 ml) de la proteína CEP canina descrita en la SEQ ID NO: 26 con 0,5 ml de adyuvante incompleto de Freund un total de 3 veces de la misma manera que se ha descrito anteriormente. Además, simultáneamente a las respectivas administraciones, se administraron 100 μg de interleucina-12 canina por vía subcutánea. Como resultado, el tumor con un tamaño de aproximadamente 83 mm^3 en el momento de la administración del agente terapéutico remitió completamente 18 días después de la primera administración del agente terapéutico.

(2) Ensayo de inducción de la inmunidad

Se obtuvo sangre del paciente canino en el que se obtuvo el efecto antitumoral en el ensayo de administración de (1) descrito anteriormente antes de la administración del agente terapéutico para un cáncer(es), y 10 días y 30 días después de la primera administración. Se aislaron las células mononucleares de sangre periférica de acuerdo con un método convencional, y usándolas en el ensayo ELISPOT para IFN γ , se ensayó la inducción de inmunidad de cada proteína recombinante administrada.

En una placa de 96 pocillos fabricada por Millipore (MultiScreen-IP, MAIPS 4510), se colocaron 100 μl /pocillo de etanol al 70 % y la placa se dejó en reposo durante 5 minutos, seguido por la retirada del etanol por aspiración. La placa se lavó con agua estéril y se colocaron 300 μl /pocillo de Bicarbonato sódico 200 mM (pH 8,2) en los mismos. Después de dejarlo en reposo durante 5 minutos se retiró el Bicarbonato Sódico por aspiración, y entonces la placa

- se lavó. Posteriormente, se colocaron 0,5 µl/pocillo de anticuerpo monoclonal anti-interferón γ canino (fabricado por R&D, clon 142529, MAB781) mezclado con 200 mM de Bicarbonato Sódico, y la placa se incubó a 37 °C durante una noche para inmovilizar el anticuerpo primario. Después de retirar el anticuerpo primario por aspiración, se añadieron a los pocillos 300 µl/pocillo de una solución bloqueante (un 1 % de BSA-5 % de sacarosa-200 mM de Bicarbonato Sódico (pH 8,2)), y la placa se incubó a 4 °C durante una noche para bloquear la placa. Después de retirar la solución bloqueante por aspiración se colocaron 300 µl/pocillo de medio RPMI que contenía un 10 % de suero fetal bovino (fabricado por Invitrogen) en los pocillos, y la placa se dejó en reposo durante 5 minutos, seguido por la retirada del medio por aspiración. Posteriormente, se colocaron en la placa 5×10^5 células /pocillo de las células mononucleares de sangre periférica caninas suspendidas en medio RPMI que contenía un 10 % de suero fetal bovino, y se añadieron a las mismas 10 µl/pocillo de la CEP canina descrita en la SEQ ID NO: 26 o la CEP humana que se utilizaron en cada administración, seguido por el cultivo de las células en condiciones de 37 °C y un 5 % de CO₂ durante 24 horas, para permitir que los inmunocitos que pudieran existir en las células mononucleares de sangre periférica produjeran interferón γ. Después del cultivo, se retiró el medio, y los pocillos se lavaron 6 veces con una solución de lavado (un 0,1 % de Tween 20- 200 mM de Bicarbonato Sódico (pH 8,2)). En cada pocillo se colocaron 100 µl de anticuerpo policlonal de conejo anti-canino diluido 1000 veces con la solución bloqueante descrita anteriormente, y la placa se incubó a 4 °C durante una noche. Después de lavar los pocillos 3 veces con la solución de lavado descrita anteriormente, se colocaron en cada pocillo 100 µl de anticuerpo anti-conejo marcado con HRP diluido 1000 veces con la solución bloqueante descrita anteriormente, y se permitió proceder la reacción a 37 °C durante 2 horas. Después de lavar los pocillos 3 veces con la solución de lavado descrita anteriormente, el resultado se coloreó con inmunotinción de Konica (fabricado por Konica), y los pocillos se lavaron con agua para parar la reacción. A continuación, se secó la membrana, y se llevó a cabo el procesamiento de imágenes de los pocillos, seguido por el recuento del número de células formadoras de puntos (SFC) utilizando el KS ELISPOT compact system (Carl Zeiss, Inc., Alemania).
- Como resultado en el paciente canino al que se administró la CEP canina descrita en la SEQ ID NO: 26 o la CEP humana, la muestra de células mononucleares de sangre periférica que se había extraído antes de la administración no presentaba puntos. Por otra parte, en el paciente canino al que se había administrado la CEP canina, las muestras de células mononucleares de sangre periférica extraídas 10 días y 30 días después de la administración presentaban 23 y 52 puntos, respectivamente. En el paciente canino en el que se había administrado la CEP humana, las muestras de células mononucleares de sangre periférica extraídas a los 10 días y 30 días después de la administración presentaban 19 y 49 puntos, respectivamente.

A partir de los resultados anteriores, se confirmó que se inducían inmunocitos que reaccionaban específicamente con la proteína recombinante administrada y que producían interferón γ en todos los pacientes caninos a los que se había administrado la proteína recombinante, y se cree que el efecto anti-tumoral descrito en (1) se ejerció por inmunorreacciones en las que estaban implicados principalmente estos inmunocitos.

Ejemplo de referencia D-1: Adquisición del nuevo antígeno proteico del cáncer por el método SEREX

(1) Preparación de la biblioteca de ADNc

Se preparó el ARN total del tejido testicular de un perro sano por el método de guanidinio ácido-Fenol-Cloroformo y se purificó el ARN poli(A) utilizando el kit de purificación Oligotex-dT30 ARNm (fabricado por Takara Shuzo Co., Ltd.) de acuerdo con el protocolo adjunto al kit.

Utilizando el ARNm obtenido (5 µg), se sintetizó una biblioteca de fagos ADNc. La preparación de la biblioteca de fagos ADNc se llevó a cabo utilizando un kit de síntesis de ADNc, el kit de síntesis ZAP-ADNc, y el kit de clonación ZAP-cDNA Gigapack III Gold (fabricado por STRATAGENE) de acuerdo con los protocolos adjuntos a los kits. El tamaño de la biblioteca de fagos ADNc era de $1,3 \times 10^6$ ufp/ml.

(2) Exploración de la biblioteca de ADNc con suero

Utilizando la biblioteca de fagos ADNc derivada de testículo de perro preparada como se ha descrito anteriormente, se llevó a cabo la inmunoexploración. Más particularmente, se infectaron células de *E. coli* (XL 1-Blue MRF') con la biblioteca de manera que deberían aparecer 2.340 clones en una placa de agarosa NZY que tenía un tamaño de $\Phi 90 \times 15$ mm, y se cultivaron a 42 °C durante 3 a 4 horas para permitir al fago que formase placas. La placa se cubrió con una membrana de nitrocelulosa (Hybond C Extra: fabricada por GE Healthcare Bio-Science) impregnada con IPTG (isopropil-p-D-tiogalactósido) a 37 °C durante 4 horas para inducir y expresar las proteínas, que se transferían entonces a la membrana. Posteriormente se recuperó la membrana y se empapó en TBS (10 mM de Tris-HCl, 150 mM de NaCl; pH 7,5) que contenía un 0,5 % de leche en polvo desnatada, seguido por el agitado a 4 °C durante una noche para suprimir las reacciones no específicas. Se permitió que el filtro reaccionara con el suero del paciente canino diluido 500 veces a temperatura ambiente durante 2 a 3 horas.

Respecto al suero del paciente canino descrito anteriormente, se utilizó el suero recolectado de pacientes caninos que padecían cáncer de mama. El suero se almacenó a -80 °C y se pre-trató inmediatamente antes de su uso. El método del pre-tratamiento era el siguiente. Es decir, se infectaron las células huésped de *E. coli* (XL 1-Blue MRF')

con el fago Λ ZAP Express en el que no se había insertado ningún gen ajeno, y entonces se cultivó en una placa con medio NZY a 37 °C durante una noche. Posteriormente, se añadió a la placa el tampón de 0,2 M de NaHCO₃, pH 8,3 que contenía 0,5 M de NaCl, y la placa se dejó en reposo a 4 °C durante 15 horas, seguido por la recolección del sobrenadante como extracto de *E. coli*/fago. A continuación, se permitió que el extracto *E. coli*/fago recolectado fluyera a través de una columna NHS (fabricada por GE Healthcare Bio-Science) para inmovilizar las proteínas derivadas de *E. coli*/fago en la misma. Se permitió que el suero de los pacientes caninos fluyera a través y reaccionara con esta columna de proteína inmovilizada para retirar los anticuerpos absorbidos en la *E. coli* y/o el fago. La fracción de suero que pasó a través de la columna estaba diluida 500 veces con TBS que contenía un 0,5 % de leche en polvo desnatada, y el diluyente resultante se utilizó como el material para la inmunoexploración.

La membrana sobre la cual el suero tratado de esta manera y la proteína de fusión descrita anteriormente se transfirieron se lavó 4 veces con TBS-T (0,05 % de Tween 20/TBS), y se permitió que reaccionara con anti-IgG de perro de cabra (anti-IgG-h+I de perro de cabra conjugado con HRP: fabricado por BETHYL Laboratories) diluido 5000 veces con TBS que contenía un 0,5 % de leche en polvo desnatada como un anticuerpo secundario a temperatura ambiente durante 1 hora, seguido por la detección por la reacción de coloración enzimática utilizando la solución de reacción NBT/BCIP (fabricada por Roche). Las colonias en las posiciones donde se observó la reacción de coloración era positiva se recuperaron de la placa de NZY agarosa que tiene un tamaño de $\Phi 90 \times 15$ mm, y se disolvieron en 500 μ l de tampón SM (100 mM de NaCl, 10 mM de MgClSO₄, 50 mM de Tris-HCl, 0,01 % de gelatina; pH 7,5). Se repitió la exploración como una segunda y tercera exploración de la misma manera que se ha descrito anteriormente hasta que se obtenía una única colonia positiva a la reacción coloreada, aislando de esta manera un clon positivo después de la exploración de 30.940 clones de fago reactivos con la IgG del suero.

(3) Búsqueda de homología del gen antigénico aislado

Para someter el único clon positivo aislado por el método descrito anteriormente a un análisis de secuencia de bases, se llevó a cabo una operación de conversión del vector fago a un vector plasmídico. Más particularmente, se mezclaron 200 μ l de una solución preparada para contener una *E. coli* huésped (XL 1-Blue MRF') de manera que la absorbancia a DO₆₀₀ debería ser 1,0 con 100 μ l de una solución de fago purificado y adicionalmente con 1 μ l del fago auxiliar ExAssist (fabricado por STRATAGENE), y se permitió que la reacción procediera a 37 °C durante 25 minutos. A la mezcla de reacción, se añadieron 3 ml de medio LB, y se cultivó la mezcla a 37 °C durante 2,5 a 3 horas, seguido por incubación inmediata en un baño de agua a 70 °C durante 20 minutos. La mezcla se centrifugó entonces a 4 °C a 1000 x g durante 15 minutos, y el sobrenadante se recuperó como una solución de fagémidos. Posteriormente, se mezclaron 200 μ l de una solución preparada para contener una *E. coli* huésped fagémido (SOLR) de manera que la DO₆₀₀ debería ser de 1,0 con 10 μ l de una solución de fagos purificados, y se permitió que procediera la reacción a 37 °C durante 15 minutos. A continuación, 50 μ l de la mezcla de reacción se colocaron en una placa con medio LB agar que contenía ampicilina (concentración final: 50 μ g/ml) a 37 °C durante una noche. Se recolectó una única colonia de SOLR transformada y se cultivó en medio LB que contenía ampicilina (concentración final: 50 μ g/ml) a 37 °C, seguido por purificación del ADN plasmídico que tiene una inserción de interés utilizando el kit QIAGEN plasmid Miniprep (fabricado por Qiagen).

El plásmido purificado se sometió a un análisis de la secuencia completa de la inserción por el método del cebador en avance utilizando el cebador T3 descrito en la SEQ ID NO: 5 y el cebador T7 descrito en la SEQ ID NO: 6. Mediante este análisis de secuencia, se obtuvo la secuencia genética descrita en la SEQ ID NO: 15. Utilizando la secuencia de bases y la secuencia de aminoácidos de este gen, se llevó a cabo una búsqueda de homología contra genes conocidos utilizando el programa de búsqueda de homología BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Como resultado, se reveló que el gen obtenido es el gen *TRIP11*. El factor homólogo humano del gen TRIP11 canino era el TRIP11 humano (homología: secuencia de bases, 88 %; secuencia de aminoácidos, 86 %). La secuencia de bases del TRIP11 humano se muestra en la SEQ ID NO: 40, y la secuencia de aminoácidos del mismo se muestra en la SEQ ID NO: 41.

(4) Análisis de expresión en cada tejido

La expresión del gen, que se obtuvo por el método descrito anteriormente, en tejidos normales y en distintas líneas celulares de perros y seres humanos se investigó por el método RT-PCR (PCR de transcripción inversa). La reacción de transcripción inversa se llevó a cabo de la siguiente manera. Es decir, el ARN total se extrajo de 50 a 100 mg de cada tejido o de 5 a 10 x 10⁶ células de cada línea celular utilizando el reactivo TRIZOL (fabricado por Invitrogen) de acuerdo con el protocolo adjunto al kit. Utilizando este ARN total, se sintetizó el ADNc por el sistema de síntesis de primera-cadena Superscript para RT-PCR (fabricado por Invitrogen) de acuerdo con el protocolo adjunto al kit. Con respecto a los ADNc de tejidos humanos normales (cerebro, hipocampo, testículo, colon y placenta), se utilizaron el agrupamiento genético de ADNc (fabricado por Invitrogen), el ADNc QUICK-Clone (fabricado por CLONTECH) y la biblioteca de ADN de gran inserción (fabricado por CLONTECH). Las reacciones PCR se llevaron a cabo como sigue utilizando cebadores (descritos en las SEQ ID NO: 42 y 43) específicos para el gen obtenido. Es decir, se mezclaron los reactivos respectivos y el tampón adjunto de manera que la mezcla debería contener 0,25 μ l de la muestra preparada por la reacción de transcripción inversa, 2 mM de cada uno de los cebadores anteriores, 0,2 mM de cada uno de los dNTP, y 0,65 U de la polimerasa ExTaq (fabricada por Takara Shuzo Co., Ltd.) en un volumen total de 25 μ l, y la reacción se llevó a cabo con 30 ciclos de 94 °C durante 30

segundos, 55 °C durante 30 segundos y 72 °C durante 1,5 minutos utilizando el Thermal Cycler (fabricado por BIO RAD). Los cebadores específicos del gen eran los que amplifican las regiones de las bases 1519^a a 2957^a de la secuencia de bases de SEQ ID NO: 38 (gen *TRIP11* canino) y las bases 1872^a a 3310^a de la secuencia de bases de SEQ ID NO: 40 (gen *TRIP11* humano), y se puede utilizar para la investigación de la expresión tanto del gen *TRIP11* canino como del gen *TRIP11* humano. Como control para la comparación, se utilizaron simultáneamente cebadores (descritos en las SEQ ID NO: 9 y 10) específicos para GAPDH. Como resultado, como se muestra en la Fig. 7, se observaba una fuerte expresión del gen *TRIP11* canino obtenido en los testículos entre los tejidos normales de perro y por otra parte, se observó una fuerte expresión en la línea celular de cáncer de mama canino. La expresión del gen humano se confirmó, como en el caso del gen *TRIP11* canino, solamente en los testículos entre los tejidos normales humanos pero la expresión se detectó en muchos tipos de líneas celulares tales como líneas celulares de tumor cerebral, leucemia, cáncer de mama, cáncer de pulmón y células de cáncer de esófago entre las líneas celulares de cáncer humano. Por lo tanto, también se confirmó que el gen *TRIP11* humano se expresa específicamente en los testículos y en células cancerosas.

En la Fig. 7, el número de referencia 1 en las ordenadas indica el patrón de expresión del gen *TRIP11*, y el número de referencia 2 indica el patrón de expresión del gen *GAPDH* como control de comparación.

Ejemplo de referencia D-2: Preparación de proteínas *TRIP11* caninas y humanas

(1) Preparación de la proteína recombinante

Basándose en el gen de SEQ ID NO: 38 obtenido en el Ejemplo D-1, se preparó una proteína recombinante por el siguiente método. Los reactivos respectivos y el tampón adjunto se mezclaron de manera que la mezcla debería contener 1 µl del vector que se preparó de la solución de fagémido obtenida en el Ejemplo D-1 y se sometió a análisis de secuencia, 0,4 mM de cada uno de los dos tipos de cebadores que tenían los sitios de restricción *Sall* y *XhoI* (descritos en las SEQ ID NO: 11 y 12), 0,2 mM de dNTP y 1,25 U de polimerasa PrimeSTAR HS (fabricada por Takara Shuzo Co., Ltd.) en un volumen total de 50 µl, y se llevó a cabo la PCR con 30 ciclos de 98 °C durante 10 segundos, 55 °C durante 5 segundos y 72 °C durante 6 minutos utilizando el Thermal Cycler (fabricado por BIO RAD). Los dos tipos de cebadores descritos anteriormente eran los que amplifican la región que codifica la secuencia de aminoácidos completa de SEQ ID NO: 39. Después de la PCR, el ADN amplificado se sometió a electroforesis utilizando un 1 % de gel de agarosa y se purificó un fragmento de ADN de aproximadamente 6,0 kpb utilizando el kit de extracción QIAquick Gel (fabricado por QIAGEN).

El fragmento de ADN purificado se ligó en un vector de clonación pCR-Blunt (fabricado por Invitrogen). Se transformó la *E. coli* con el resultante producto de la ligadura, y se recuperaron los plásmidos a continuación, seguido por la confirmación, por secuenciación, de que el fragmento de gen amplificado coincidía con la secuencia de interés. El plásmido que coincidía con la secuencia de interés se trató con las enzimas de restricción *Sall* y *XhoI* y se purificó utilizando el Kit de extracción QIAquick Gel, seguido por la inserción de la secuencia genética de interés en el vector de expresión para *E. coli*, pET16b (fabricado por Novagen) que se había tratado con *Sall* y *XhoI*. El uso de este vector hacía posible la producción de una proteína de fusión recombinante con marcador His. La *E. coli* para la expresión, BL21 (DE3), se transformó con este plásmido, y la expresión de la proteína de interés se indujo en *E. coli* con 1 mM de IPTG.

Además, basándose en el gen de SEQ ID NO: 40, se preparó una proteína recombinante del gen homólogo humano mediante el siguiente método. Los reactivos respectivos y el tampón adjunto se mezclaron de manera que la mezcla debería contener 1 µl del ADNc preparado en el Ejemplo D-1 cuya expresión se podía confirmar por el método RT-PCR en distintos tejidos/células, 0,4 mM de cada uno de los tipos de cebadores que tenían sitios de restricción *NdeI* y *KpnI* (descritos en las SEQ ID NO: 46 y 47), 0,2 mM de dNTP y 1,25 U de polimerasa PrimeSTAR HS (fabricada por Takara Shuzo Co., Ltd.) en un volumen total de 50 µl, y se llevó a cabo una PCR con 30 ciclos a 98 °C durante 10 segundos, 55 °C durante 5 segundos y 72 °C durante 6 minutos utilizando un Thermal Cycler (fabricado por BIO RAD). Los dos tipos de cebadores descritos anteriormente eran los que amplificaban la región que codifica la secuencia de aminoácidos completa de SEQ ID NO: 41. Después de la PCR, el ADN amplificado se sometió a electroforesis utilizando un 1 % de gel de agarosa, y se purificó un fragmento de ADN de aproximadamente 6,0 kpb utilizando el kit de extracción QIAquick Gel (fabricado por QIAGEN).

El fragmento de ADN purificado se ligó en un vector de clonación pCR-Blunt (fabricado por Invitrogen). La *E. coli* se transformó con el producto resultante de la ligadura, y se recuperaron los plásmidos a continuación, seguido por la confirmación, por secuenciación, de que el fragmento de gen amplificado coincidía con la secuencia de interés. El plásmido que coincidía con la secuencia de interés se trató con las enzimas de restricción *NdeI* y *KpnI* y se purificó utilizando un Kit de extracción QIAquick Gel, seguido por la inserción de la secuencia genética de interés en un vector de expresión para *E. coli*, pET30a (fabricado por Novagen) que se había tratado con *NdeI* y *KpnI*. El uso de este vector hacía posible la producción de una proteína recombinante de fusión con marcador His. La *E. coli* para la expresión, BL21 (DE3), se transformó con este plásmido, y se indujo la expresión de la proteína de interés con 1 mM de IPTG.

(2) Purificación de proteínas recombinantes

Las células de *E. coli* recombinantes obtenidas anteriormente que expresaban la SEQ ID NO: 38 y SEQ ID NO: 40, respectivamente, se cultivaron en 30 µg/ml de medio LB que contenía kanamicina a 37 °C hasta que la absorbancia a 600 nm alcanzaba aproximadamente 0,7, y entonces se añadió al mismo isopropil-P-D-1-tiogalactopiranosido de manera que su concentración final debería ser de 1 mM, seguido por el cultivo a 30 °C durante 20 horas. Posteriormente, las células se recolectaron por centrifugación a 4.800 rpm durante 10 minutos. El aglomerado de células se suspendió en solución salina tampón fosfato y adicionalmente se sometió a centrifugación a 4.800 rpm durante 10 minutos para lavar las células.

El aglomerado de células de *E. coli* obtenido se suspendió en solución salina tampón de fosfato y se sometió a sonicación en hielo. La solución de *E. coli* sonicada se centrifugó a 7.000 rpm durante 15 minutos para obtener el sobrenadante como fracción soluble y el precipitado como fracción insoluble.

La fracción insoluble se suspendió en una solución de Triton X-100 al 4 % y la suspensión resultante se centrifugó a 7.000 rpm durante 10 minutos. Esta operación se repitió dos veces y se llevó a cabo una operación de retirada de proteasas. A continuación, el resto se suspendió en solución salina tampón de fosfato y se llevó a cabo una operación de retirada del tensioactivo.

El residuo se suspendió en 20 mM de tampón de fosfato que contenía hidrocloreuro de guanidina 6 M (pH 8,0) y la suspensión resultante se dejó en reposo a 4 °C durante 20 horas para desnaturalizar las proteínas. A continuación, se centrifugó la suspensión a 7.000 rpm durante 20 minutos, y la fracción soluble obtenida se colocó en una columna con quelante de níquel preparada por un método convencional (vehículo: Fast Flow Sepharose Chelating (marca registrada) (GE Healthcare); volumen de columna: 5 ml; tampón de equilibración: 20 mM de tampón de fosfato que contenía hidrocloreuro de guanidina 6 M, (pH 8,0)). La fracción que no se adsorbió a la columna se lavó con 10 volúmenes de columna de 20 mM de tampón de fosfato que contenía hidrocloreuro de sodio 6 M (pH 8,0) y 20 mM de tampón de fosfato que contenía 10 mM de imidazol (pH 8,0), y se llevó a cabo inmediatamente la elución con un gradiente de densidad de cuatro etapas de 50 mM-500 mM de para obtener una fracción purificada, que se utilizó como material para los ensayos de administración a continuación. Las proteínas de interés en las fracciones eluidas se confirmaron por tinción de Coomassie llevada a cabo de acuerdo con un método convencional. Entre estas, la proteína TRIP11 canina se muestra en la Fig. 8.

Para 1 ml del tampón de reacción (20 mM de Tris-HCl, 50 mM de NaCl, 2 mM de CaCl₂; pH 7,4) se hicieron alícuotas de 200 µl de la preparación purificada obtenida por el método descrito anteriormente, y se añadieron 2 µl de enterocinasa (fabricada por Novagen) a la misma, dejándolo en reposo a continuación a temperatura ambiente durante una noche para escindir el marcador His. El producto resultante se purificó utilizando el Kit de captura de escisión de enterocinasa (Fabricado por Novagen) de acuerdo con los protocolos adjuntos al kit. Posteriormente, el tampón contenido en 1,2 ml de la preparación purificada obtenida por el método descrito anteriormente se sustituyó con tampón de fosfato fisiológico (fabricado por Nissui Pharmaceutical) por ultra-filtración utilizando NANOSEP 10K OMEGA (fabricado por PALL), y la solución resultante se filtró asépticamente utilizando HT Tuffryn Acrodisc de 0,22 mm (fabricado por PALL), y se utilizó en los siguientes experimentos.

Ejemplo de referencia D-3: Ensayo de Administración de una proteína recombinante a perros que albergan un cáncer

(1) Ensayo antitumoral

El efecto antitumoral de los dos tipos de proteínas recombinantes que se purificaron como se ha descrito anteriormente se evaluó en dos individuos caninos que albergaban un tumor, que tenían un tumor epidérmico (los 2 individuos tenían tumores de glándulas mamarias).

Se prepararon agentes terapéuticos para un cáncer(es) mezclando 0,5 ml de adyuvante incompleto de Freund (fabricado por Wako Pure Chemicals) con 100 µg (0,5 ml) de proteínas recombinantes TRIP11 canina y TRIP11 humano, respectivamente, purificadas como se ha descrito anteriormente. Cada uno de estos agentes se administró en un ganglio linfático en la vecindad del tumor un total de 3 veces, llevando a cabo las administraciones posteriores a los 3 días y 7 días después de la primera administración. como resultado los tumores con un tamaño de aproximadamente 75 mm³ y 102 mm³ en el momento de la administración de los agentes terapéuticos para un cáncer(es) (derivados de perro y ser humano), respectivamente, se redujeron en tamaño a 63 mm³ y 85 mm³, respectivamente, 10 días después de la primera administración; 35 mm³ y 42 mm³, respectivamente 20 días después de la primera administración; y a 15 mm³ y 19 mm³, respectivamente 30 días después de la primera administración del agente terapéutico para un cáncer(es).

Adicionalmente, se administró a un paciente canino que padecía un mastocitoma, una mezcla de 100 µg (0,5 ml) la proteína TRIP11 canina con 0,5 ml de adyuvante incompleto de Freund un total de 3 veces de la misma manera descrita anteriormente. Simultáneamente a las respectivas administraciones, se administraron 100 µg de interleucina-12 canina por vía subcutánea. Como resultado, el tumor con un tamaño de aproximadamente 165 mm³

en el momento de la administración del agente terapéutico para un cáncer(es) remitía completamente 23 días después de la primera administración del agente terapéutico.

(2) Ensayo de inducción de la inmunidad

5 Se recolectó sangre del paciente canino que padecía un tumor de glándula mamaria en el que se obtuvo el efecto antitumoral en el ensayo de administración de (1). Se aislaron las células mononucleares de sangre periférica de acuerdo con un método convencional, y usándolas en el ensayo ELISPOT para IFN γ , se ensayó la inducción de inmunidad de cada proteína recombinante administrada.

10 En una placa de 96 pocillos fabricada por Millipore (MultiScreen-IP, MAIPS 4510), se colocaron 100 μ l/pocillo de etanol al 70 % y la placa se dejó en reposo durante 5 minutos, seguido por la retirada del etanol por aspiración. La placa se lavó con agua estéril y se colocaron 300 μ l/pocillo de Bicarbonato sódico 200 mM (pH 8,2) en los mismos. Después de dejarlo en reposo durante 5 minutos se retiró el Bicarbonato Sódico por aspiración, y entonces la placa se lavó. Posteriormente, se colocaron 0,5 μ g/pocillo de anticuerpo monoclonal anti-interferón γ canino (fabricado por R&D, clon 142529, MAB781) mezclado con 200 mM de Bicarbonato Sódico, y la placa se incubó a 37 °C durante una noche para inmovilizar el anticuerpo primario. Después de retirar el anticuerpo primario por aspiración, se añadieron a los pocillos 300 μ l/pocillo de una solución bloqueante (un 1 % de BSA-5 % de sacarosa-200 mM de Bicarbonato Sódico (pH 8,2)), y la placa se incubó a 4 °C durante una noche para bloquear la placa. Después de retirar la solución bloqueante por aspiración se colocaron 300 μ l/pocillo de medio RPMI que contenía un 10 % de suero fetal bovino (fabricado por Invitrogen) en los pocillos, y la placa se dejó en reposo durante 5 minutos, seguido por la retirada del medio por aspiración. Posteriormente, se colocaron en la placa 5×10^5 células /pocillo de las células mononucleares de sangre periférica caninas suspendidas en medio RPMI que contenía un 10 % de suero fetal bovino, y se añadieron 10 μ l/pocillo de la proteína TRIP11 canina o la TRIP11 humana que se utilizaba en cada administración a las mismas, seguido por el cultivo de las células en condiciones de 37 °C y un 5 % de CO $_2$ durante 24 horas, para permitir que los inmunocitos que pudieran existir en las células mononucleares de sangre periférica produjeran interferón γ . Después del cultivo, se retiró el medio, y los pocillos se lavaron 6 veces con una solución de lavado (un 0,1 % de Tween 20- 200 mM de Bicarbonato Sódico (pH 8,2)). En cada pocillo se colocaron 100 μ l de anticuerpo policlonal de conejo anti-perro diluido 1000 veces con la solución bloqueante descrita anteriormente, y la placa se incubó a 4 °C durante una noche. Después de lavar los pocillos 3 veces con la solución de lavado descrita anteriormente, se colocaron en cada pocillo 100 μ l de anticuerpo anti-conejo marcado con HRP diluido 1000 veces con la solución bloqueante descrita anteriormente, y se permitió proceder la reacción a 37 °C durante 2 horas. Después de lavar los pocillos 3 veces con la solución de lavado descrita anteriormente, el resultado se coloreó con inmunotinción de Konica (fabricado por Konica), y los pocillos se lavaron con agua para parar la reacción. A continuación, se secó la membrana, y se llevó a cabo el procesamiento de imágenes de los pocillos, seguido por el recuento del número de células formadoras de puntos (SFC) utilizando el KS ELISPOT compact system (fabricado por Carl Zeiss, Inc., Alemania).

40 Como resultado, en el paciente canino al que se administró la proteína TRIP11 canina o la proteína TRIP11 humana, la muestra de células mononucleares de sangre periférica que se había extraído antes de la administración no presentaba puntos. Por otra parte, en el paciente canino al que se había administrado la TRIP11 canina, las muestras de células mononucleares de sangre periférica extraídas 10 días y 30 días después de la administración presentaban 26 y 65 puntos, respectivamente. En el paciente canino en el que se había administrado la TRIP11 humana, las muestras de células mononucleares de sangre periférica extraídas a los 10 días y 30 días después de la administración presentaban 31 y 72 puntos, respectivamente.

50 A partir de los resultados anteriores, se confirmó que se inducían inmunocitos que reaccionaban específicamente con la proteína recombinante administrada y que producían interferón γ en todos los pacientes caninos a los que se había administrado la proteína recombinante, y se cree que el efecto anti-tumoral descrito en (1) descrito anteriormente se ejerció por inmunorreacciones en las que estaban implicados principalmente estos inmunocitos.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 55 <110> TORAY INDUSTRIES, INC.
- <120> Agente inductor de inmunidad
- <130> PF381-PCT
- 60 <160> 47
- <170> PatentIn versión 3.1
- <210> 1
- 65 <211> 1508
- <212> ADN

ES 2 660 414 T3

<213> *Canis familiaris*

<220>

<221> CDS

5 <222> (17)..(937)

<223>

<400> 1

```

gcgggcccggg cgggac atg gcg gcg ctc tac gcc tgc acc aag tgc cac cag      52
                Met Ala Ala Leu Tyr Ala Cys Thr Lys Cys His Gln
                1                    5                    10

cgc ttc ccc ttc gag gcg ctg tct cag ggg cag cag ctg tgc aag gaa      100
Arg Phe Pro Phe Glu Ala Leu Ser Gln Gly Gln Gln Leu Cys Lys Glu
                15                    20                    25

tgt cgg att gca cac cct gtt gtg aag tgc acc tac tgt aga act gag      148
Cys Arg Ile Ala His Pro Val Val Lys Cys Thr Tyr Cys Arg Thr Glu
                30                    35                    40

tac cag caa gag agt aaa acc aat aca ata tgc aaa aaa tgt gct cag      196
Tyr Gln Gln Glu Ser Lys Thr Asn Thr Ile Cys Lys Lys Cys Ala Gln
                45                    50                    55                    60

aat gtg cag tta tat gga acg ccc aaa cct tgt cag tac tgc aac ata      244
Asn Val Gln Leu Tyr Gly Thr Pro Lys Pro Cys Gln Tyr Cys Asn Ile
                65                    70                    75

att gca gca ttt att ggc aac aaa tgc cag cga tgc acg aat tca gag      292
Ile Ala Ala Phe Ile Gly Asn Lys Cys Gln Arg Cys Thr Asn Ser Glu
                80                    85                    90

aag aag tat gga cca cca tat tca tgt gaa cag tgt aaa caa cag tgt      340
Lys Lys Tyr Gly Pro Pro Tyr Ser Cys Glu Gln Cys Lys Gln Gln Cys
                95                    100                    105

gca ttt gac agg aaa gat gat aga aag aag gta gat ggg aaa ttg ctg      388
Ala Phe Asp Arg Lys Asp Asp Arg Lys Lys Val Asp Gly Lys Leu Leu
                110                    115                    120

tgt tgg ctg tgc aca ctt tca tac aaa cgg gtc ctt caa aag acc aaa      436
Cys Trp Leu Cys Thr Leu Ser Tyr Lys Arg Val Leu Gln Lys Thr Lys
                125                    130                    135                    140

gag cag agg aaa cat ctg agc agc tct tcc cgt gcc agc cac cag gag      484
Glu Gln Arg Lys His Leu Ser Ser Ser Ser Arg Ala Ser His Gln Glu
                145                    150                    155

```

10

ES 2 660 414 T3

aag gaa cag tat cga ctg agt ggt ggc agc cat tat aac agc cag aaa 532
Lys Glu Gln Tyr Arg Leu Ser Gly Gly Ser His Tyr Asn Ser Gln Lys
160 165 170

aca ctt tct acg tct tca att caa aat gaa atc cca aag aaa aaa tcc 580
Thr Leu Ser Thr Ser Ser Ile Gln Asn Glu Ile Pro Lys Lys Lys Ser
175 180 185

aag ttt gag tca atc aca act aat gga gac agc ttt tcc cca gac ctg 628
Lys Phe Glu Ser Ile Thr Thr Asn Gly Asp Ser Phe Ser Pro Asp Leu
190 195 200

gct ctg gac tca cca ggc act gac cac ttt gtc atc att gcc cag ctg 676
Ala Leu Asp Ser Pro Gly Thr Asp His Phe Val Ile Ile Ala Gln Leu
205 210 215 220

aag gaa gaa gtg gcc act ttg aag aag atg ctg cat caa aag gat caa 724
Lys Glu Glu Val Ala Thr Leu Lys Lys Met Leu His Gln Lys Asp Gln
225 230 235

atg att tta gag aaa gag aag aag atc aca gag ttg aag gct gat ttt 772
Met Ile Leu Glu Lys Glu Lys Lys Ile Thr Glu Leu Lys Ala Asp Phe
240 245 250

caa tac caa gaa tct cag atg aga gcc aaa atg aac cag atg gag aaa 820
Gln Tyr Gln Glu Ser Gln Met Arg Ala Lys Met Asn Gln Met Glu Lys
255 260 265

act cac aaa gaa gtc aca gag caa ttg cag gcc aaa aac cga gaa ctc 868
Thr His Lys Glu Val Thr Glu Gln Leu Gln Ala Lys Asn Arg Glu Leu
270 275 280

ctg aag cag gca gct gcc ttg tcc aag agc aag aag tca gag aag tca 916
Leu Lys Gln Ala Ala Ala Leu Ser Lys Ser Lys Lys Ser Glu Lys Ser
285 290 295 300

gga gct ata act tct cca tga gagaccataa ggaggcttcc agccacagca 967
Gly Ala Ile Thr Ser Pro
305

aaggggtttc ctgggttagg gttggtggcc tggctggtat ctgggaattg cccacgctcc 1027

cggaagggc ctgtcccagt cggctctgcc ctaccgccgc agcgtcccca cctggctgaa 1087

gctgacgtcc gacgacgtga aggagcagat ctacaaactg gccaagaagg gtctgactcc 1147

ctcgcagatc ggtgtgatcc tgagagactc ccatggtgtt gcacaagtac gttttgtgac 1207

aggcaataaa atcttgagaa ttcttaagtc caagggactt gcacctgatc tccctgagga 1267

tctgtacat ttgattaaga aagctgttgc tgttcgaaaag catcttgaga ggaacagaaa 1327

ggataaggat gccaaattcc gactgattct gattgagagc cgtattcacc gattggctcg 1387

atattataag accaaaagag ttctccctcc caattggaaa tacgagtcac ccacagcctc 1447

tgccctggtc gcataaattt ggctatgtac tcaagcaata aaatcattgt ctactagaaa 1507

a 1508

<210> 2
<211> 306

ES 2 660 414 T3

<212> PRT
 <213> *Canis familiaris*

<400> 2

5

Met Ala Ala Leu Tyr Ala Cys Thr Lys Cys His Gln Arg Phe Pro Phe
 1 5 10 15

Glu Ala Leu Ser Gln Gly Gln Gln Leu Cys Lys Glu Cys Arg Ile Ala
 20 25 30

His Pro Val Val Lys Cys Thr Tyr Cys Arg Thr Glu Tyr Gln Gln Glu
 35 40 45

Ser Lys Thr Asn Thr Ile Cys Lys Lys Cys Ala Gln Asn Val Gln Leu
 50 55 60

Tyr Gly Thr Pro Lys Pro Cys Gln Tyr Cys Asn Ile Ile Ala Ala Phe
 65 70 75 80

Ile Gly Asn Lys Cys Gln Arg Cys Thr Asn Ser Glu Lys Lys Tyr Gly
 85 90 95

Pro Pro Tyr Ser Cys Glu Gln Cys Lys Gln Gln Cys Ala Phe Asp Arg
 100 105 110

Lys Asp Asp Arg Lys Lys Val Asp Gly Lys Leu Leu Cys Trp Leu Cys
 115 120 125

Thr Leu Ser Tyr Lys Arg Val Leu Gln Lys Thr Lys Glu Gln Arg Lys
 130 135 140

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

Arg Leu Ser Gly Gly Ser His Tyr Asn Ser Gln Lys Thr Leu Ser Thr
 165 170 175

Ser Ser Ile Gln Asn Glu Ile Pro Lys Lys Lys Ser Lys Phe Glu Ser
 180 185 190

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

Pro Gly Thr Asp His Phe Val Ile Ile Ala Gln Leu Lys Glu Glu Val
 210 215 220

Ala Thr Leu Lys Lys Met Leu His Gln Lys Asp Gln Met Ile Leu Glu
 225 230 235 240

ES 2 660 414 T3

Lys Glu Lys Lys Ile Thr Glu Leu Lys Ala Asp Phe Gln Tyr Gln Glu
 245 250 255

Ser Gln Met Arg Ala Lys Met Asn Gln Met Glu Lys Thr His Lys Glu
 260 265 270

Val Thr Glu Gln Leu Gln Ala Lys Asn Arg Glu Leu Leu Lys Gln Ala
 275 280 285

Ala Ala Leu Ser Lys Ser Lys Lys Ser Glu Lys Ser Gly Ala Ile Thr
 290 295 300

Ser Pro
 305

<210> 3
 <211> 2161
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> CDS
 <222> (103)..(1026)
 <223>

<400> 3

gccgcagcca gcagcctgca gccgccgccg ggttgtgcct cagactgtca gataaatcgg 60

cgggccgggc cggcgggtcg gtgagcgcgg cccgggccgg ac atg gcg gcg ctc 114
 Met Ala Ala Leu
 1

tac gcc tgc acc aag tgc cac cag cgc ttc ccc ttc gag gcg ctg tct 162
 Tyr Ala Cys Thr Lys Cys His Gln Arg Phe Pro Phe Glu Ala Leu Ser
 5 10 15 20

cag ggg cag cag ctg tgc aag gaa tgt cgg att gca cac cct gtt gtg 210
 Gln Gly Gln Gln Leu Cys Lys Glu Cys Arg Ile Ala His Pro Val Val
 25 30 35

aag tgc acc tac tgc agg act gag tac cag cag gag agt aaa acc aat 258
 Lys Cys Thr Tyr Cys Arg Thr Glu Tyr Gln Gln Glu Ser Lys Thr Asn
 40 45 50

aca ata tgc aag aaa tgt gct cag aac gtg cag ttg tat gga acg ccc 306
 Thr Ile Cys Lys Lys Cys Ala Gln Asn Val Gln Leu Tyr Gly Thr Pro
 55 60 65

aaa cct tgt cag tat tgc aac ata att gca gca ttt att ggg aat aaa 354
 Lys Pro Cys Gln Tyr Cys Asn Ile Ile Ala Ala Phe Ile Gly Asn Lys
 70 75 80

tgc cag cgc tgc aca aat tca gaa aag aag tat gga cca ccc tat tct 402
 Cys Gln Arg Cys Thr Asn Ser Glu Lys Lys Tyr Gly Pro Pro Tyr Ser
 85 90 95 100

5

10

15

ES 2 660 414 T3

tgt gaa cag tgc aag cag cag tgt gca ttt gac agg aaa gat gat aga	450
Cys Glu Gln Cys Lys Gln Gln Cys Ala Phe Asp Arg Lys Asp Asp Arg	
105 110 115	
aag aag gta gat ggg aaa ttg ctg tgc tgg ctg tgc aca ctt tca tac	498
Lys Lys Val Asp Gly Lys Leu Leu Cys Trp Leu Cys Thr Leu Ser Tyr	
120 125 130	
aaa cgg gtc ctt cag aag acc aaa gag cag agg aaa cac ctg agt agc	546
Lys Arg Val Leu Gln Lys Thr Lys Glu Gln Arg Lys His Leu Ser Ser	
135 140 145	
tct tct cgt gct ggc cac cag gag aag gag cag tat agt cgc ctg agt	594
Ser Ser Arg Ala Gly His Gln Glu Lys Glu Gln Tyr Ser Arg Leu Ser	
150 155 160	
ggt ggt ggc cat tat aac agc cag aaa aca ctt tct aca tct tca att	642
Gly Gly Gly His Tyr Asn Ser Gln Lys Thr Leu Ser Thr Ser Ser Ile	
165 170 175 180	
caa aat gaa atc cca aag aaa aag tcc aag ttt gag tca atc aca act	690
Gln Asn Glu Ile Pro Lys Lys Lys Ser Lys Phe Glu Ser Ile Thr Thr	
185 190 195	
aat gga gac agc ttc tcc cca gac ctg gct ctg gac tca cca ggc act	738
Asn Gly Asp Ser Phe Ser Pro Asp Leu Ala Leu Asp Ser Pro Gly Thr	
200 205 210	
gac cac ttt gtc atc att gcc caa ctg aag gaa gaa gtg gct acc ctg	786
Asp His Phe Val Ile Ile Ala Gln Leu Lys Glu Glu Val Ala Thr Leu	
215 220 225	
aag aag atg ttg cat caa aag gat caa atg att tta gag aaa gag aag	834
Lys Lys Met Leu His Gln Lys Asp Gln Met Ile Leu Glu Lys Glu Lys	
230 235 240	
aag att aca gag ttg aag gct gat ttt cag tac cag gaa tcg cag atg	882
Lys Ile Thr Glu Leu Lys Ala Asp Phe Gln Tyr Gln Glu Ser Gln Met	
245 250 255 260	
aga gcc aaa atg aac cag atg gag aaa acc cac aaa gaa gtc aca gaa	930
Arg Ala Lys Met Asn Gln Met Glu Lys Thr His Lys Glu Val Thr Glu	
265 270 275	
caa ctg cag gcc aaa aac cga gag ctc ctg aag cag gca gct gct ttg	978
Gln Leu Gln Ala Lys Asn Arg Glu Leu Leu Lys Gln Ala Ala Ala Leu	
280 285 290	
tcc aag agc aag aag tca gag aag tca gga gct ata acc tct cca tga	1026
Ser Lys Ser Lys Lys Ser Glu Lys Ser Gly Ala Ile Thr Ser Pro	
295 300 305	
cagacctcaa ggaggctccc tagcaacagc aatggagtt gtccagggtt agggttggag	1086
acctggctgt tctgtgggaa ttgcaagctt tcttaagaaa tctctatattt attacagtta	1146
tccttctttg tgcgattgca gtgggctgaa tggaacacc tggtttgtgc tgtgttagac	1206
tgcgatgcttg agtgtttggg atttcaagct cgtctctttt ctctcactat taggactttt	1266
ctttttcttc ttcctcttct ctctatatttg gttctattct ttttttttct tttttctttt	1326
tttttttttt tttttttttg tggtggtcac tgctcagtggt aatgtgcaga atgatttggt	1386

ES 2 660 414 T3

```

ttttgttttt tttttttttt tttggtcctt cattgcatcc tgccataccc atgagcaaac 1446
agtttggcat taattatata tcaactgccac cctctgaact ttgaaaactg ccatcttcag 1506
acttgggtata atggaagagg ctttctctct ccaataaacc ttttgcttca gggataactc 1566
ttcgggttttt ttccagatgt attatgtatg aactttgtac tatgtatagc cagagtttta 1626
tttattttttt aaaaaagaaa ctttttcttg ataaaggaat aatggtggtc tagctagttc 1686
ttgtaaaagt gatgcctctt gaaaaaaaaac agtcctattc actagctttt agtaaaagaa 1746
tcagatcttt tctttcttgt taccttgag tcttaaaaaac tgattgctaa ggtgaaacaa 1806
ttcaatgcat aagtatggag ctaagtgcct tttggaggat ttcttggag agcatttatg 1866
gagatactta agggaggtag caaagatttg aaccgtctgt ctttttaagt aagggcagaa 1926
agcaaggttg tccaggttgt actggacact tctctcccca cccctttcct gattgtttta 1986
tgtgattgat tttaaattct cacactgcca cttctttaa aaataaaatc ctttatttgc 2046
ttaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2106
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 2161

```

<210> 4
 <211> 307
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 4

```

Met Ala Ala Leu Tyr Ala Cys Thr Lys Cys His Gln Arg Phe Pro Phe
1           5           10           15

Glu Ala Leu Ser Gln Gly Gln Gln Leu Cys Lys Glu Cys Arg Ile Ala
20           25           30

His Pro Val Val Lys Cys Thr Tyr Cys Arg Thr Glu Tyr Gln Gln Glu
35           40           45

Ser Lys Thr Asn Thr Ile Cys Lys Lys Cys Ala Gln Asn Val Gln Leu
50           55           60

Tyr Gly Thr Pro Lys Pro Cys Gln Tyr Cys Asn Ile Ile Ala Ala Phe
65           70           75           80

Ile Gly Asn Lys Cys Gln Arg Cys Thr Asn Ser Glu Lys Lys Tyr Gly
85           90           95

Pro Pro Tyr Ser Cys Glu Gln Cys Lys Gln Gln Cys Ala Phe Asp Arg
100          105          110

```

10

ES 2 660 414 T3

Lys Asp Asp Arg Lys Lys Val Asp Gly Lys Leu Leu Cys Trp Leu Cys
 115 120 125

Thr Leu Ser Tyr Lys Arg Val Leu Gln Lys Thr Lys Glu Gln Arg Lys
 130 135 140

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

Ser Arg Leu Ser Gly Gly Gly His Tyr Asn Ser Gln Lys Thr Leu Ser
 165 170 175

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

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

Ser Pro Gly Thr Asp His Phe Val Ile Ile Ala Gln Leu Lys Glu Glu
 210 215 220

Val Ala Thr Leu Lys Lys Met Leu His Gln Lys Asp Gln Met Ile Leu
 225 230 235 240

Glu Lys Glu Lys Lys Ile Thr Glu Leu Lys Ala Asp Phe Gln Tyr Gln
 245 250 255

Glu Ser Gln Met Arg Ala Lys Met Asn Gln Met Glu Lys Thr His Lys
 260 265 270

Glu Val Thr Glu Gln Leu Gln Ala Lys Asn Arg Glu Leu Leu Lys Gln
 275 280 285

Ala Ala Ala Leu Ser Lys Ser Lys Lys Ser Glu Lys Ser Gly Ala Ile
 290 295 300

Thr Ser Pro
 305

<210> 5
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cebador

<400> 5
 aattaaccct cactaaaggg 20

5

10

ES 2 660 414 T3

5	<210> 6 <211> 19 <212> ADN <213> Artificial <220> <223> Cebador	
10	<400> 6 taatacgact cactatagg	19
15	<210> 7 <211> 18 <212> ADN <213> Artificial <220> <223> Cebador	
20	<400> 7 agctgtgcaa ggaatgctc	18
25	<210> 8 <211> 18 <212> ADN <213> Artificial <220> <223> Cebador	
30	<400> 8 ccattagttg tgattgac	18
35	<210> 9 <211> 18 <212> ADN <213> Artificial <220> <223> Cebador GAPDH	
40	<400> 9 gggctgcttt taactctg	18
45	<210> 10 <211> 18 <212> ADN <213> Artificial <220> <223> Cebador GAPDH	
50	<400> 10 ccaggaaatg agcttgac	18
55	<210> 11 <211> 22 <212> ADN <213> Artificial <220> <223> Cebador	
60	<400> 11	
65		

ES 2 660 414 T3

```

atcatatggc ggcgctctac gc      22

<210> 12
<211> 25
5  <212> ADN
   <213> Artificial

<220>
<223> Cebador

10 <400> 12
   cgctcgagtg gagaagttat agctc  25

<210> 13
<211> 23
15 <212> ADN
   <213> Artificial

<220>
20 <223> Cebador

<400> 13
   gatatcatgg cggcgctcta cgc    23

25 <210> 14
   <211> 24
   <212> ADN
   <213> Artificial

30 <220>
   <223> Cebador

<400> 14
35 gaattctcat ggagaggta tagc    24

<210> 15
<211> 2326
40 <212> ADN
   <213> Canis familiaris

<220>
<221> CDS
<222> (62)..(1894)
45 <223>

<400> 15

cagcgcctcg gacatcggag ctgccgctgc cgaacacggg cccgcaacac aggtaatcag      60

t atg cat ttc caa agc ttt tgg cta tgt ctg gga ctt ctg ttc atc tca      109
Met His Phe Gln Ser Phe Trp Leu Cys Leu Gly Leu Leu Phe Ile Ser
  1             5             10             15

```

ES 2 660 414 T3

gtt aat gca gaa ttt atg gat gat gat gtt gag atg gaa gat ttt gat Val Asn Ala Glu Phe Met Asp Asp Asp Val Glu Met Glu Asp Phe Asp 20 25 30	157
gaa aat tca gaa gag att gat gtt aat gaa ggt gaa ctc ccc tca gag Glu Asn Ser Glu Glu Ile Asp Val Asn Glu Gly Glu Leu Pro Ser Glu 35 40 45	205
att aat tat aag aca cct cag cct atg gga gaa gta tat ttt aca gaa Ile Asn Tyr Lys Thr Pro Gln Pro Met Gly Glu Val Tyr Phe Thr Glu 50 55 60	253
act ttt gat agt gga agg ttg gct ggg tgg gtc tta tca aaa gca aag Thr Phe Asp Ser Gly Arg Leu Ala Gly Trp Val Leu Ser Lys Ala Lys 65 70 75 80	301
aaa gat gat aca gat gca gag att tcc ata tat gat gga aga tgg gaa Lys Asp Asp Thr Asp Ala Glu Ile Ser Ile Tyr Asp Gly Arg Trp Glu 85 90 95	349
ata gaa gaa ttg aaa gaa aac cga gtg cct ggt gac aga ggg ctg gta Ile Glu Glu Leu Lys Glu Asn Arg Val Pro Gly Asp Arg Gly Leu Val 100 105 110	397
ctg aaa tct aga gca aag cat cat gca ata gct gct gta tta gca aaa Leu Lys Ser Arg Ala Lys His His Ala Ile Ala Ala Val Leu Ala Lys 115 120 125	445
ccc ttc att ttt gct gac aaa ccc ttg atc gtt caa tat gaa gta aat Pro Phe Ile Phe Ala Asp Lys Pro Leu Ile Val Gln Tyr Glu Val Asn 130 135 140	493
ttt caa gat ggt att gat tgt gga ggt gca tac att aaa ctc cta gca Phe Gln Asp Gly Ile Asp Cys Gly Gly Ala Tyr Ile Lys Leu Leu Ala 145 150 155 160	541
gac act gat ggt ttg aat ctg gaa aac ttt tat gat aaa aca tcc tat Asp Thr Asp Gly Leu Asn Leu Glu Asn Phe Tyr Asp Lys Thr Ser Tyr 165 170 175	589
acc att atg ttt gga cca gat aaa tgt gga gaa gat tat aaa ctt cat Thr Ile Met Phe Gly Pro Asp Lys Cys Gly Glu Asp Tyr Lys Leu His 180 185 190	637
ttc atc ttc aga cac aaa cat cct aaa act gga gtt ttt gaa gag aaa Phe Ile Phe Arg His Lys His Pro Lys Thr Gly Val Phe Glu Glu Lys 195 200 205	685
cat gcc aaa cct cca gat gta gac ctt aaa aag ttc ttt aca gac agg His Ala Lys Pro Pro Asp Val Asp Leu Lys Lys Phe Phe Thr Asp Arg 210 215 220	733
aag act cat ctt tat acc ctt gtg atg aat cca gat gac aca ttt gaa Lys Thr His Leu Tyr Thr Leu Val Met Asn Pro Asp Asp Thr Phe Glu 225 230 235 240	781
gta cta att gat caa gta gtt gta aac caa gga agc ctc cta gaa gat Val Leu Ile Asp Gln Val Val Val Asn Gln Gly Ser Leu Leu Glu Asp 245 250 255	829
gtg gtt cct cct atc aat cct ccc aaa gaa att gaa gac ccc agt gat Val Val Pro Pro Ile Asn Pro Pro Lys Glu Ile Glu Asp Pro Ser Asp 260 265 270	877

ES 2 660 414 T3

aaa aag cct gat gaa tgg gat gaa aga gca aaa atc cct gat cct tct	925
Lys Lys Pro Asp Glu Trp Asp Glu Arg Ala Lys Ile Pro Asp Pro Ser	
275 280 285	
gct gtc aaa cca gaa gac tgg gat gaa agt gaa cct gcc caa ata gaa	973
Ala Val Lys Pro Glu Asp Trp Asp Glu Ser Glu Pro Ala Gln Ile Glu	
290 295 300	
gat tta agt gtt gtt aaa cct gat ggc tgg ctt gat gat gaa cca aaa	1021
Asp Leu Ser Val Val Lys Pro Asp Gly Trp Leu Asp Asp Glu Pro Lys	
305 310 315 320	
ttt att cca gat cca aat gct gaa aaa cct gat gac tgg aat gaa gac	1069
Phe Ile Pro Asp Pro Asn Ala Glu Lys Pro Asp Asp Trp Asn Glu Asp	
325 330 335	
atg gat gga gaa tgg gag gca cct cgt att tct aat cca gca tgt cga	1117
Met Asp Gly Glu Trp Glu Ala Pro Arg Ile Ser Asn Pro Ala Cys Arg	
340 345 350	
att ggg tgt ggt gag tgg tca cct ccc atg ata gat aat ccc aaa tac	1165
Ile Gly Cys Gly Glu Trp Ser Pro Pro Met Ile Asp Asn Pro Lys Tyr	
355 360 365	
aaa gga gta tgg aga cct cca atg ata gat aat cct aac tac cag gga	1213
Lys Gly Val Trp Arg Pro Pro Met Ile Asp Asn Pro Asn Tyr Gln Gly	
370 375 380	
atc tgg agt cct cga aaa atc ccg aat cca gat tat ttt gaa gat gat	1261
Ile Trp Ser Pro Arg Lys Ile Pro Asn Pro Asp Tyr Phe Glu Asp Asp	
385 390 395 400	
cat cca ttt ctt ctg act tct ttc cgt gct ctt ggt tta gag ctt tgg	1309
His Pro Phe Leu Leu Thr Ser Phe Arg Ala Leu Gly Leu Glu Leu Trp	
405 410 415	
tct atg acc tct aat att tac ttt gat aat ttt att atc tgc tgc gaa	1357
Ser Met Thr Ser Asn Ile Tyr Phe Asp Asn Phe Ile Ile Cys Ser Glu	
420 425 430	
aag gaa aca gca gat cgc tgg gct gca gat ggg tgg gga gtg aag ata	1405
Lys Glu Thr Ala Asp Arg Trp Ala Ala Asp Gly Trp Gly Val Lys Ile	
435 440 445	
ctg gta gca aat gct aac gag cct ggt ata ttt aaa cag tta atg gca	1453
Leu Val Ala Asn Ala Asn Glu Pro Gly Ile Phe Lys Gln Leu Met Ala	
450 455 460	
gct gct gaa gag cgc cca tgg ctt tgg ctc att tat ttt gtg aca gca	1501
Ala Ala Glu Glu Arg Pro Trp Leu Trp Leu Ile Tyr Phe Val Thr Ala	
465 470 475 480	
ggg ctt cca ata gca tta att gct tca ttt tgt tgg cca aga aaa gtc	1549
Gly Leu Pro Ile Ala Leu Ile Ala Ser Phe Cys Trp Pro Arg Lys Val	
485 490 495	
aag aaa aaa tat gaa gat tca gag tat aaa aag act gac ata tgc aag	1597
Lys Lys Lys Tyr Glu Asp Ser Glu Tyr Lys Lys Thr Asp Ile Cys Lys	
500 505 510	
cca caa aca aag gga gca cta gag caa gaa gtg aag gaa aag aaa gct	1645
Pro Gln Thr Lys Gly Ala Leu Glu Gln Glu Val Lys Glu Lys Lys Ala	

ES 2 660 414 T3

515	520	525	
gcc ctg gag aaa cca gta gac ttg gaa gaa gaa aaa aag caa agt gat			1693
Ala Leu Glu Lys Pro Val Asp Leu Glu Glu Glu Lys Lys Gln Ser Asp			
530	535	540	
ggt gaa act gtt gaa aaa gaa gag gaa gct gaa cct gag gaa aag agt			1741
Gly Glu Thr Val Glu Lys Glu Glu Glu Ala Glu Pro Glu Glu Lys Ser			
545	550	555	560
gaa gaa gaa att gaa atc ata gaa gga caa gaa gaa ggt aat aaa tca			1789
Glu Glu Glu Ile Glu Ile Ile Glu Gly Gln Glu Glu Gly Asn Lys Ser			
565	570	575	
aat aag tct gga tca gag gat gag atg aag gaa gcg gat gag agc aca			1837
Asn Lys Ser Gly Ser Glu Asp Glu Met Lys Glu Ala Asp Glu Ser Thr			
580	585	590	
gga tct gga gat ggg cca gtg aag tca gtg cgc aaa aga aga gta cga			1885
Gly Ser Gly Asp Gly Pro Val Lys Ser Val Arg Lys Arg Arg Val Arg			
595	600	605	
aag gaa taa actatattca agtattttta attcctgagc gagatatttg			1934
Lys Glu			
610			
gcattctaaa atcagtggtgc cagagctgaa cttgagtcag tctgcacatg tttctaatat			1994
ctagcaatgt tattctttca gacacttatt ttagtctttc ttttcaggaa aaaaaaact			2054
ttcaagttac ctggtctttg gatttagagt aaaaaagagg ggcatgttac gtatcagatt			2114
taagagacta ataccattag aagttaccaa gttttaatag ttggagaaag ttttggtttg			2174
tacagagaaa aataatatgc agcagctttg ctgctgttgg aaaatcagtt attggaattt			2234
ccccttaaac agctatacaa caatattact ggtagttcta taataaaaat gagagtgtgt			2294
tctgttggtac agagctaaact gcaaaaaaaaa aa			2326

<210> 16
 <211> 610
 <212> PRT
 <213> *Canis familiaris*

5

<400> 16

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

10

ES 2 660 414 T3

Thr Phe Asp Ser Gly Arg Leu Ala Gly Trp Val Leu Ser Lys Ala Lys
65 70 75 80

Lys Asp Asp Thr Asp Ala Glu Ile Ser Ile Tyr Asp Gly Arg Trp Glu
85 90 95

Ile Glu Glu Leu Lys Glu Asn Arg Val Pro Gly Asp Arg Gly Leu Val
100 105 110

Leu Lys Ser Arg Ala Lys His His Ala Ile Ala Ala Val Leu Ala Lys
115 120 125

Pro Phe Ile Phe Ala Asp Lys Pro Leu Ile Val Gln Tyr Glu Val Asn
130 135 140

Phe Gln Asp Gly Ile Asp Cys Gly Gly Ala Tyr Ile Lys Leu Leu Ala
145 150 155 160

Asp Thr Asp Gly Leu Asn Leu Glu Asn Phe Tyr Asp Lys Thr Ser Tyr
165 170 175

Thr Ile Met Phe Gly Pro Asp Lys Cys Gly Glu Asp Tyr Lys Leu His
180 185 190

Phe Ile Phe Arg His Lys His Pro Lys Thr Gly Val Phe Glu Glu Lys
195 200 205

His Ala Lys Pro Pro Asp Val Asp Leu Lys Lys Phe Phe Thr Asp Arg
210 215 220

Lys Thr His Leu Tyr Thr Leu Val Met Asn Pro Asp Asp Thr Phe Glu
225 230 235 240

Val Leu Ile Asp Gln Val Val Val Asn Gln Gly Ser Leu Leu Glu Asp
245 250 255

Val Val Pro Pro Ile Asn Pro Pro Lys Glu Ile Glu Asp Pro Ser Asp
260 265 270

Lys Lys Pro Asp Glu Trp Asp Glu Arg Ala Lys Ile Pro Asp Pro Ser
275 280 285

Ala Val Lys Pro Glu Asp Trp Asp Glu Ser Glu Pro Ala Gln Ile Glu
290 295 300

Asp Leu Ser Val Val Lys Pro Asp Gly Trp Leu Asp Asp Glu Pro Lys
305 310 315 320

ES 2 660 414 T3

Phe Ile Pro Asp Pro Asn Ala Glu Lys Pro Asp Asp Trp Asn Glu Asp
 325 330 335
 Met Asp Gly Glu Trp Glu Ala Pro Arg Ile Ser Asn Pro Ala Cys Arg
 340 345 350
 Ile Gly Cys Gly Glu Trp Ser Pro Pro Met Ile Asp Asn Pro Lys Tyr
 355 360 365
 Lys Gly Val Trp Arg Pro Pro Met Ile Asp Asn Pro Asn Tyr Gln Gly
 370 375 380
 Ile Trp Ser Pro Arg Lys Ile Pro Asn Pro Asp Tyr Phe Glu Asp Asp
 385 390 395 400
 His Pro Phe Leu Leu Thr Ser Phe Arg Ala Leu Gly Leu Glu Leu Trp
 405 410 415
 Ser Met Thr Ser Asn Ile Tyr Phe Asp Asn Phe Ile Ile Cys Ser Glu
 420 425 430
 Lys Glu Thr Ala Asp Arg Trp Ala Ala Asp Gly Trp Gly Val Lys Ile
 435 440 445
 Leu Val Ala Asn Ala Asn Glu Pro Gly Ile Phe Lys Gln Leu Met Ala
 450 455 460
 Ala Ala Glu Glu Arg Pro Trp Leu Trp Leu Ile Tyr Phe Val Thr Ala
 465 470 475 480
 Gly Leu Pro Ile Ala Leu Ile Ala Ser Phe Cys Trp Pro Arg Lys Val
 485 490 495
 Lys Lys Lys Tyr Glu Asp Ser Glu Tyr Lys Lys Thr Asp Ile Cys Lys
 500 505 510
 Pro Gln Thr Lys Gly Ala Leu Glu Gln Glu Val Lys Glu Lys Lys Ala
 515 520 525
 Ala Leu Glu Lys Pro Val Asp Leu Glu Glu Glu Lys Lys Gln Ser Asp
 530 535 540
 Gly Glu Thr Val Glu Lys Glu Glu Glu Ala Glu Pro Glu Glu Lys Ser
 545 550 555 560
 Glu Glu Glu Ile Glu Ile Ile Glu Gly Gln Glu Glu Gly Asn Lys Ser

ES 2 660 414 T3

565 570 575

Asn Lys Ser Gly Ser Glu Asp Glu Met Lys Glu Ala Asp Glu Ser Thr
 580 585 590

Gly Ser Gly Asp Gly Pro Val Lys Ser Val Arg Lys Arg Arg Val Arg
 595 600 605

Lys Glu
 610

- <210> 17
- <211> 2710
- 5 <212> ADN
- <213> *Homo sapiens*
- <220>
- <221> CDS
- 10 <222> (102)..(1934)
- <223>
- <400> 17

```

cgccggcggg actggtctga agagacgctg ggacaaagtg gcaacgactt ggacatctga      60
gctgtcactg ccgaaaacag gccgcaagag agataatcaa t atg cat ttc caa gcc      116
                                     Met His Phe Gln Ala
                                     1                               5

ttt tgg cta tgt ttg ggt ctt ctg ttc atc tca att aat gca gaa ttt      164
Phe Trp Leu Cys Leu Gly Leu Leu Phe Ile Ser Ile Asn Ala Glu Phe
                               10                               15                               20

atg gat gat gat gtt gag acg gaa gac ttt gaa gaa aat tca gaa gaa      212
Met Asp Asp Asp Val Glu Thr Glu Asp Phe Glu Glu Asn Ser Glu Glu
                               25                               30                               35

att gat gtt aat gaa agt gaa ctt tcc tca gag att aaa tat aag aca      260
Ile Asp Val Asn Glu Ser Glu Leu Ser Ser Glu Ile Lys Tyr Lys Thr
                               40                               45                               50

cct caa cct ata gga gaa gta tat ttt gca gaa act ttt gat agt gga      308
Pro Gln Pro Ile Gly Glu Val Tyr Phe Ala Glu Thr Phe Asp Ser Gly
                               55                               60                               65

agg ttg gct gga tgg gtc tta tca aaa gca aag aaa gat gac atg gat      356
Arg Leu Ala Gly Trp Val Leu Ser Lys Ala Lys Lys Asp Asp Met Asp
                               70                               75                               80                               85

gag gaa att tca ata tac gat gga aga tgg gaa att gaa gag ttg aaa      404
Glu Glu Ile Ser Ile Tyr Asp Gly Arg Trp Glu Ile Glu Glu Leu Lys
                               90                               95                               100

gaa aac cag gta cct ggt gac aga gga ctg gta tta aaa tct aga gca      452
Glu Asn Gln Val Pro Gly Asp Arg Gly Leu Val Leu Lys Ser Arg Ala
                               105                               110                               115

aag cat cat gca ata tct gct gta tta gca aaa cca ttc att ttt gct      500
Lys His His Ala Ile Ser Ala Val Leu Ala Lys Pro Phe Ile Phe Ala
                               120                               125                               130
    
```

15

ES 2 660 414 T3

gat	aaa	ccc	ttg	ata	gtt	caa	tat	gaa	gta	aat	ttt	caa	gat	ggg	att	548
Asp	Lys	Pro	Leu	Ile	Val	Gln	Tyr	Glu	Val	Asn	Phe	Gln	Asp	Gly	Ile	
	135					140					145					
gat	tgt	gga	ggg	gca	tac	att	aaa	ctc	cta	gca	gac	act	gat	gat	ttg	596
Asp	Cys	Gly	Gly	Ala	Tyr	Ile	Lys	Leu	Leu	Ala	Asp	Thr	Asp	Asp	Leu	
150					155					160					165	
att	ctg	gaa	aac	ttt	tat	gat	aaa	aca	tcc	tat	atc	att	atg	ttt	gga	644
Ile	Leu	Glu	Asn	Phe	Tyr	Asp	Lys	Thr	Ser	Tyr	Ile	Ile	Met	Phe	Gly	
			170						175					180		
cca	gat	aaa	tgt	gga	gaa	gat	tat	aaa	ctt	cat	ttt	atc	ttc	aga	cat	692
Pro	Asp	Lys	Cys	Gly	Glu	Asp	Tyr	Lys	Leu	His	Phe	Ile	Phe	Arg	His	
			185					190					195			
aaa	cat	ccc	aaa	act	gga	ggt	ttc	gaa	gag	aaa	cat	gcc	aaa	cct	cca	740
Lys	His	Pro	Lys	Thr	Gly	Val	Phe	Glu	Glu	Lys	His	Ala	Lys	Pro	Pro	
		200					205					210				
gat	gta	gac	ctt	aaa	aag	ttc	ttt	aca	gac	agg	aag	act	cat	ctt	tat	788
Asp	Val	Asp	Leu	Lys	Lys	Phe	Phe	Thr	Asp	Arg	Lys	Thr	His	Leu	Tyr	
	215					220					225					
acc	ctt	gtg	atg	aat	cca	gat	gac	aca	ttt	gag	gtg	tta	ggt	gat	caa	836
Thr	Leu	Val	Met	Asn	Pro	Asp	Asp	Thr	Phe	Glu	Val	Leu	Val	Asp	Gln	
230					235					240					245	
aca	ggt	gta	aac	aaa	gga	agc	ctc	cta	gag	gat	gtg	ggt	cct	cct	atc	884
Thr	Val	Val	Asn	Lys	Gly	Ser	Leu	Leu	Glu	Asp	Val	Val	Pro	Pro	Ile	
			250						255					260		
aaa	cct	ccc	aaa	gaa	att	gaa	gat	ccc	aat	gat	aaa	aaa	cct	gag	gaa	932
Lys	Pro	Pro	Lys	Glu	Ile	Glu	Asp	Pro	Asn	Asp	Lys	Lys	Pro	Glu	Glu	
			265					270					275			
tgg	gat	gaa	aga	gca	aaa	att	cct	gat	cct	tct	gcc	gtc	aaa	cca	gaa	980
Trp	Asp	Glu	Arg	Ala	Lys	Ile	Pro	Asp	Pro	Ser	Ala	Val	Lys	Pro	Glu	
		280					285					290				
gac	tgg	gat	gaa	agt	gaa	cct	gcc	caa	ata	gaa	gat	tca	agt	ggt	ggt	1028
Asp	Trp	Asp	Glu	Ser	Glu	Pro	Ala	Gln	Ile	Glu	Asp	Ser	Ser	Val	Val	
	295					300					305					
aaa	cct	gct	ggc	tgg	ctt	gat	gat	gaa	cca	aaa	ttt	atc	cct	gat	cct	1076
Lys	Pro	Ala	Gly	Trp	Leu	Asp	Asp	Glu	Pro	Lys	Phe	Ile	Pro	Asp	Pro	
310					315					320					325	
aat	gct	gaa	aaa	cct	gat	gac	tgg	aat	gaa	gac	acg	gat	gga	gaa	tgg	1124
Asn	Ala	Glu	Lys	Pro	Asp	Asp	Trp	Asn	Glu	Asp	Thr	Asp	Gly	Glu	Trp	
				330					335					340		
gag	gca	cct	cag	att	ctt	aat	cca	gca	tgt	cgg	att	ggg	tgt	ggg	gag	1172
Glu	Ala	Pro	Gln	Ile	Leu	Asn	Pro	Ala	Cys	Arg	Ile	Gly	Cys	Gly	Glu	
			345					350					355			
tgg	aaa	cct	ccc	atg	ata	gat	aac	cca	aaa	tac	aaa	gga	gta	tgg	aga	1220
Trp	Lys	Pro	Pro	Met	Ile	Asp	Asn	Pro	Lys	Tyr	Lys	Gly	Val	Trp	Arg	
		360					365					370				
cct	cca	ctg	gtc	gat	aat	cct	aac	tat	cag	gga	atc	tgg	agt	cct	cga	1268
Pro	Pro	Leu	Val	Asp	Asn	Pro	Asn	Tyr	Gln	Gly	Ile	Trp	Ser	Pro	Arg	

ES 2 660 414 T3

tcacctttga attagaata aaagtggcac attacatc ggatctaaga gattaatacc 2174
 attagaagtt acacagtttt agttgtttgg agatagtttt ggtttgtaca gaacaaaata 2234
 atatgtagca gcttcattgc tattggaaaa atcagttatt ggaatttcca cttaaattggc 2294
 tatacaacaa tataactggt agttctataa taaaaatgag catatggtct gttgtgaaga 2354
 gctaaatgca ataaagtttc tgtatggttg tttgattcta tcaacaattg aaagtgttgt 2414
 atatgacca catttaccta gtttgtgtca aattatagtt acagtgagtt gtttgcttaa 2474
 attatagatt cctttaagga catgccttgt tcataaaatc actggattat attgcagcat 2534
 attttacatt tgaatacaag gataatgggt tttatcaaaa caaatgatg tacagatttt 2594
 ttttcaagtt tttatagttg ctttatgccca gagtggttta cccattcac aaaatttctt 2654
 atgcatacat tgctattgaa aataaaattt aatatTTTTT tcacctgaa aaaaaa 2710

<210> 18
 <211> 610
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 18

5

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

10

ES 2 660 414 T3

Phe Gln Asp Gly Ile Asp Cys Gly Gly Ala Tyr Ile Lys Leu Leu Ala
 145 150 155 160

Asp Thr Asp Asp Leu Ile Leu Glu Asn Phe Tyr Asp Lys Thr Ser Tyr
 165 170 175

Ile Ile Met Phe Gly Pro Asp Lys Cys Gly Glu Asp Tyr Lys Leu His
 180 185 190

Phe Ile Phe Arg His Lys His Pro Lys Thr Gly Val Phe Glu Glu Lys
 195 200 205

His Ala Lys Pro Pro Asp Val Asp Leu Lys Lys Phe Phe Thr Asp Arg
 210 215 220

Lys Thr His Leu Tyr Thr Leu Val Met Asn Pro Asp Asp Thr Phe Glu
 225 230 235 240

Val Leu Val Asp Gln Thr Val Val Asn Lys Gly Ser Leu Leu Glu Asp
 245 250 255

Val Val Pro Pro Ile Lys Pro Pro Lys Glu Ile Glu Asp Pro Asn Asp
 260 265 270

Lys Lys Pro Glu Glu Trp Asp Glu Arg Ala Lys Ile Pro Asp Pro Ser
 275 280 285

Ala Val Lys Pro Glu Asp Trp Asp Glu Ser Glu Pro Ala Gln Ile Glu
 290 295 300

Asp Ser Ser Val Val Lys Pro Ala Gly Trp Leu Asp Asp Glu Pro Lys
 305 310 315 320

Phe Ile Pro Asp Pro Asn Ala Glu Lys Pro Asp Asp Trp Asn Glu Asp
 325 330 335

Thr Asp Gly Glu Trp Glu Ala Pro Gln Ile Leu Asn Pro Ala Cys Arg
 340 345 350

Ile Gly Cys Gly Glu Trp Lys Pro Pro Met Ile Asp Asn Pro Lys Tyr
 355 360 365

Lys Gly Val Trp Arg Pro Pro Leu Val Asp Asn Pro Asn Tyr Gln Gly
 370 375 380

Ile Trp Ser Pro Arg Lys Ile Pro Asn Pro Asp Tyr Phe Glu Asp Asp

ES 2 660 414 T3

<220>
 <223> Cebador

 5 <400> 19
 gtgatgaatc cagatgac 18

 <210> 20
 <211> 18
 <212> ADN
 10 <213> Artificial

 <220>
 <223> Cebador

 15 <400> 20
 ggtcatagac caaagctc 18

 <210> 21
 <211> 23
 <212> ADN
 20 <213> Artificial

 <220>
 <223> Cebador

 25 <400> 21
 aaggatccat gcattccaa agc 23

 <210> 22
 <211> 25
 <212> ADN
 30 <213> Artificial

 <220>
 <223> Cebador

 35 <400> 22
 ccgaattctt attccttcg tactc 25

 <210> 23
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Artificial

 45 <220>
 <223> Cebador

 <400> 23
 gaattcatgc attccaagc cttttg 26
 50
 <210> 24
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Artificial
 55
 <220>
 <223> Cebador

 <400> 24
 60 ctcgagttag tccttcgta ctc 23

 <210> 25
 <211> 7353
 <212> ADN
 65 <213> *Canis familiaris*

ES 2 660 414 T3

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(7020)
 <223>

5

<400> 25

atg aag aaa ggt tct cag caa aag ttt ttg aaa gca aag atg cca cca	48
Met Lys Lys Gly Ser Gln Gln Lys Phe Leu Lys Ala Lys Met Pro Pro	
1 5 10 15	
tca tct cac tct cct agt cca cca tcc ctt acg tcc aat atg aga tct	96
Ser Ser His Ser Pro Ser Pro Pro Ser Leu Thr Ser Asn Met Arg Ser	
20 25 30	
agg tca ctt tcg cct cta agt gga tct gag act ctg cct ttt cat ttt	144
Arg Ser Leu Ser Pro Leu Ser Gly Ser Glu Thr Leu Pro Phe His Phe	
35 40 45	
gga gga ccg tgg cat gag caa gtt gag att aca gat gaa agc aca gtg	192
Gly Gly Pro Trp His Glu Gln Val Glu Ile Thr Asp Glu Ser Thr Val	
50 55 60	
gtt tta gac tac caa gac cat aaa gaa gct gat tca cat gca gga gtc	240
Val Leu Asp Tyr Gln Asp His Lys Glu Ala Asp Ser His Ala Gly Val	
65 70 75 80	
cga tat att aca gag gcc ctt gtt aga aaa ctt act aaa cag gac aat	288
Arg Tyr Ile Thr Glu Ala Leu Val Arg Lys Leu Thr Lys Gln Asp Asn	
85 90 95	
ttg gcc ttg gta aaa tct ctg aac ctt tca ctt gct aaa ggt ggt ggc	336
Leu Ala Leu Val Lys Ser Leu Asn Leu Ser Leu Ala Lys Gly Gly Gly	
100 105 110	
aag aaa ttc agg tgt atc gaa aat ttg gaa aaa tgt gtt aaa ctt gaa	384
Lys Lys Phe Arg Cys Ile Glu Asn Leu Glu Lys Cys Val Lys Leu Glu	
115 120 125	
gta ctg aat ctc agc tat aat cta ata gga aag att gag aaa gtg gac	432
Val Leu Asn Leu Ser Tyr Asn Leu Ile Gly Lys Ile Glu Lys Val Asp	
130 135 140	
aaa ctg tta aaa tta cgt gaa ctc aac tta tcg tat aac aaa atc cgc	480
Lys Leu Leu Lys Leu Arg Glu Leu Asn Leu Ser Tyr Asn Lys Ile Arg	
145 150 155 160	
aaa att gaa ggc ata gaa aat tta tat aat ctg caa aag ctg aac ctt	528
Lys Ile Glu Gly Ile Glu Asn Leu Tyr Asn Leu Gln Lys Leu Asn Leu	
165 170 175	
gca gga aat gaa atc gaa cat atc cca gta tgg tta ggg aag aag tta	576
Ala Gly Asn Glu Ile Glu His Ile Pro Val Trp Leu Gly Lys Lys Leu	
180 185 190	

ES 2 660 414 T3

aaa tct ttg cga atc ctg aat ctg aaa ggc aac aag ata tca tcg ctc	624
Lys Ser Leu Arg Ile Leu Asn Leu Lys Gly Asn Lys Ile Ser Ser Leu	
195 200 205	
caa gat gta agc aag ttg aaa cca ctt caa gat ttg act tct ctg atc	672
Gln Asp Val Ser Lys Leu Lys Pro Leu Gln Asp Leu Thr Ser Leu Ile	
210 215 220	
cta ctt gaa aat cca gtt gcg acc ctt cct cat tat atc cag ttt acc	720
Leu Leu Glu Asn Pro Val Ala Thr Leu Pro His Tyr Ile Gln Phe Thr	
225 230 235 240	
att ttt cac ctt cgc tca ttg gaa agt ttg gaa ggt cag cca gta act	768
Ile Phe His Leu Arg Ser Leu Glu Ser Leu Glu Gly Gln Pro Val Thr	
245 250 255	
agt cag gac aga caa gaa gct ttt gcg aga ttc agt tta gat gag gta	816
Ser Gln Asp Arg Gln Glu Ala Phe Ala Arg Phe Ser Leu Asp Glu Val	
260 265 270	
gaa aga ctg gaa aga gac ctg gag aag aag aca atg gaa act gaa gag	864
Glu Arg Leu Glu Arg Asp Leu Glu Lys Lys Thr Met Glu Thr Glu Glu	
275 280 285	
ctt agg agt gag cag aca agg ttc ctt gag gaa att aaa agt cag gat	912
Leu Arg Ser Glu Gln Thr Arg Phe Leu Glu Glu Ile Lys Ser Gln Asp	
290 295 300	
aaa ttg aac aaa tca ctg aaa gag gag gcc aga cta caa aaa cag agc	960
Lys Leu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Glu Ala Arg Leu Gln Lys Gln Ser	
305 310 315 320	
tat gag gag ctg gag agt aac cta aac acc aaa aat gaa ttg cta aaa	1008
Tyr Glu Glu Leu Glu Ser Asn Leu Asn Thr Lys Asn Glu Leu Leu Lys	
325 330 335	
cag aag acc atg gaa cta atg cga gca tgt cag aaa cag tat gag atg	1056
Gln Lys Thr Met Glu Leu Met Arg Ala Cys Gln Lys Gln Tyr Glu Met	
340 345 350	
gaa cag gag ttg gcc ttt tat aaa att gat gcc aaa ttt gaa cca cta	1104
Glu Gln Glu Leu Ala Phe Tyr Lys Ile Asp Ala Lys Phe Glu Pro Leu	
355 360 365	
aat tat tac cca tca gag tat gtc gaa att gat aaa acc cca gat gaa	1152
Asn Tyr Tyr Pro Ser Glu Tyr Val Glu Ile Asp Lys Thr Pro Asp Glu	
370 375 380	
agc cct tac att ggc aaa tcc aga tac aag aga aat atg ttc act aca	1200
Ser Pro Tyr Ile Gly Lys Ser Arg Tyr Lys Arg Asn Met Phe Thr Thr	
385 390 395 400	
gag agt tat att att gca aat gcc cag aca gta aag atc aag aag atg	1248
Glu Ser Tyr Ile Ile Ala Asn Ala Gln Thr Val Lys Ile Lys Lys Met	
405 410 415	
gag cta gat gaa ggg gaa caa ctc aga aat gag cac gtg aac ttg gga	1296
Glu Leu Asp Glu Gly Glu Gln Leu Arg Asn Glu His Val Asn Leu Gly	
420 425 430	
gca tcg cca aca gac ata caa ctg gaa gac aaa gaa aaa aaa ata agt	1344
Ala Ser Pro Thr Asp Ile Gln Leu Glu Asp Lys Glu Lys Lys Ile Ser	

ES 2 660 414 T3

His 690	Glu	Val	Asn	Ile	Ser	Leu 695	Gln	Gln	Thr	Gln	Gly 700	Asp	Leu	Ser	Ala		
tat 705	gag Tyr	gct Glu	gag Ala	cta Glu	gag Leu	gct Glu	cag Ala	ctg Gln	aaa Leu	ata Lys	cgg Ile	gat Arg	gct Asp	gaa Ala	gcc Glu	2160	
aac 705	cag Asn	ctc Gln	aag Leu	gag Lys	gag Glu	ttg Leu	gaa Glu	aaa Lys	ctt Leu	aga Arg	agg Arg	ttg Leu	agc Ser	cag Gln	tta Leu	2208	
gaa 705	caa Gln	tcg Ser	gcc Ala	ctt Leu	caa Gln	gca Ala	gag Glu	ctt Leu	gag Glu	aag Lys	gaa Glu	aag Lys	caa Gln	gcc Ala	ttc Phe	2256	
aag 705	act Lys	gct Thr	gtc Ala	aaa Val	aaa Lys	gcc Lys	cag Ala	ctc Gln	tca Leu	gaa Ser	gga Glu	aag Gly	gac Lys	caa Asp	gaa Gln	2304	
aat 705	agt Asn	gag Ser	ctc Glu	cgc Leu	aca Arg	caa Thr	ctc Gln	caa Leu	cag Gln	ctg Gln	cag Leu	gat Gln	gac Asp	aat Asn	gac Asp	2352	
cta 705	ttg Leu	aaa Leu	cag Lys	caa Gln	ctt Gln	aaa Leu	gat Lys	ttc Asp	cag Phe	agt Gln	cac Ser	ctt His	aac Leu	cat Asn	gtg His	2400	
gtt 705	gat Val	ggt Asp	ttg Gly	att Leu	cgf Ile	cca Arg	gaa Pro	gaa Glu	gtg Glu	gca Val	gct Ala	tgt Ala	gtg Cys	gat Val	gag Asp	2448	
cta 705	agg Leu	aaa Arg	aaa Lys	ctg Lys	aag Leu	tca Lys	gga Ser	gct Gly	ggg Ala	gaa Gly	atg Glu	aga Met	atc Arg	cat Ile	act His	2496	
cct 705	tca Pro	gat Ser	gtc Asp	tta Val	ggg Leu	aaa Gly	agt Lys	ctt Ser	gct Leu	gac Ala	ttg Asp	cag Leu	aag Gln	caa Lys	ttc Phe	2544	
agt 705	gag Ser	atc Glu	ctg Ile	gca Leu	cgf Ala	tcc Arg	cag Ser	tgg Gln	gaa Trp	aga Glu	cag Arg	gaa Gln	gca Glu	caa Ala	gtg Gln	2592	
aga 705	gag Arg	aga Glu	aaa Arg	ctc Lys	cag Leu	gag Gln	gaa Glu	atg Met	gct Ala	ctg Leu	caa Gln	caa Gln	gag Glu	aaa Lys	ctg Leu	2640	
gcg 705	agc Ala	gga Ser	caa Gly	gag Gln	gag Glu	ttc Phe	agg Arg	cac His	gcc Ala	tgc Cys	gag Glu	agg Arg	gcc Ala	ctg Leu	gaa Glu	2688	
gcc 705	cga Ala	att Arg	agt Ile	ttt Ser	gat Phe	aag Asp	agg Lys	cag Arg	cac Gln	gaa His	gca Glu	aga Ala	atc Arg	cag Ile	cag Gln	2736	
ttg 705	gag Leu	aat Glu	gaa Asn	att Ile	cac His	tat Tyr	ttg Leu	caa Gln	gaa Glu	aat Asn	cta Leu	aaa Lys	agt Ser	atg Met	gag Glu	2784	
gaa 705	atc Glu	caa Ile	ggt Gln	ctc Leu	aca Thr	gac Asp	ctc Leu	caa Gln	ctt Leu	cag Gln	gaa Glu	gct Ala	gat Asp	gaa Glu	gag Glu	2832	

ES 2 660 414 T3

aag gag aga att ctg gcc caa ctc cgg gag tta gag aaa aag aag aaa	2880
Lys Glu Arg Ile Leu Ala Gln Leu Arg Glu Leu Glu Lys Lys Lys Lys	
945 950 955 960	
ctt gag gat gcc aag tct cag gag cag ttt ctt gga tta gat aga gaa	2928
Leu Glu Asp Ala Lys Ser Gln Glu Gln Phe Leu Gly Leu Asp Arg Glu	
965 970 975	
ttg aag aag cta aag aaa gct gtg gct gcc tct gat aag ctg gcc aca	2976
Leu Lys Lys Leu Lys Lys Ala Val Ala Ala Ser Asp Lys Leu Ala Thr	
980 985 990	
gct gag ctc acc att gcc aaa gac cag ctc aag tcc ctt cat gga act	3024
Ala Glu Leu Thr Ile Ala Lys Asp Gln Leu Lys Ser Leu His Gly Thr	
995 1000 1005	
gtg atg aaa att aac cag gag cga gca gag gag ctg cag gag acg	3069
Val Met Lys Ile Asn Gln Glu Arg Ala Glu Glu Leu Gln Glu Thr	
1010 1015 1020	
gag agg ttc agc aga aag gca gca caa gca gct agg gat ctg atc	3114
Glu Arg Phe Ser Arg Lys Ala Ala Gln Ala Ala Arg Asp Leu Ile	
1025 1030 1035	
cga gca gaa gcg gag att gaa ctc ctg cag aag ctt ctc aga gat	3159
Arg Ala Glu Ala Glu Ile Glu Leu Leu Gln Lys Leu Leu Arg Asp	
1040 1045 1050	
aaa gag gag cag ttt cga aat gag att gag aaa gta gat gtc ggc	3204
Lys Glu Glu Gln Phe Arg Asn Glu Ile Glu Lys Val Asp Val Gly	
1055 1060 1065	
tct gga gga gca aag tca cag atg ctg gag atg gag aaa cta aat	3249
Ser Gly Gly Ala Lys Ser Gln Met Leu Glu Met Glu Lys Leu Asn	
1070 1075 1080	
gag aca atg gag agg caa aga aca gag att gct agg ctg agg aat	3294
Glu Thr Met Glu Arg Gln Arg Thr Glu Ile Ala Arg Leu Arg Asn	
1085 1090 1095	
tta cta gac ctc acc ggg gct gat aac aaa gga aac ttt gaa aat	3339
Leu Leu Asp Leu Thr Gly Ala Asp Asn Lys Gly Asn Phe Glu Asn	
1100 1105 1110	
gtt ttg gaa gaa att gct gaa ctt cga cgt gaa gtt tct cat cag	3384
Val Leu Glu Glu Ile Ala Glu Leu Arg Arg Glu Val Ser His Gln	
1115 1120 1125	
aat gat tac atc agc agc atg aca gat cct ttc aaa aga cga ggc	3429
Asn Asp Tyr Ile Ser Ser Met Thr Asp Pro Phe Lys Arg Arg Gly	
1130 1135 1140	
tat tgg tac ttt atg cca cca cca tca tca tca aaa gtt tcc agc	3474
Tyr Trp Tyr Phe Met Pro Pro Pro Ser Ser Ser Lys Val Ser Ser	
1145 1150 1155	
cac agt tcc cag gcc acc aag gac tct ggt gtt ggc cta aag tac	3519
His Ser Ser Gln Ala Thr Lys Asp Ser Gly Val Gly Leu Lys Tyr	
1160 1165 1170	
aca gcc tcc act ccg gtt aga aaa cca cat cgt gga cgg cag gat	3564
Thr Ala Ser Thr Pro Val Arg Lys Pro His Arg Gly Arg Gln Asp	
1175 1180 1185	

ES 2 660 414 T3

gga aag gag aac agt ggg cct cca cct gcc tca gga tac tgg gtg	3609
Gly Lys Glu Asn Ser Gly Pro Pro Pro Ala Ser Gly Tyr Trp Val	
1190 1195 1200	
tat tct cct atc agg agt ggg tta cat aaa tcg ttc tca aat aga	3654
Tyr Ser Pro Ile Arg Ser Gly Leu His Lys Ser Phe Ser Asn Arg	
1205 1210 1215	
gac gca gac agt gga gga gat agc cag gaa gag agc gag cta gat	3699
Asp Ala Asp Ser Gly Gly Asp Ser Gln Glu Glu Ser Glu Leu Asp	
1220 1225 1230	
gac caa gaa gac cac cca ttt gta cct cct cct gga tac atg atg	3744
Asp Gln Glu Asp His Pro Phe Val Pro Pro Pro Gly Tyr Met Met	
1235 1240 1245	
tac act gtg ttt cct gat ggt tct cct gta ccc cag ggc atg gcc	3789
Tyr Thr Val Phe Pro Asp Gly Ser Pro Val Pro Gln Gly Met Ala	
1250 1255 1260	
ctg tat gca ccc cct cct ccc ttg ccc aac aat agc cag cct ctt	3834
Leu Tyr Ala Pro Pro Pro Pro Leu Pro Asn Asn Ser Gln Pro Leu	
1265 1270 1275	
gac ctt ggc act gtt gtt tat ggc cca cct cct gtt ggg gct ccc	3879
Asp Leu Gly Thr Val Val Tyr Gly Pro Pro Pro Val Gly Ala Pro	
1280 1285 1290	
atc gtg tat ggg cct cca cct ccc aac ttc tcc gta ccc ctc atc	3924
Ile Val Tyr Gly Pro Pro Pro Pro Asn Phe Ser Val Pro Leu Ile	
1295 1300 1305	
ccc gtg ggt gtg ctg cac tgc aat gtc cca gaa cac cat aac ttg	3969
Pro Val Gly Val Leu His Cys Asn Val Pro Glu His His Asn Leu	
1310 1315 1320	
gag aat gaa gtt tct aga tta gaa gac ata atg cag cat tta aaa	4014
Glu Asn Glu Val Ser Arg Leu Glu Asp Ile Met Gln His Leu Lys	
1325 1330 1335	
tct ggg aaa cgg gaa cag tgc atg aaa aca ccc aag ctg cag tcg	4059
Ser Gly Lys Arg Glu Gln Cys Met Lys Thr Pro Lys Leu Gln Ser	
1340 1345 1350	
gag aaa gaa ctc gca gag ctg cag cat aac att gat ggt ctt ttg	4104
Glu Lys Glu Leu Ala Glu Leu Gln His Asn Ile Asp Gly Leu Leu	
1355 1360 1365	
caa gag aag aaa gac tta gag cat gaa gta gaa gaa tta cat aga	4149
Gln Glu Lys Lys Asp Leu Glu His Glu Val Glu Glu Leu His Arg	
1370 1375 1380	
acc atc caa aaa cat caa cag cga aaa gat ttc att gat gga aac	4194
Thr Ile Gln Lys His Gln Gln Arg Lys Asp Phe Ile Asp Gly Asn	
1385 1390 1395	
gtt gag agt ctt gtg aat gat cta gaa ata gag aag tca ctc aaa	4239
Val Glu Ser Leu Val Asn Asp Leu Glu Ile Glu Lys Ser Leu Lys	
1400 1405 1410	
cac cat gaa gat att gtt gat gaa att gaa tgt att gag agg acc	4284
His His Glu Asp Ile Val Asp Glu Ile Glu Cys Ile Glu Arg Thr	

ES 2 660 414 T3

Ser	Phe	Gln	Lys	Gly	Glu	Leu	Asn	Val	Gln	Ile	Ser	Glu	Lys	Lys			
	1655					1660					1665						
act	caa	ctt	gca	ctc	ata	aag	cag	gaa	att	gaa	aaa	gag	gaa	gac			5049
Thr	Gln	Leu	Ala	Leu	Ile	Lys	Gln	Glu	Ile	Glu	Lys	Glu	Glu	Asp			
	1670					1675					1680						
aat	ctt	cag	gta	gtt	tta	ggg	caa	atg	tct	aaa	cat	aaa	act	gaa			5094
Asn	Leu	Gln	Val	Val	Leu	Gly	Gln	Met	Ser	Lys	His	Lys	Thr	Glu			
	1685					1690					1695						
cta	aag	aat	att	ctg	gac	atg	ttg	caa	ctt	gaa	aat	aat	gag	ctg			5139
Leu	Lys	Asn	Ile	Leu	Asp	Met	Leu	Gln	Leu	Glu	Asn	Asn	Glu	Leu			
	1700					1705					1710						
caa	ggc	ttg	aag	ctc	caa	cat	gac	caa	aag	atg	tct	gaa	tta	gag			5184
Gln	Gly	Leu	Lys	Leu	Gln	His	Asp	Gln	Lys	Met	Ser	Glu	Leu	Glu			
	1715					1720					1725						
aag	act	cgg	ggt	gaa	gtg	ctg	gag	gag	aaa	ctg	gag	tta	gag	agt			5229
Lys	Thr	Arg	Val	Glu	Val	Leu	Glu	Glu	Lys	Leu	Glu	Leu	Glu	Ser			
	1730					1735					1740						
ctg	cag	cag	gca	gcc	ctg	cga	cag	aga	ggg	gag	ata	gag	tgg	cag			5274
Leu	Gln	Gln	Ala	Ala	Leu	Arg	Gln	Arg	Gly	Glu	Ile	Glu	Trp	Gln			
	1745					1750					1755						
aag	cag	ctc	ctc	cag	agg	aac	aca	cag	gaa	gta	gag	cgg	atg	act			5319
Lys	Gln	Leu	Leu	Gln	Arg	Asn	Thr	Gln	Glu	Val	Glu	Arg	Met	Thr			
	1760					1765					1770						
gct	gag	acc	cga	gca	tta	cag	tcg	tgt	ggt	gag	tct	ttg	tgc	aaa			5364
Ala	Glu	Thr	Arg	Ala	Leu	Gln	Ser	Cys	Val	Glu	Ser	Leu	Cys	Lys			
	1775					1780					1785						
gaa	aag	caa	gat	ctc	gaa	gaa	aaa	cag	gac	agc	tgg	gaa	aag	aag			5409
Glu	Lys	Gln	Asp	Leu	Glu	Glu	Lys	Gln	Asp	Ser	Trp	Glu	Lys	Lys			
	1790					1795					1800						
ttg	gca	cag	acc	aaa	cgg	ggt	cta	gca	gct	gca	gaa	gag	gac	agc			5454
Leu	Ala	Gln	Thr	Lys	Arg	Val	Leu	Ala	Ala	Ala	Glu	Glu	Asp	Ser			
	1805					1810					1815						
gag	atg	gag	cgg	gca	cgc	tta	gaa	aag	ttg	gaa	ctg	gac	gcc	agg			5499
Glu	Met	Glu	Arg	Ala	Arg	Leu	Glu	Lys	Leu	Glu	Leu	Asp	Ala	Arg			
	1820					1825					1830						
aag	ctg	cag	cag	gag	ttg	gac	caa	cga	aac	agg	gag	aag	ctc	tcc			5544
Lys	Leu	Gln	Gln	Glu	Leu	Asp	Gln	Arg	Asn	Arg	Glu	Lys	Leu	Ser			
	1835					1840					1845						
ctg	cat	caa	gac	ctg	gca	gtg	gtg	cag	cag	cag	cta	caa	gaa	aaa			5589
Leu	His	Gln	Asp	Leu	Ala	Val	Val	Gln	Gln	Gln	Leu	Gln	Glu	Lys			
	1850					1855					1860						
cag	gaa	gca	gta	aac	tca	tta	cag	aag	gaa	cta	act	gat	gtc	cag			5634
Gln	Glu	Ala	Val	Asn	Ser	Leu	Gln	Lys	Glu	Leu	Thr	Asp	Val	Gln			
	1865					1870					1875						
gag	cat	ttg	gac	cta	gca	gaa	cag	gag	gtg	ctc	tgc	acc	acc	aag			5679
Glu	His	Leu	Asp	Leu	Ala	Glu	Gln	Glu	Val	Leu	Cys	Thr	Thr	Lys			
	1880					1885					1890						

ES 2 660 414 T3

cgc aag gac gca ctg ctc agc gaa cag acc agg ctc gag aag gac	5724
Arg Lys Asp Ala Leu Leu Ser Glu Gln Thr Arg Leu Glu Lys Asp	
1895 1900 1905	
gtg ggt gaa tgg acg aag aag ttt gaa gac tgc cag aaa gaa ggg	5769
Val Gly Glu Trp Thr Lys Lys Phe Glu Asp Cys Gln Lys Glu Gly	
1910 1915 1920	
gag aca aag cag caa cag ctt caa ggg ctt cag aag gag att gaa	5814
Glu Thr Lys Gln Gln Gln Leu Gln Gly Leu Gln Lys Glu Ile Glu	
1925 1930 1935	
gga aac gag gcg aag cta gcc caa caa gaa atg atg ttt cag aga	5859
Gly Asn Glu Ala Lys Leu Ala Gln Gln Glu Met Met Phe Gln Arg	
1940 1945 1950	
ctc cag aaa gag cga gaa tgt gaa gaa aaa aag tta gaa gct agt	5904
Leu Gln Lys Glu Arg Glu Cys Glu Glu Lys Lys Leu Glu Ala Ser	
1955 1960 1965	
aaa gtg act ctg aag gag cag cag caa cag ctg gaa aag gaa ttg	5949
Lys Val Thr Leu Lys Glu Gln Gln Gln Glu Leu Glu Lys Glu Leu	
1970 1975 1980	
atg gag cag aaa ggc aag ctg gac cag gtg ctc gct aag ctc ttg	5994
Met Glu Gln Lys Gly Lys Leu Asp Gln Val Leu Ala Lys Leu Leu	
1985 1990 1995	
gtg gct gag gag cgt gtc agg acc ttg cag gag gag gga agg tgg	6039
Val Ala Glu Glu Arg Val Arg Thr Leu Gln Glu Glu Gly Arg Trp	
2000 2005 2010	
agc gag acc ctg gag aag acg ctc tcc cag acc aag cga cag ctt	6084
Ser Glu Thr Leu Glu Lys Thr Leu Ser Gln Thr Lys Arg Gln Leu	
2015 2020 2025	
tca gaa cgg gag cag cag tta ctg gcc aag tca gac gag ctg ctg	6129
Ser Glu Arg Glu Gln Gln Leu Leu Ala Lys Ser Asp Glu Leu Leu	
2030 2035 2040	
gcc ctg cag aag gag acg gac tcc atg agg gcg gac ttc agc ctc	6174
Ala Leu Gln Lys Glu Thr Asp Ser Met Arg Ala Asp Phe Ser Leu	
2045 2050 2055	
ttg cgc aac cag ttc ctg aca gaa aga aag aaa gcc gag aag cag	6219
Leu Arg Asn Gln Phe Leu Thr Glu Arg Lys Lys Ala Glu Lys Gln	
2060 2065 2070	
gtg gcc agc ctg aag gaa gcc ctt aag atc cag cgg agc caa ctg	6264
Val Ala Ser Leu Lys Glu Ala Leu Lys Ile Gln Arg Ser Gln Leu	
2075 2080 2085	
gag aag aac ctt ctg gag caa aag cag gag aac agc tgc atg cag	6309
Glu Lys Asn Leu Leu Glu Gln Lys Gln Glu Asn Ser Cys Met Gln	
2090 2095 2100	
agg gag atg gca acc atc gaa cag gtg gcc cag gac aac cac gag	6354
Arg Glu Met Ala Thr Ile Glu Gln Val Ala Gln Asp Asn His Glu	
2105 2110 2115	
cgg gcc cgg cgc cta atg agg gag ctc aac cag atg cag cgc gag	6399
Arg Ala Arg Arg Leu Met Arg Glu Leu Asn Gln Met Gln Arg Glu	
2120 2125 2130	

ES 2 660 414 T3

tac	gtg	gag	ctc	agg	aaa	cag	atg	aca	aac	caa	aag	gat	ttg	gaa	6444
Tyr	Val	Glu	Leu	Arg	Lys	Gln	Met	Thr	Asn	Gln	Lys	Asp	Leu	Glu	
	2135					2140					2145				
aga	aga	cag	atg	gaa	atc	agt	gat	gcg	atg	caa	gca	ctt	aaa	tgt	6489
Arg	Arg	Gln	Met	Glu	Ile	Ser	Asp	Ala	Met	Gln	Ala	Leu	Lys	Cys	
	2150					2155					2160				
gag	gtg	aaa	gat	gaa	atc	cga	acc	agc	ctg	aag	aat	ctc	aac	cag	6534
Glu	Val	Lys	Asp	Glu	Ile	Arg	Thr	Ser	Leu	Lys	Asn	Leu	Asn	Gln	
	2165					2170					2175				
ttt	ctt	cca	gaa	ctg	cca	gcg	gac	ctg	gag	gcc	ctt	ctg	gaa	agg	6579
Phe	Leu	Pro	Glu	Leu	Pro	Ala	Asp	Leu	Glu	Ala	Leu	Leu	Glu	Arg	
	2180					2185					2190				
aat	gag	aac	ctt	gga	gga	ggc	ttg	gag	agc	ttg	aaa	gag	aat	ttc	6624
Asn	Glu	Asn	Leu	Gly	Gly	Gly	Leu	Glu	Ser	Leu	Lys	Glu	Asn	Phe	
	2195					2200					2205				
ccg	ttt	acc	gtg	agc	gac	aga	cca	tca	tct	tgc	gaa	gag	aaa	ctg	6669
Pro	Phe	Thr	Val	Ser	Asp	Arg	Pro	Ser	Ser	Cys	Glu	Glu	Lys	Leu	
	2210					2215					2220				
aat	ttt	ggc	cag	gct	cac	gtg	gcg	gat	gaa	cag	tgg	cgg	gga	gag	6714
Asn	Phe	Gly	Gln	Ala	His	Val	Ala	Asp	Glu	Gln	Trp	Arg	Gly	Glu	
	2225					2230					2235				
gca	ctc	cgg	gag	aag	ctg	cgc	cac	cgc	gag	gac	cgg	ctc	aag	gcc	6759
Ala	Leu	Arg	Glu	Lys	Leu	Arg	His	Arg	Glu	Asp	Arg	Leu	Lys	Ala	
	2240					2245					2250				
cag	ctg	cgc	cgc	tgc	atg	tcc	aag	cag	gcc	gag	gtg	ctg	agc	gag	6804
Gln	Leu	Arg	Arg	Cys	Met	Ser	Lys	Gln	Ala	Glu	Val	Leu	Ser	Glu	
	2255					2260					2265				
ggc	cgg	cgg	cgc	acg	gag	ggg	acc	ctg	cac	agc	ctg	cgg	cgg	cag	6849
Gly	Arg	Arg	Arg	Thr	Glu	Gly	Thr	Leu	His	Ser	Leu	Arg	Arg	Gln	
	2270					2275					2280				
gtg	gac	gcc	ctg	ggc	gag	ctg	gtc	acc	agc	act	tcc	ggg	gac	tcc	6894
Val	Asp	Ala	Leu	Gly	Glu	Leu	Val	Thr	Ser	Thr	Ser	Gly	Asp	Ser	
	2285					2290					2295				
gcg	tcc	acc	cgc	agt	ctg	tcg	cgc	acc	gag	ggc	tcg	ctc	gcc	gag	6939
Ala	Ser	Thr	Arg	Ser	Leu	Ser	Arg	Thr	Glu	Gly	Ser	Leu	Ala	Glu	
	2300					2305					2310				
gac	gaa	ccg	ccg	ggg	ccc	agc	cag	agc	tcc	cgg	cgg	ctc	ccc	cga	6984
Asp	Glu	Pro	Pro	Gly	Pro	Ser	Gln	Ser	Ser	Arg	Arg	Leu	Pro	Arg	
	2315					2320					2325				
ggc	ccg	tcg	ccg	cgg	ctg	gac	gcg	cac	cga	ccc	tga	ggacccggag			7030
Gly	Pro	Ser	Pro	Arg	Leu	Asp	Ala	His	Arg	Pro					
	2330					2335									
gacccggagg	cccggcgtcc	cctcggaacg	cttcctccgc	gtccgcggac	accaggctca										7090
cggaaggcg	cgtccatgcg	ggaagagccg	cgagcggaac	ccggatgccc	gggctggtct										7150
ctgggccttg	gaaacgtgtt	gccgtaaaag	cagcgcgccgc	ggctgcggac	ttgaagcccc										7210

ES 2 660 414 T3

gaactggtaa actcggcggc tgccgggcga actgtactca ggactttttt cacggacacc 7270
 gtcagatttt atttttggaa atctatttttc atatgaaaat aaaagataaa agcgcctgaa 7330
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaact agt 7353

<210> 26
 <211> 2339
 <212> PRT
 <213> *Canis familiaris*

5

<400> 26

Met Lys Lys Gly Ser Gln Gln Lys Phe Leu Lys Ala Lys Met Pro Pro
 1 5 10 15

Ser Ser His Ser Pro Ser Pro Pro Ser Leu Thr Ser Asn Met Arg Ser
 20 25 30

Arg Ser Leu Ser Pro Leu Ser Gly Ser Glu Thr Leu Pro Phe His Phe
 35 40 45

Gly Gly Pro Trp His Glu Gln Val Glu Ile Thr Asp Glu Ser Thr Val
 50 55 60

Val Leu Asp Tyr Gln Asp His Lys Glu Ala Asp Ser His Ala Gly Val
 65 70 75 80

Arg Tyr Ile Thr Glu Ala Leu Val Arg Lys Leu Thr Lys Gln Asp Asn
 85 90 95

Leu Ala Leu Val Lys Ser Leu Asn Leu Ser Leu Ala Lys Gly Gly Gly
 100 105 110

Lys Lys Phe Arg Cys Ile Glu Asn Leu Glu Lys Cys Val Lys Leu Glu
 115 120 125

Val Leu Asn Leu Ser Tyr Asn Leu Ile Gly Lys Ile Glu Lys Val Asp
 130 135 140

Lys Leu Leu Lys Leu Arg Glu Leu Asn Leu Ser Tyr Asn Lys Ile Arg
 145 150 155 160

Lys Ile Glu Gly Ile Glu Asn Leu Tyr Asn Leu Gln Lys Leu Asn Leu
 165 170 175

Ala Gly Asn Glu Ile Glu His Ile Pro Val Trp Leu Gly Lys Lys Leu
 180 185 190

10

Lys Ser Leu Arg Ile Leu Asn Leu Lys Gly Asn Lys Ile Ser Ser Leu

ES 2 660 414 T3

195		200		205															
Gln	Asp	Val	Ser	Lys	Leu	Lys	Pro	Leu	Gln	Asp	Leu	Thr	Ser	Leu	Ile				
210						215					220								
Leu	Leu	Glu	Asn	Pro	Val	Ala	Thr	Leu	Pro	His	Tyr	Ile	Gln	Phe	Thr				
225					230					235					240				
Ile	Phe	His	Leu	Arg	Ser	Leu	Glu	Ser	Leu	Glu	Gly	Gln	Pro	Val	Thr				
				245					250					255					
Ser	Gln	Asp	Arg	Gln	Glu	Ala	Phe	Ala	Arg	Phe	Ser	Leu	Asp	Glu	Val				
			260					265					270						
Glu	Arg	Leu	Glu	Arg	Asp	Leu	Glu	Lys	Lys	Thr	Met	Glu	Thr	Glu	Glu				
		275				280						285							
Leu	Arg	Ser	Glu	Gln	Thr	Arg	Phe	Leu	Glu	Glu	Ile	Lys	Ser	Gln	Asp				
290						295					300								
Lys	Leu	Asn	Lys	Ser	Leu	Lys	Glu	Glu	Ala	Arg	Leu	Gln	Lys	Gln	Ser				
305					310					315					320				
Tyr	Glu	Glu	Leu	Glu	Ser	Asn	Leu	Asn	Thr	Lys	Asn	Glu	Leu	Leu	Lys				
				325					330					335					
Gln	Lys	Thr	Met	Glu	Leu	Met	Arg	Ala	Cys	Gln	Lys	Gln	Tyr	Glu	Met				
			340					345					350						
Glu	Gln	Glu	Leu	Ala	Phe	Tyr	Lys	Ile	Asp	Ala	Lys	Phe	Glu	Pro	Leu				
		355					360					365							
Asn	Tyr	Tyr	Pro	Ser	Glu	Tyr	Val	Glu	Ile	Asp	Lys	Thr	Pro	Asp	Glu				
370						375					380								
Ser	Pro	Tyr	Ile	Gly	Lys	Ser	Arg	Tyr	Lys	Arg	Asn	Met	Phe	Thr	Thr				
385					390					395					400				
Glu	Ser	Tyr	Ile	Ile	Ala	Asn	Ala	Gln	Thr	Val	Lys	Ile	Lys	Lys	Met				
				405					410					415					
Glu	Leu	Asp	Glu	Gly	Glu	Gln	Leu	Arg	Asn	Glu	His	Val	Asn	Leu	Gly				
			420					425					430						
Ala	Ser	Pro	Thr	Asp	Ile	Gln	Leu	Glu	Asp	Lys	Glu	Lys	Lys	Ile	Ser				
		435					440					445							

ES 2 660 414 T3

Ala Ala Gln Thr Arg Leu Ser Glu Leu His Asp Glu Ile Glu Lys Ala
450 455 460

Glu Gln Gln Ile Leu Arg Ala Thr Glu Glu Phe Lys Gln Leu Glu Glu
465 470 475 480

Ala Ile Gln Leu Lys Lys Ile Ser Glu Ala Glu Lys Asp Leu Leu Phe
485 490 495

Lys Gln Leu Ser Gly Arg Ile Gln Leu Leu Asn Lys Leu Arg Gln Glu
500 505 510

Ala Val Asp Leu Glu Thr Gln Met Glu Lys Gln Arg Gln Glu Ile Gly
515 520 525

Glu Lys Gln Asn Glu Ile Lys Asp Leu Glu Ile Val Thr Asp Ser Leu
530 535 540

Asp Ser Arg Asp Pro Lys His Cys His Met Lys Ala Gln Lys Arg Gly
545 550 555 560

Lys Glu Gln Gln Leu Asp Ile Met Asn Lys Gln Tyr Lys Gln Leu Glu
565 570 575

Ser Arg Leu Asp Glu Ile Leu Ser Arg Ile Ala Lys Glu Thr Glu Glu
580 585 590

Ile Lys Asp Leu Glu Glu Gln Leu Thr Glu Gly Gln Ile Ala Ala Asn
595 600 605

Glu Ala Leu Lys Lys Asp Leu Glu Ser Val Ile Ser Gly Leu Gln Glu
610 615 620

Tyr Leu Glu Thr Val Lys Gly Gln Ala Arg Gln Ala Gln Asn Glu Cys
625 630 635 640

Arg Lys Leu Gln Asp Glu Lys Glu Thr Leu Leu Gln Arg Leu Ser Glu
645 650 655

Val Glu Gln Glu Arg Asp Gln Leu Glu Ile Val Ala Ile Asp Ala Glu
660 665 670

Asn Met Arg Lys Glu Leu Ala Glu Leu Glu Asn Ala Leu Gln Glu Gln
675 680 685

His Glu Val Asn Ile Ser Leu Gln Gln Thr Gln Gly Asp Leu Ser Ala
690 695 700

ES 2 660 414 T3

Tyr Glu Ala Glu Leu Glu Ala Gln Leu Lys Ile Arg Asp Ala Glu Ala
 705 710 715 720

Asn Gln Leu Lys Glu Glu Leu Glu Lys Leu Arg Arg Leu Ser Gln Leu
 725 730 735

Glu Gln Ser Ala Leu Gln Ala Glu Leu Glu Lys Glu Lys Gln Ala Phe
 740 745 750

Lys Thr Ala Val Lys Lys Ala Gln Leu Ser Glu Gly Lys Asp Gln Glu
 755 760 765

Asn Ser Glu Leu Arg Thr Gln Leu Gln Gln Leu Gln Asp Asp Asn Asp
 770 775 780

Leu Leu Lys Gln Gln Leu Lys Asp Phe Gln Ser His Leu Asn His Val
 785 790 795 800

Val Asp Gly Leu Ile Arg Pro Glu Glu Val Ala Ala Cys Val Asp Glu
 805 810 815

Leu Arg Lys Lys Leu Lys Ser Gly Ala Gly Glu Met Arg Ile His Thr
 820 825 830

Pro Ser Asp Val Leu Gly Lys Ser Leu Ala Asp Leu Gln Lys Gln Phe
 835 840 845

Ser Glu Ile Leu Ala Arg Ser Gln Trp Glu Arg Gln Glu Ala Gln Val
 850 855 860

Arg Glu Arg Lys Leu Gln Glu Glu Met Ala Leu Gln Gln Glu Lys Leu
 865 870 875 880

Ala Ser Gly Gln Glu Glu Phe Arg His Ala Cys Glu Arg Ala Leu Glu
 885 890 895

Ala Arg Ile Ser Phe Asp Lys Arg Gln His Glu Ala Arg Ile Gln Gln
 900 905 910

Leu Glu Asn Glu Ile His Tyr Leu Gln Glu Asn Leu Lys Ser Met Glu
 915 920 925

Glu Ile Gln Gly Leu Thr Asp Leu Gln Leu Gln Glu Ala Asp Glu Glu
 930 935 940

Lys Glu Arg Ile Leu Ala Gln Leu Arg Glu Leu Glu Lys Lys Lys Lys
 945 950 955 960

ES 2 660 414 T3

Leu Glu Asp Ala Lys Ser Gln Glu Gln Phe Leu Gly Leu Asp Arg Glu
965 970 975

Leu Lys Lys Leu Lys Lys Ala Val Ala Ala Ser Asp Lys Leu Ala Thr
980 985 990

Ala Glu Leu Thr Ile Ala Lys Asp Gln Leu Lys Ser Leu His Gly T
995 1000 1005

Val Met Lys Ile Asn Gln Glu Arg Ala Glu Glu Leu Gln Glu Thr
1010 1015 1020

Glu Arg Phe Ser Arg Lys Ala Ala Gln Ala Ala Arg Asp Leu Ile
1025 1030 1035

Arg Ala Glu Ala Glu Ile Glu Leu Leu Gln Lys Leu Leu Arg Asp
1040 1045 1050

Lys Glu Glu Gln Phe Arg Asn Glu Ile Glu Lys Val Asp Val Gly
1055 1060 1065

Ser Gly Gly Ala Lys Ser Gln Met Leu Glu Met Glu Lys Leu Asn
1070 1075 1080

Glu Thr Met Glu Arg Gln Arg Thr Glu Ile Ala Arg Leu Arg Asn
1085 1090 1095

Leu Leu Asp Leu Thr Gly Ala Asp Asn Lys Gly Asn Phe Glu Asn
1100 1105 1110

Val Leu Glu Glu Ile Ala Glu Leu Arg Arg Glu Val Ser His Gln
1115 1120 1125

Asn Asp Tyr Ile Ser Ser Met Thr Asp Pro Phe Lys Arg Arg Gly
1130 1135 1140

Tyr Trp Tyr Phe Met Pro Pro Pro Ser Ser Ser Lys Val Ser Ser
1145 1150 1155

His Ser Ser Gln Ala Thr Lys Asp Ser Gly Val Gly Leu Lys Tyr
1160 1165 1170

Thr Ala Ser Thr Pro Val Arg Lys Pro His Arg Gly Arg Gln Asp
1175 1180 1185

Gly Lys Glu Asn Ser Gly Pro Pro Pro Ala Ser Gly Tyr Trp Val

ES 2 660 414 T3

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

ES 2 660 414 T3

Leu Leu Lys Arg Arg Ala Glu Leu Arg Glu Ala Asp Arg Leu Leu
 1430 1435 1440

Thr Glu Ala Glu Ser Glu Leu Ser Cys Thr Lys Glu Lys Thr Lys
 1445 1450 1455

His Ala Val Glu Lys Phe Thr Asp Ala Lys Arg Asn Leu Leu Gln
 1460 1465 1470

Thr Glu Lys Asp Ala Glu Glu Leu Glu Arg Arg Ala Gln Glu Thr
 1475 1480 1485

Ala Ile Asn Leu Val Lys Ala Asp Gln Gln Leu Arg Leu Leu Gln
 1490 1495 1500

Ala Asp Thr Lys Asp Leu Glu Gln His Lys Met Glu Gln Glu Glu
 1505 1510 1515

Ile Leu Lys Glu Ile Asn Lys Val Val Ala Ala Lys Asp Ser Asp
 1520 1525 1530

Phe Gln Ser Leu Asn Lys Lys Lys Glu Val Leu Thr Gly Glu Leu
 1535 1540 1545

Gln Lys Leu Gln Lys Asp Ile Glu Thr Ala Arg His Asn Glu Asp
 1550 1555 1560

Gln His Leu Gln Val Leu Lys Glu Ser Glu Thr Leu Leu Gln Ala
 1565 1570 1575

Lys Lys Ala Glu Leu Glu Asn Leu Lys Ser Gln Val Ser Gly Gln
 1580 1585 1590

Gln Gln Glu Met Ala Val Leu Asp Arg Glu Leu Gly His Lys Lys
 1595 1600 1605

Glu Glu Leu His Leu Leu Gln Glu Ser Met Val Gln Ala Lys Ala
 1610 1615 1620

Asp Leu Gln Glu Ala Leu Arg Leu Gly Glu Ser Glu Val Thr Glu
 1625 1630 1635

Lys Cys Asn His Ile Arg Glu Val Lys Ser Leu Leu Glu Glu Leu
 1640 1645 1650

Ser Phe Gln Lys Gly Glu Leu Asn Val Gln Ile Ser Glu Lys Lys
 1655 1660 1665

ES 2 660 414 T3

Thr Gln Leu Ala Leu Ile Lys Gln Glu Ile Glu Lys Glu Glu Asp
 1670 1675 1680

Asn Leu Gln Val Val Leu Gly Gln Met Ser Lys His Lys Thr Glu
 1685 1690 1695

Leu Lys Asn Ile Leu Asp Met Leu Gln Leu Glu Asn Asn Glu Leu
 1700 1705 1710

Gln Gly Leu Lys Leu Gln His Asp Gln Lys Met Ser Glu Leu Glu
 1715 1720 1725

Lys Thr Arg Val Glu Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Leu Glu Ser
 1730 1735 1740

Leu Gln Gln Ala Ala Leu Arg Gln Arg Gly Glu Ile Glu Trp Gln
 1745 1750 1755

Lys Gln Leu Leu Gln Arg Asn Thr Gln Glu Val Glu Arg Met Thr
 1760 1765 1770

Ala Glu Thr Arg Ala Leu Gln Ser Cys Val Glu Ser Leu Cys Lys
 1775 1780 1785

Glu Lys Gln Asp Leu Glu Glu Lys Gln Asp Ser Trp Glu Lys Lys
 1790 1795 1800

Leu Ala Gln Thr Lys Arg Val Leu Ala Ala Ala Glu Glu Asp Ser
 1805 1810 1815

Glu Met Glu Arg Ala Arg Leu Glu Lys Leu Glu Leu Asp Ala Arg
 1820 1825 1830

Lys Leu Gln Gln Glu Leu Asp Gln Arg Asn Arg Glu Lys Leu Ser
 1835 1840 1845

Leu His Gln Asp Leu Ala Val Val Gln Gln Gln Leu Gln Glu Lys
 1850 1855 1860

Gln Glu Ala Val Asn Ser Leu Gln Lys Glu Leu Thr Asp Val Gln
 1865 1870 1875

Glu His Leu Asp Leu Ala Glu Gln Glu Val Leu Cys Thr Thr Lys
 1880 1885 1890

Arg Lys Asp Ala Leu Leu Ser Glu Gln Thr Arg Leu Glu Lys Asp
 1895 1900 1905

ES 2 660 414 T3

Val Gly Glu Trp Thr Lys Lys Phe Glu Asp Cys Gln Lys Glu Gly
 1910 1915 1920

Glu Thr Lys Gln Gln Gln Leu Gln Gly Leu Gln Lys Glu Ile Glu
 1925 1930 1935

Gly Asn Glu Ala Lys Leu Ala Gln Gln Glu Met Met Phe Gln Arg
 1940 1945 1950

Leu Gln Lys Glu Arg Glu Cys Glu Glu Lys Lys Leu Glu Ala Ser
 1955 1960 1965

Lys Val Thr Leu Lys Glu Gln Gln Gln Gln Leu Glu Lys Glu Leu
 1970 1975 1980

Met Glu Gln Lys Gly Lys Leu Asp Gln Val Leu Ala Lys Leu Leu
 1985 1990 1995

Val Ala Glu Glu Arg Val Arg Thr Leu Gln Glu Glu Gly Arg Trp
 2000 2005 2010

Ser Glu Thr Leu Glu Lys Thr Leu Ser Gln Thr Lys Arg Gln Leu
 2015 2020 2025

Ser Glu Arg Glu Gln Gln Leu Leu Ala Lys Ser Asp Glu Leu Leu
 2030 2035 2040

Ala Leu Gln Lys Glu Thr Asp Ser Met Arg Ala Asp Phe Ser Leu
 2045 2050 2055

Leu Arg Asn Gln Phe Leu Thr Glu Arg Lys Lys Ala Glu Lys Gln
 2060 2065 2070

Val Ala Ser Leu Lys Glu Ala Leu Lys Ile Gln Arg Ser Gln Leu
 2075 2080 2085

Glu Lys Asn Leu Leu Glu Gln Lys Gln Glu Asn Ser Cys Met Gln
 2090 2095 2100

Arg Glu Met Ala Thr Ile Glu Gln Val Ala Gln Asp Asn His Glu
 2105 2110 2115

Arg Ala Arg Arg Leu Met Arg Glu Leu Asn Gln Met Gln Arg Glu
 2120 2125 2130

Tyr Val Glu Leu Arg Lys Gln Met Thr Asn Gln Lys Asp Leu Glu

ES 2 660 414 T3

<223>

<400> 27

atg aag aaa ggt tct cag caa aag ttt ttg aaa gca aag atg cca cca	48
Met Lys Lys Gly Ser Gln Gln Lys Phe Leu Lys Ala Lys Met Pro Pro	
1 5 10 15	
tca tct cac tct cct agt cca cca tcc ctt acg tcc aat atg aga tct	96
Ser Ser His Ser Pro Ser Pro Pro Ser Leu Thr Ser Asn Met Arg Ser	
20 25 30	
agg tca ctt tcg cct cta agt gga tct gag act ctg cct ttt cat ttt	144
Arg Ser Leu Ser Pro Leu Ser Gly Ser Glu Thr Leu Pro Phe His Phe	
35 40 45	
gga gga ccg tgg cat gag caa gtt gag att aca gat gaa agc aca gtg	192
Gly Gly Pro Trp His Glu Gln Val Glu Ile Thr Asp Glu Ser Thr Val	
50 55 60	
gtt tta gac tac caa gac cat aaa gaa gct gat tca cat gca gga gtc	240
Val Leu Asp Tyr Gln Asp His Lys Glu Ala Asp Ser His Ala Gly Val	
65 70 75 80	
cga tat att aca gag gcc ctt gtt aga aaa ctt act aaa cag gac aat	288
Arg Tyr Ile Thr Glu Ala Leu Val Arg Lys Leu Thr Lys Gln Asp Asn	
85 90 95	
ttg gcc ttg gta aaa tct ctg aac ctt tca ctt gct aaa ggt ggt ggc	336
Leu Ala Leu Val Lys Ser Leu Asn Leu Ser Leu Ala Lys Gly Gly Gly	
100 105 110	
aag aaa ttc agg tgt atc gaa aat ttg gaa aaa tgt gtt aaa ctt gaa	384
Lys Lys Phe Arg Cys Ile Glu Asn Leu Glu Lys Cys Val Lys Leu Glu	
115 120 125	
gta ctg aat ctc agc tat aat cta ata gga aag att gag aaa gtg gac	432
Val Leu Asn Leu Ser Tyr Asn Leu Ile Gly Lys Ile Glu Lys Val Asp	
130 135 140	
aaa ctg tta aaa tta cgt gaa ctc aac tta tcg tat aac aaa atc cgc	480
Lys Leu Leu Lys Leu Arg Glu Leu Asn Leu Ser Tyr Asn Lys Ile Arg	
145 150 155 160	
aaa att gaa ggc ata gaa aat tta tat aat ctg caa aag ctg aac ctt	528
Lys Ile Glu Gly Ile Glu Asn Leu Tyr Asn Leu Gln Lys Leu Asn Leu	
165 170 175	
gca gga aat gaa atc gaa cat atc cca gta tgg tta ggg aag aag tta	576
Ala Gly Asn Glu Ile Glu His Ile Pro Val Trp Leu Gly Lys Lys Leu	
180 185 190	
aaa tct ttg cga atc ctg aat ctg aaa ggc aac aag ata tca tcg ctc	624
Lys Ser Leu Arg Ile Leu Asn Leu Lys Gly Asn Lys Ile Ser Ser Leu	
195 200 205	
caa gat gta agc aag ttg aaa cca ctt caa gat ttg act tct ctg atc	672
Gln Asp Val Ser Lys Leu Lys Pro Leu Gln Asp Leu Thr Ser Leu Ile	
210 215 220	
cta ctt gaa aat cca gtt gcg acc ctt cct cat tat atc cag ttt acc	720
Leu Leu Glu Asn Pro Val Ala Thr Leu Pro His Tyr Ile Gln Phe Thr	
225 230 235 240	

ES 2 660 414 T3

att ttt cac ctt cgc tca ttg gaa agt ttg gaa ggt cag cca gta act	768
Ile Phe His Leu Arg Ser Leu Glu Ser Leu Glu Gly Gln Pro Val Thr	
245 250 255	
agt cag gac aga caa gaa gct ttt gcg aga ttc agt tta gat gag gta	816
Ser Gln Asp Arg Gln Glu Ala Phe Ala Arg Phe Ser Leu Asp Glu Val	
260 265 270	
gaa aga ctg gaa aga gac ctg gag aag aag aca atg gaa act gaa gag	864
Glu Arg Leu Glu Arg Asp Leu Glu Lys Lys Thr Met Glu Thr Glu Glu	
275 280 285	
ctt agg agt gag cag aca agg ttc ctt gag gaa att aaa agt cag gat	912
Leu Arg Ser Glu Gln Thr Arg Phe Leu Glu Glu Ile Lys Ser Gln Asp	
290 295 300	
aaa ttg aac aaa tca ctg aaa gag gag gcc aga cta caa aaa cag agc	960
Lys Leu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Glu Ala Arg Leu Gln Lys Gln Ser	
305 310 315 320	
tat gag gag ctg gag agt aac cta aac acc aaa aat gaa ttg cta aaa	1008
Tyr Glu Glu Leu Glu Ser Asn Leu Asn Thr Lys Asn Glu Leu Leu Lys	
325 330 335	
cag aag acc atg gaa cta atg cga gca tgt cag aaa cag tat gag atg	1056
Gln Lys Thr Met Glu Leu Met Arg Ala Cys Gln Lys Gln Tyr Glu Met	
340 345 350	
gaa cag gag ttg gcc ttt tat aaa att gat gcc aaa ttt gaa cca cta	1104
Glu Gln Glu Leu Ala Phe Tyr Lys Ile Asp Ala Lys Phe Glu Pro Leu	
355 360 365	
aat tat tac cca tca gag tat gtc gaa att gat aaa acc cca gat gaa	1152
Asn Tyr Tyr Pro Ser Glu Tyr Val Glu Ile Asp Lys Thr Pro Asp Glu	
370 375 380	
agc cct tac att ggc aaa tcc aga tac aag aga aat atg ttc act aca	1200
Ser Pro Tyr Ile Gly Lys Ser Arg Tyr Lys Arg Asn Met Phe Thr Thr	
385 390 395 400	
gag agt tat att att gca aat gcc cag aca gta aag atc aag aag atg	1248
Glu Ser Tyr Ile Ile Ala Asn Ala Gln Thr Val Lys Ile Lys Lys Met	
405 410 415	
gag cta gat gaa ggg gaa caa ctc aga aat gag cac gtg aac ttg gga	1296
Glu Leu Asp Glu Gly Glu Gln Leu Arg Asn Glu His Val Asn Leu Gly	
420 425 430	
gca tcg cca aca gac ata caa ctg gaa gac aaa gaa aaa aaa ata agt	1344
Ala Ser Pro Thr Asp Ile Gln Leu Glu Asp Lys Glu Lys Lys Ile Ser	
435 440 445	
gca gca caa act cga cta tca gaa cta cat gat gaa ata gaa aag gca	1392
Ala Ala Gln Thr Arg Leu Ser Glu Leu His Asp Glu Ile Glu Lys Ala	
450 455 460	
gaa caa caa att tta aga gcc act gaa gaa ttt aaa caa ctg gaa gaa	1440
Glu Gln Gln Ile Leu Arg Ala Thr Glu Glu Phe Lys Gln Leu Glu Glu	
465 470 475 480	
gct ata caa ctt aaa aaa att tca gaa gcg gag aaa gac ctt ctt ttc	1488
Ala Ile Gln Leu Lys Lys Ile Ser Glu Ala Glu Lys Asp Leu Leu Phe	
485 490 495	

ES 2 660 414 T3

aag cag ttg agt ggt agg ata cag ctt ctc aat aaa tta cgc caa gaa	1536
Lys Gln Leu Ser Gly Arg Ile Gln Leu Leu Asn Lys Leu Arg Gln Glu	
500 505 510	
gct gtg gat cta gaa aca cag atg gaa aag caa agg caa gaa att ggt	1584
Ala Val Asp Leu Glu Thr Gln Met Glu Lys Gln Arg Gln Glu Ile Gly	
515 520 525	
gaa aag cag aat gag atc aag gac ctg gaa ata gtc aca gat agc ctg	1632
Glu Lys Gln Asn Glu Ile Lys Asp Leu Glu Ile Val Thr Asp Ser Leu	
530 535 540	
gat tcc aga gac cca aaa cat tgc cat atg aag gct cag aaa aga ggt	1680
Asp Ser Arg Asp Pro Lys His Cys His Met Lys Ala Gln Lys Arg Gly	
545 550 555 560	
aaa gaa caa caa ctt gac att atg aac aag cag tac aaa cag ctt gaa	1728
Lys Glu Gln Gln Leu Asp Ile Met Asn Lys Gln Tyr Lys Gln Leu Glu	
565 570 575	
agc cgt ttg gat gag ata ctt tct aga att gcc aaa gaa act gaa gag	1776
Ser Arg Leu Asp Glu Ile Leu Ser Arg Ile Ala Lys Glu Thr Glu Glu	
580 585 590	
att aag gac ctt gaa gaa cag ctt act gaa gga caa ata gcc gca aac	1824
Ile Lys Asp Leu Glu Glu Gln Leu Thr Glu Gly Gln Ile Ala Ala Asn	
595 600 605	
gaa gcc ctg aag aag gac tta gaa agt gtc atc agt ggg ttg caa gaa	1872
Glu Ala Leu Lys Lys Asp Leu Glu Ser Val Ile Ser Gly Leu Gln Glu	
610 615 620	
tac ctg gag act gtc aaa ggt cag gcc cgt cag gcc cag aat gag tgc	1920
Tyr Leu Glu Thr Val Lys Gly Gln Ala Arg Gln Ala Gln Asn Glu Cys	
625 630 635 640	
aga aag cta cag gat gag aag gag aca ttg ctg cag aga ttg agt gag	1968
Arg Lys Leu Gln Asp Glu Lys Glu Thr Leu Leu Gln Arg Leu Ser Glu	
645 650 655	
gtc gag cag gag agg gac caa ctg gaa ata gtg gcc ata gat gca gaa	2016
Val Glu Gln Glu Arg Asp Gln Leu Glu Ile Val Ala Ile Asp Ala Glu	
660 665 670	
aat atg agg aag gag ctc gca gaa ctg gag aat gcc ctc cag gag cag	2064
Asn Met Arg Lys Glu Leu Ala Glu Leu Glu Asn Ala Leu Gln Glu Gln	
675 680 685	
cat gag gtg aat ata tct ctg cag cag acc cag gga gat ctc agt gcc	2112
His Glu Val Asn Ile Ser Leu Gln Gln Thr Gln Gly Asp Leu Ser Ala	
690 695 700	
tat gag gct gag cta gag gct cag ctg aaa ata cgg gat gct gaa gcc	2160
Tyr Glu Ala Glu Leu Glu Ala Gln Leu Lys Ile Arg Asp Ala Glu Ala	
705 710 715 720	
aac cag ctc aag gag gag ttg gaa aaa ctt aga agg ttg agc cag tta	2208
Asn Gln Leu Lys Glu Glu Leu Glu Lys Leu Arg Arg Leu Ser Gln Leu	
725 730 735	
gaa caa tcg gcc ctt caa gca gag ctt gag aag gaa aag caa gcc ttc	2256
Glu Gln Ser Ala Leu Gln Ala Glu Leu Glu Lys Glu Lys Gln Ala Phe	

ES 2 660 414 T3

	740		745		750		
aag act gct gtc aaa aaa gcc cag ctc tca gaa gga aag gac caa gaa							2304
Lys Thr Ala Val Lys Lys Ala Gln Leu Ser Glu Gly Lys Asp Gln Glu							
	755		760		765		
aat agt gag ctc cgc aca caa ctc caa cag ctg cag gat gac aat gac							2352
Asn Ser Glu Leu Arg Thr Gln Leu Gln Gln Leu Gln Asp Asp Asn Asp							
	770		775		780		
cta ttg aaa cag caa ctt aaa gat ttc cag agt cac ctt aac cat gtg							2400
Leu Leu Lys Gln Gln Leu Lys Asp Phe Gln Ser His Leu Asn His Val							
	785		790		795		800
gtt gat ggt ttg att cgt cca gaa gaa gtg gca gct tgt gtg gat gag							2448
Val Asp Gly Leu Ile Arg Pro Glu Glu Val Ala Ala Cys Val Asp Glu							
		805		810		815	
cta agg aaa aaa ctg aag tca gga gct ggg gaa atg aga atc cat act							2496
Leu Arg Lys Lys Leu Lys Ser Gly Ala Gly Glu Met Arg Ile His Thr							
	820		825		830		
cct tca gat gtc tta ggg aaa agt ctt gct gac ttg cag aag caa ttc							2544
Pro Ser Asp Val Leu Gly Lys Ser Leu Ala Asp Leu Gln Lys Gln Phe							
	835		840		845		
agt gag atc ctg gca cgc tcc cag tgg gaa aga cag gaa gca caa gtg							2592
Ser Glu Ile Leu Ala Arg Ser Gln Trp Glu Arg Gln Glu Ala Gln Val							
	850		855		860		
aga gag aga aaa ctc cag gag gaa atg gct ctg caa caa gag aaa ctg							2640
Arg Glu Arg Lys Leu Gln Glu Glu Met Ala Leu Gln Gln Glu Lys Leu							
	865		870		875		880
gcg agc gga caa gag gag ttc agg cac gcc tgc gag agg gcc ctg gaa							2688
Ala Ser Gly Gln Glu Glu Phe Arg His Ala Cys Glu Arg Ala Leu Glu							
	885		890		895		
gcc cga att agt ttt gat aag agg cag cac gaa gca aga atc cag cag							2736
Ala Arg Ile Ser Phe Asp Lys Arg Gln His Glu Ala Arg Ile Gln Gln							
	900		905		910		
ttg gag aat gaa att cac tat ttg caa gaa aat cta aaa agt atg gag							2784
Leu Glu Asn Glu Ile His Tyr Leu Gln Glu Asn Leu Lys Ser Met Glu							
	915		920		925		
gaa atc caa ggt ctc aca gac ctc caa ctt cag gaa gct gat gaa gag							2832
Glu Ile Gln Gly Leu Thr Asp Leu Gln Leu Gln Glu Ala Asp Glu Glu							
	930		935		940		
aag gag aga att ctg gcc caa ctc cgg gag tta gag aaa aag aag aaa							2880
Lys Glu Arg Ile Leu Ala Gln Leu Arg Glu Leu Glu Lys Lys Lys Lys							
	945		950		955		960
ctt gag gat gcc aag tct cag gag cag ttt ctt gga tta gat aga gaa							2928
Leu Glu Asp Ala Lys Ser Gln Glu Gln Phe Leu Gly Leu Asp Arg Glu							
	965		970		975		
ttg aag aag cta aag aaa gct gtg gct gcc tct gat aag ctg gcc aca							2976
Leu Lys Lys Leu Lys Lys Ala Val Ala Ala Ser Asp Lys Leu Ala Thr							
	980		985		990		
gct gag ctc acc att gcc aaa gac cag ctc aag tcc ctt cat gga act							3024

ES 2 660 414 T3

Ala	Glu	Leu	Thr	Ile	Ala	Lys	Asp	Gln	Leu	Lys	Ser	Leu	His	Gly	Thr		
		995					1000					1005					
gtg	atg	aaa	att	aac	cag	gag	cga	gca	gag	gag	ctg	cag	gag	acg		3069	
Val	Met	Lys	Ile	Asn	Gln	Glu	Arg	Ala	Glu	Glu	Leu	Gln	Glu	Thr			
	1010					1015					1020						
gag	agg	ttc	agc	aga	aag	gca	gca	caa	gca	gct	agg	gat	ctg	atc		3114	
Glu	Arg	Phe	Ser	Arg	Lys	Ala	Ala	Gln	Ala	Ala	Arg	Asp	Leu	Ile			
	1025					1030					1035						
cga	gca	gaa	gcg	gag	att	gaa	ctc	ctg	cag	aag	ctt	ctc	aga	gat		3159	
Arg	Ala	Glu	Ala	Glu	Ile	Glu	Leu	Leu	Gln	Lys	Leu	Leu	Arg	Asp			
	1040					1045					1050						
aaa	gag	gag	cag	ttt	cga	aat	gag	att	gag	aaa	gta	gat	gtc	ggc		3204	
Lys	Glu	Glu	Gln	Phe	Arg	Asn	Glu	Ile	Glu	Lys	Val	Asp	Val	Gly			
	1055					1060					1065						
tct	gga	gga	gca	aag	tca	cag	atg	ctg	gag	atg	gag	aaa	cta	aat		3249	
Ser	Gly	Gly	Ala	Lys	Ser	Gln	Met	Leu	Glu	Met	Glu	Lys	Leu	Asn			
	1070					1075					1080						
gag	aca	atg	gag	agg	caa	aga	aca	gag	att	gct	agg	ctg	agg	aat		3294	
Glu	Thr	Met	Glu	Arg	Gln	Arg	Thr	Glu	Ile	Ala	Arg	Leu	Arg	Asn			
	1085					1090					1095						
tta	cta	gac	ctc	acc	ggg	gct	gat	aac	aaa	gga	aac	ttt	gaa	aat		3339	
Leu	Leu	Asp	Leu	Thr	Gly	Ala	Asp	Asn	Lys	Gly	Asn	Phe	Glu	Asn			
	1100					1105					1110						
gtt	ttg	gaa	gaa	att	gct	gaa	ctt	cga	cgt	gaa	gtt	tct	cat	cag		3384	
Val	Leu	Glu	Glu	Ile	Ala	Glu	Leu	Arg	Arg	Glu	Val	Ser	His	Gln			
	1115					1120					1125						
aat	gat	tac	atc	agc	agc	atg	aca	gat	cct	ttc	aaa	aga	cga	ggc		3429	
Asn	Asp	Tyr	Ile	Ser	Ser	Met	Thr	Asp	Pro	Phe	Lys	Arg	Arg	Gly			
	1130					1135					1140						
tat	tgg	tac	ttt	atg	cca	cca	cca	tca	tca	tca	aaa	gtt	tcc	agc		3474	
Tyr	Trp	Tyr	Phe	Met	Pro	Pro	Pro	Ser	Ser	Ser	Lys	Val	Ser	Ser			
	1145					1150					1155						
cac	agt	tcc	cag	gcc	acc	aag	gac	tct	ggt	gtt	ggc	cta	aag	tac		3519	
His	Ser	Ser	Gln	Ala	Thr	Lys	Asp	Ser	Gly	Val	Gly	Leu	Lys	Tyr			
	1160					1165					1170						
aca	gcc	tcc	act	ccg	gtt	aga	aaa	cca	cat	cgt	gga	cgg	cag	gat		3564	
Thr	Ala	Ser	Thr	Pro	Val	Arg	Lys	Pro	His	Arg	Gly	Arg	Gln	Asp			
	1175					1180					1185						
gga	aag	gag	aac	agt	ggg	cct	cca	cct	gcc	tca	gga	tac	tgg	gtg		3609	
Gly	Lys	Glu	Asn	Ser	Gly	Pro	Pro	Pro	Ala	Ser	Gly	Tyr	Trp	Val			
	1190					1195					1200						
tat	tct	cct	atc	agg	agt	ggg	tta	cat	aaa	tcg	ttc	tca	aat	aga		3654	
Tyr	Ser	Pro	Ile	Arg	Ser	Gly	Leu	His	Lys	Ser	Phe	Ser	Asn	Arg			
	1205					1210					1215						
gac	gca	gac	agt	gga	gga	gat	agc	cag	gaa	gag	agc	gag	cta	gat		3699	
Asp	Ala	Asp	Ser	Gly	Gly	Asp	Ser	Gln	Glu	Glu	Ser	Glu	Leu	Asp			
	1220					1225					1230						

ES 2 660 414 T3

gac Asp	caa Gln	gaa Glu	gac Asp	cac His	cca Pro	ttt Phe	gta Val	cct Pro	cct Pro	cct Pro	gga Gly	tac Tyr	atg Met	atg Met	3744
	1235					1240					1245				
tac Tyr	act Thr	gtg Val	ttt Phe	cct Pro	gat Asp	ggt Gly	tct Ser	cct Pro	gta Val	ccc Pro	cag Gln	ggc Gly	atg Met	gcc Ala	3789
	1250					1255					1260				
ctg Leu	tat Tyr	gca Ala	ccc Pro	cct Pro	cct Pro	ccc Pro	ttg Leu	ccc Pro	aac Asn	aat Asn	agc Ser	cag Gln	cct Pro	ctt Leu	3834
	1265					1270					1275				
gac Asp	ctt Leu	ggc Gly	act Thr	gtt Val	gtt Val	tat Tyr	ggc Gly	cca Pro	cct Pro	cct Pro	ggt Val	ggg Gly	gct Ala	ccc Pro	3879
	1280					1285					1290				
atc Ile	gtg Val	tat Tyr	ggg Gly	cct Pro	cca Pro	cct Pro	ccc Pro	aac Asn	ttc Phe	tcc Ser	gta Val	ccc Pro	ctc Leu	atc Ile	3924
	1295					1300					1305				
ccc Pro	gtg Val	ggt Gly	gtg Val	ctg Leu	cac His	tgc Cys	aat Asn	gtc Val	cca Pro	gaa Glu	cac His	cat His	aac Asn	ttg Leu	3969
	1310					1315					1320				
gag Glu	aat Asn	gaa Glu	gtt Val	tct Ser	aga Arg	tta Leu	gaa Glu	gac Asp	ata Ile	atg Met	cag Gln	cat His	tta Leu	aaa Lys	4014
	1325					1330					1335				
tct Ser	ggg Gly	aaa Lys	cgg Arg	gaa Glu	cag Gln	tgc Cys	atg Met	aaa Lys	aca Thr	ccc Pro	aag Lys	ctg Leu	cag Gln	tcg Ser	4059
	1340					1345					1350				
gag Glu	aaa Lys	gaa Glu	ctc Leu	gca Ala	gag Glu	ctg Leu	cag Gln	cat His	aac Asn	att Ile	gat Asp	ggt Gly	ctt Leu	ttg Leu	4104
	1355					1360					1365				
caa Gln	gag Glu	aag Lys	aaa Lys	gac Asp	tta Leu	gag Glu	cat His	gaa Glu	gta Val	gaa Glu	gaa Glu	tta Leu	cat His	aga Arg	4149
	1370					1375					1380				
acc Thr	atc Ile	caa Gln	aaa Lys	cat His	caa Gln	cag Gln	cga Arg	aaa Lys	gat Asp	ttc Phe	att Ile	gat Asp	gga Gly	aac Asn	4194
	1385					1390					1395				
gtt Val	gag Glu	agt Ser	ctt Leu	gtg Val	aat Asn	gat Asp	cta Leu	gaa Glu	ata Ile	gag Glu	aag Lys	tca Ser	ctc Leu	aaa Lys	4239
	1400					1405					1410				
cac His	cat His	gaa Glu	gat Asp	att Ile	gtt Val	gat Asp	gaa Glu	att Ile	gaa Glu	tgt Cys	att Ile	gag Glu	agg Arg	acc Thr	4284
	1415					1420					1425				
ctt Leu	ctg Leu	aag Lys	cgc Arg	cgt Arg	gca Ala	gag Glu	ctc Leu	agg Arg	gaa Glu	gcc Ala	gac Asp	cgg Arg	ctg Leu	ctg Leu	4329
	1430					1435					1440				
acg Thr	gag Glu	gct Ala	gaa Glu	agt Ser	gaa Glu	ctt Leu	tca Ser	tgc Cys	acg Thr	aaa Lys	gag Glu	aaa Lys	aca Thr	aaa Lys	4374
	1445					1450					1455				
cat His	gct Ala	gtt Val	gag Glu	aag Lys	ttc Phe	act Thr	gat Asp	gcc Ala	aag Lys	aga Arg	aat Asn	tta Leu	ttg Leu	caa Gln	4419
	1460					1465					1470				

ES 2 660 414 T3

act gag	aaa gat	gct gag	gag gag	tta gaa	agg aga	gcc cag	gaa act	4464
Thr Glu	Lys Asp	Ala Glu	Glu Glu	Leu Glu	Arg Arg	Ala Gln	Glu Thr	
1475			1480			1485		
gcc att	aac ctc	gtc aaa	gcc gag	cag cag	ctg aga	ttg ctc	cag cag	4509
Ala Ile	Asn Leu	Val Lys	Ala Asp	Gln Gln	Leu Arg	Leu Leu	Gln Gln	
1490			1495			1500		
gct gac	acg aag	gat ttg	gag gag	cag cac	aaa atg	gag caa	gag gaa	4554
Ala Asp	Thr Lys	Asp Leu	Glu Glu	Gln His	Lys Met	Glu Gln	Glu Glu	
1505			1510			1515		
atc ttg	aaa gaa	ata aac	aaa gag	gtt gtt	gca gca	aaa gac	tca gac	4599
Ile Leu	Lys Glu	Ile Asn	Lys Val	Val Val	Ala Ala	Lys Asp	Ser Asp	
1520			1525			1530		
ttc cag	agc cta	aac aag	aag gag	aag gaa	gta ctg	aca gga	gag gag	4644
Phe Gln	Ser Leu	Asn Lys	Lys Lys	Lys Glu	Val Leu	Thr Thr	Gly Glu	
1535			1540			1545	Leu Leu	
cag aaa	ctc cag	aag gac	att gag	act gca	cgg cac	aat gag	gat gat	4689
Gln Lys	Leu Gln	Lys Asp	Ile Glu	Thr Ala	Arg His	Asn Glu	Asp Asp	
1550			1555			1560		
cag cac	ctg cag	gtc ctt	aaa gag	tcg gag	acc ctc	ctg cag	gcc gcc	4734
Gln His	Leu Gln	Val Leu	Lys Glu	Ser Glu	Thr Leu	Leu Gln	Ala Ala	
1565			1570			1575		
aag aaa	gct gag	ctg gaa	aat ctg	aaa agc	cag gtg	tca gga	cag cag	4779
Lys Lys	Ala Glu	Leu Glu	Asn Leu	Lys Ser	Gln Val	Ser Gly	Gln Gln	
1580			1585			1590		
cag cag	gag atg	gcc gtc	ttg gag	cag agg	gag tta	gga cac	aag aag	4824
Gln Gln	Glu Met	Ala Val	Leu Leu	Asp Arg	Glu Leu	Gly His	Lys Lys	
1595			1600			1605		
gaa gag	ctg cat	ctc ctc	cag gag	gaa agc	atg gtc	cag gcc	aaa gct	4869
Glu Glu	Leu His	Leu Leu	Gln Glu	Glu Ser	Met Val	Gln Ala	Lys Ala	
1610			1615			1620		
gac ctc	cag gaa	gca ctg	aga cta	gga gaa	agt gaa	gta act	gag gag	4914
Asp Leu	Gln Glu	Ala Leu	Arg Leu	Gly Glu	Ser Ser	Glu Val	Thr Glu	
1625			1630			1635		
aag tgc	aat cac	att agg	gaa gta	aaa tct	ctt ctg	gaa gaa	ctc ctc	4959
Lys Cys	Asn His	Ile Arg	Glu Val	Lys Ser	Leu Leu	Glu Glu	Leu Leu	
1640			1645			1650		
agt ttt	cag aaa	gga gaa	ctg aat	gtc cag	atc agt	gaa aaa	aaa aaa	5004
Ser Phe	Gln Lys	Gly Glu	Leu Asn	Val Gln	Ile Ile	Ser Glu	Lys Lys	
1655			1660			1665		
act caa	ctt gca	ctc ata	aag cag	gaa gaa	att gaa	aaa gag	gaa gac	5049
Thr Gln	Leu Ala	Leu Ile	Lys Gln	Glu Glu	Ile Glu	Lys Glu	Glu Asp	
1670			1675			1680		
aat ctt	cag gta	gtt tta	ggg caa	atg tct	aaa cat	aaa act	gaa gaa	5094
Asn Leu	Gln Val	Val Leu	Gly Gln	Met Ser	Lys His	Lys Thr	Glu Glu	
1685			1690			1695		
cta aag	aat att	ctg gac	atg ttg	caa ctt	gaa aat	aat gag	ctg ctg	5139
Leu Lys	Asn Ile	Leu Asp	Met Leu	Gln Leu	Glu Glu	Asn Asn	Glu Leu	

ES 2 660 414 T3

1700		1705		1710		
caa ggt	ttg aag	ctc caa	cat	gac caa	aag atg	tct gaa
Gln Gly	Leu Lys	Leu Gln	His	Asp Gln	Lys Met	Ser Glu
1715		1720		1725		5184
aag act	cgg gtt	gaa gtg	ctg	gag gag	aaa ctg	gag tta
Lys Thr	Arg Val	Glu Val	Leu	Glu Glu	Lys Leu	Glu Leu
1730		1735		1740		5229
ctg cag	cag gca	gcc ctg	cga	cag aga	ggg gag	ata gag
Leu Gln	Gln Ala	Ala Leu	Arg	Gln Arg	Gly Glu	Ile Glu
1745		1750		1755		5274
aag cag	ctc ctc	cag agg	aac	aca cag	gaa gta	gag cgg
Lys Gln	Leu Leu	Gln Arg	Asn	Thr Gln	Glu Val	Glu Arg
1760		1765		1770		5319
gct gag	acc cga	gca tta	cag	tca tgt	gtt gag	tct ttg
Ala Glu	Thr Arg	Ala Leu	Gln	Ser Cys	Val Glu	Ser Leu
1775		1780		1785		5364
gaa aag	caa gat	ctc gaa	gaa	aaa cag	gac agc	tgg gaa
Glu Lys	Gln Asp	Leu Glu	Glu	Lys Gln	Asp Ser	Trp Glu
1790		1795		1800		5409
ttg gca	cag acc	aaa cgg	gtt	cta gca	gct gca	gaa gag
Leu Ala	Gln Thr	Lys Arg	Val	Leu Ala	Ala Ala	Glu Glu
1805		1810		1815		5454
gag atg	gag cgg	gca cgc	tta	gaa aag	ttg gaa	ctg gac
Glu Met	Glu Arg	Ala Arg	Leu	Glu Lys	Leu Glu	Leu Asp
1820		1825		1830		5499
aag ctg	cag cag	gag ttg	gac	caa cga	aac agg	gag aag
Lys Leu	Gln Gln	Glu Leu	Asp	Gln Arg	Asn Arg	Glu Lys
1835		1840		1845		5544
ctg cat	caa gac	ctg gca	gtg	gtg cag	cag cag	cta caa
Leu His	Gln Asp	Leu Ala	Val	Val Gln	Gln Gln	Leu Gln
1850		1855		1860		5589
cag gaa	gca gta	aac tca	tta	cag aag	gaa cta	gct gat
Gln Glu	Ala Val	Asn Ser	Leu	Gln Lys	Glu Leu	Ala Asp
1865		1870		1875		5634
gag cat	ttg gac	cta gca	gaa	cag gag	gtg ctc	tgc acc
Glu His	Leu Asp	Leu Ala	Glu	Gln Glu	Val Leu	Cys Thr
1880		1885		1890		5679
cgc aag	gac gca	ctg ctc	agc	gaa cag	acc agg	ctc gag
Arg Lys	Asp Ala	Leu Leu	Ser	Glu Gln	Thr Arg	Leu Glu
1895		1900		1905		5724
gtg ggt	gaa tgg	acg aag	aag	ttt gaa	gac tgc	cag aaa
Val Gly	Glu Trp	Thr Lys	Lys	Phe Glu	Asp Cys	Gln Lys
1910		1915		1920		5769
gag aca	aag cag	caa cag	ctt	caa ggg	ctt cag	aag gag
Glu Thr	Lys Gln	Gln Gln	Leu	Gln Gly	Leu Gln	Lys Glu
1925		1930		1935		5814
gga aac	gag gcg	aag cta	gcc	caa caa	gaa atg	atg ttt
						cag aga
						5859

ES 2 660 414 T3

Gly	Asn	Glu	Ala	Lys	Leu	Ala	Gln	Gln	Glu	Met	Met	Phe	Gln	Arg			
	1940					1945					1950						
ctc	cag	aaa	gag	cga	gaa	tgt	gaa	gaa	aaa	aag	tta	gaa	gct	agt		5904	
Leu	Gln	Lys	Glu	Arg	Glu	Cys	Glu	Glu	Lys	Lys	Leu	Glu	Ala	Ser			
	1955					1960					1965						
aaa	gtg	act	ctg	aag	gag	cag	cag	caa	cag	ctg	gaa	aag	gaa	ttg		5949	
Lys	Val	Thr	Leu	Lys	Glu	Gln	Gln	Gln	Gln	Leu	Glu	Lys	Glu	Leu			
	1970					1975					1980						
atg	gag	cag	aaa	ggc	aag	ctg	gac	cag	gtg	ctc	gct	aag	ctc	ttg		5994	
Met	Glu	Gln	Lys	Gly	Lys	Leu	Asp	Gln	Val	Leu	Ala	Lys	Leu	Leu			
	1985					1990					1995						
gtg	gct	gag	gag	cgt	gtc	agg	acc	ttg	cag	gag	gag	gga	agg	tgg		6039	
Val	Ala	Glu	Glu	Arg	Val	Arg	Thr	Leu	Gln	Glu	Glu	Gly	Arg	Trp			
	2000					2005					2010						
agc	gag	acc	ctg	gag	aag	acg	ctc	tcc	cag	acc	aag	cga	cag	ctt		6084	
Ser	Glu	Thr	Leu	Glu	Lys	Thr	Leu	Ser	Gln	Thr	Lys	Arg	Gln	Leu			
	2015					2020					2025						
tca	gaa	cgg	gag	cag	cag	tta	ctg	gcc	aag	tca	gac	gag	ctg	ctg		6129	
Ser	Glu	Arg	Glu	Gln	Gln	Leu	Leu	Ala	Lys	Ser	Asp	Glu	Leu	Leu			
	2030					2035					2040						
gcc	ctg	cag	aag	gag	acg	gac	tcc	atg	agg	gcg	gac	ttc	agc	ctc		6174	
Ala	Leu	Gln	Lys	Glu	Thr	Asp	Ser	Met	Arg	Ala	Asp	Phe	Ser	Leu			
	2045					2050					2055						
ttg	cgc	aac	cag	ttc	ctg	aca	gaa	aga	aag	aaa	gcc	gag	aag	cag		6219	
Leu	Arg	Asn	Gln	Phe	Leu	Thr	Glu	Arg	Lys	Lys	Ala	Glu	Lys	Gln			
	2060					2065					2070						
gtg	gcc	agc	ctg	aag	gaa	gcc	ctt	aag	atc	cag	cgg	agc	caa	ctg		6264	
Val	Ala	Ser	Leu	Lys	Glu	Ala	Leu	Lys	Ile	Gln	Arg	Ser	Gln	Leu			
	2075					2080					2085						
gag	aag	aac	ctt	ctg	gag	caa	aag	cag	gag	aac	agc	tgc	atg	cag		6309	
Glu	Lys	Asn	Leu	Leu	Glu	Gln	Lys	Gln	Glu	Asn	Ser	Cys	Met	Gln			
	2090					2095					2100						
agg	gag	atg	gca	acc	atc	gaa	cag	gtg	gcc	cag	gac	aac	cac	gag		6354	
Arg	Glu	Met	Ala	Thr	Ile	Glu	Gln	Val	Ala	Gln	Asp	Asn	His	Glu			
	2105					2110					2115						
cgg	gcc	cgg	cgc	ctg	atg	agg	gag	ctc	aac	cag	atg	cag	cgc	gag		6399	
Arg	Ala	Arg	Arg	Leu	Met	Arg	Glu	Leu	Asn	Gln	Met	Gln	Arg	Glu			
	2120					2125					2130						
tac	gtg	gag	ctc	agg	aaa	cag	atg	aca	aac	caa	aag	gat	ttg	gaa		6444	
Tyr	Val	Glu	Leu	Arg	Lys	Gln	Met	Thr	Asn	Gln	Lys	Asp	Leu	Glu			
	2135					2140					2145						
aga	aga	cag	atg	gaa	atc	agt	gat	gcg	atg	caa	gca	ctt	aaa	tgt		6489	
Arg	Arg	Gln	Met	Glu	Ile	Ser	Asp	Ala	Met	Gln	Ala	Leu	Lys	Cys			
	2150					2155					2160						
gag	gtg	aaa	gat	gaa	atc	cga	acc	agc	ctg	aag	aat	ctc	aac	cag		6534	
Glu	Val	Lys	Asp	Glu	Ile	Arg	Thr	Ser	Leu	Lys	Asn	Leu	Asn	Gln			
	2165					2170					2175						

ES 2 660 414 T3

ttt ctt cca gag ctg cca gcg gac ctg gag gcc ctt ctg gaa agg 6579 Phe Leu Pro Glu Leu Pro Ala Asp Leu Glu Ala Leu Leu Glu Arg 2180 2185 2190
aat gag aac ctt gga gga ggc ttg gag agc ttg aaa gag aat ttc 6624 Asn Glu Asn Leu Gly Gly Gly Leu Glu Ser Leu Lys Glu Asn Phe 2195 2200 2205
ccg ttt acc gtg agc gac aga cca tca tct tgc gaa gag aaa ctg 6669 Pro Phe Thr Val Ser Asp Arg Pro Ser Ser Cys Glu Glu Lys Leu 2210 2215 2220
aat ttt ggc cag gct cac gtg gcg gat gaa cag tgg cgg gga gag 6714 Asn Phe Gly Gln Ala His Val Ala Asp Glu Gln Trp Arg Gly Glu 2225 2230 2235
gca ctc cgg gag aag ctg cgc cac cgc gag gac cgg ctc aag gcc 6759 Ala Leu Arg Glu Lys Leu Arg His Arg Glu Asp Arg Leu Lys Ala 2240 2245 2250
cag ctg cgc cgc tgc atg tcc aag cag gcc gag gtg ctg agc gag 6804 Gln Leu Arg Arg Cys Met Ser Lys Gln Ala Glu Val Leu Ser Glu 2255 2260 2265
ggc cgg cgg cgc acg gag ggg acc ctg cac agc ctg cgg cgg cag 6849 Gly Arg Arg Arg Thr Glu Gly Thr Leu His Ser Leu Arg Arg Gln 2270 2275 2280
gtg gac gcc ctg ggc gag ctg gtc acc agc act tcc ggg gac tcc 6894 Val Asp Ala Leu Gly Glu Leu Val Thr Ser Thr Ser Gly Asp Ser 2285 2290 2295
gcg tcc acc cgc agt ctg tcg cgc acc gag ggc tcg ctc gcc gag 6939 Ala Ser Thr Arg Ser Leu Ser Arg Thr Glu Gly Ser Leu Ala Glu 2300 2305 2310
gac gaa ccg ccg ggg ccc agc cag gag ctg cac gtg ctg ggg tcg 6984 Asp Glu Pro Pro Gly Pro Ser Gln Glu Leu His Val Leu Gly Ser 2315 2320 2325
ggc ggc agc gac cga ggt gga gga cgg ggc ggg ggc agg aag ggc 7029 Gly Gly Ser Asp Arg Gly Gly Gly Arg Gly Gly Gly Arg Lys Gly 2330 2335 2340
ctt tcc cga cgc cgc cgc tgg aac cac gga gaa gcg cgc ctc ggc 7074 Leu Ser Arg Arg Arg Arg Trp Asn His Gly Glu Ala Arg Leu Gly 2345 2350 2355
ccg cgg agg ccc cca cgg gag ggg gca ggg cgg ggc gcg gcc ttc 7119 Pro Arg Arg Pro Pro Arg Glu Gly Ala Gly Arg Gly Ala Ala Phe 2360 2365 2370
cga gcc ttg gtc tcc tgc tcc cgc cct gca gag ctc ccg gcg gct 7164 Arg Ala Leu Val Ser Cys Ser Arg Pro Ala Glu Leu Pro Ala Ala 2375 2380 2385
ccc ccg agg ccc gtc gcc gcg gct gga cgc gca ccg acc ctg agg 7209 Pro Pro Arg Pro Val Ala Ala Ala Gly Arg Ala Pro Thr Leu Arg 2390 2395 2400
acc cgg agg acc cgg agg ccc ggc gtc ccc tcg gaa cgc ttc ctc 7254 Thr Arg Arg Thr Arg Arg Pro Gly Val Pro Ser Glu Arg Phe Leu 2405 2410 2415

ES 2 660 414 T3

cgc gtc cgc gga cac cag gct cac ggg aag gcg cgt cca tgc ggg 7299
 Arg Val Arg Gly His Gln Ala His Gly Lys Ala Arg Pro Cys Gly
 2420 2425 2430

 aag agc cgc gag cgg aac ccg gat gcc cgg gct ggt ctc tgg gcc 7344
 Lys Ser Arg Glu Arg Asn Pro Asp Ala Arg Ala Gly Leu Trp Ala
 2435 2440 2445

 ttg gaa acg tgt tgc cgt aaa agc agc gcc cgc ggc tgc gga ctt 7389
 Leu Glu Thr Cys Cys Arg Lys Ser Ser Ala Arg Gly Cys Gly Leu
 2450 2455 2460

 gaa gcc ccg aac tgc cgc cgt gcc cgg tgc gga gcg agc gtg cgg 7434
 Glu Ala Pro Asn Cys Arg Arg Ala Arg Cys Gly Ala Ser Val Arg
 2465 2470 2475

 tac cct ctc gtg cct cgg ggc cgg act gga cga ggg gcc gtg acc 7479
 Tyr Pro Leu Val Pro Arg Gly Arg Thr Gly Arg Gly Ala Val Thr
 2480 2485 2490

 ccg tgg ggc cgc ctg cag tcc cga ggg acg cgg acc acc ccc cgg 7524
 Pro Trp Gly Arg Leu Gln Ser Arg Gly Thr Arg Thr Thr Pro Arg
 2495 2500 2505

 ccg gtg cga cgg gag cat ccc cag cac cag gaa agg ccc cca ggg 7569
 Pro Val Arg Arg Glu His Pro Gln His Gln Glu Arg Pro Pro Gly
 2510 2515 2520

 cgc gtt acc gcg gcc cac act gag acc gcc cct ccc cgc cgg gtg 7614
 Arg Val Thr Ala Ala His Thr Glu Thr Ala Pro Pro Arg Arg Val
 2525 2530 2535

 ttc cac gcg cga gta gca gtc ggg gag gtc agc ctc ggg ccc ggc 7659
 Phe His Ala Arg Val Ala Val Gly Glu Val Ser Leu Gly Pro Gly
 2540 2545 2550

 cgc ggt ctc gag cga aca cgg ggc ggg ggc ggg ggg gcg ggg gcg 7704
 Arg Gly Leu Glu Arg Thr Arg Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Ala
 2555 2560 2565

 gga ctc ctc gca gag gcc gcg gcc acg gcc cgg tgc gca gac ccc 7749
 Gly Leu Leu Ala Glu Ala Ala Ala Thr Ala Arg Cys Ala Asp Pro
 2570 2575 2580

 tcc aca gac ccc tcc gca tag 7770
 Ser Thr Asp Pro Ser Ala
 2585

<210> 28
 <211> 2589
 <212> PRT
 <213> *Canis familiaris*

<400> 28

Met Lys Lys Gly Ser Gln Gln Lys Phe Leu Lys Ala Lys Met Pro Pro
 1 5 10 15

Ser Ser His Ser Pro Ser Pro Pro Ser Leu Thr Ser Asn Met Arg Ser
 20 25 30

5

10

ES 2 660 414 T3

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

ES 2 660 414 T3

	275						280									285
Leu	Arg	Ser	Glu	Gln	Thr	Arg	Phe	Leu	Glu	Glu	Ile	Lys	Ser	Gln	Asp	
	290					295					300					
Lys	Leu	Asn	Lys	Ser	Leu	Lys	Glu	Glu	Ala	Arg	Leu	Gln	Lys	Gln	Ser	
305					310					315						320
Tyr	Glu	Glu	Leu	Glu	Ser	Asn	Leu	Asn	Thr	Lys	Asn	Glu	Leu	Leu	Lys	
				325					330					335		
Gln	Lys	Thr	Met	Glu	Leu	Met	Arg	Ala	Cys	Gln	Lys	Gln	Tyr	Glu	Met	
			340					345					350			
Glu	Gln	Glu	Leu	Ala	Phe	Tyr	Lys	Ile	Asp	Ala	Lys	Phe	Glu	Pro	Leu	
		355					360					365				
Asn	Tyr	Tyr	Pro	Ser	Glu	Tyr	Val	Glu	Ile	Asp	Lys	Thr	Pro	Asp	Glu	
	370					375					380					
Ser	Pro	Tyr	Ile	Gly	Lys	Ser	Arg	Tyr	Lys	Arg	Asn	Met	Phe	Thr	Thr	
385					390					395					400	
Glu	Ser	Tyr	Ile	Ile	Ala	Asn	Ala	Gln	Thr	Val	Lys	Ile	Lys	Lys	Met	
				405					410					415		
Glu	Leu	Asp	Glu	Gly	Glu	Gln	Leu	Arg	Asn	Glu	His	Val	Asn	Leu	Gly	
			420					425					430			
Ala	Ser	Pro	Thr	Asp	Ile	Gln	Leu	Glu	Asp	Lys	Glu	Lys	Lys	Ile	Ser	
		435					440					445				
Ala	Ala	Gln	Thr	Arg	Leu	Ser	Glu	Leu	His	Asp	Glu	Ile	Glu	Lys	Ala	
	450					455					460					
Glu	Gln	Gln	Ile	Leu	Arg	Ala	Thr	Glu	Glu	Phe	Lys	Gln	Leu	Glu	Glu	
465					470					475					480	
Ala	Ile	Gln	Leu	Lys	Lys	Ile	Ser	Glu	Ala	Glu	Lys	Asp	Leu	Leu	Phe	
				485					490					495		
Lys	Gln	Leu	Ser	Gly	Arg	Ile	Gln	Leu	Leu	Asn	Lys	Leu	Arg	Gln	Glu	
			500					505					510			
Ala	Val	Asp	Leu	Glu	Thr	Gln	Met	Glu	Lys	Gln	Arg	Gln	Glu	Ile	Gly	
		515					520					525				

ES 2 660 414 T3

Glu Lys Gln Asn Glu Ile Lys Asp Leu Glu Ile Val Thr Asp Ser Leu
 530 535 540

Asp Ser Arg Asp Pro Lys His Cys His Met Lys Ala Gln Lys Arg Gly
 545 550 555 560

Lys Glu Gln Gln Leu Asp Ile Met Asn Lys Gln Tyr Lys Gln Leu Glu
 565 570 575

Ser Arg Leu Asp Glu Ile Leu Ser Arg Ile Ala Lys Glu Thr Glu Glu
 580 585 590

Ile Lys Asp Leu Glu Glu Gln Leu Thr Glu Gly Gln Ile Ala Ala Asn
 595 600 605

Glu Ala Leu Lys Lys Asp Leu Glu Ser Val Ile Ser Gly Leu Gln Glu
 610 615 620

Tyr Leu Glu Thr Val Lys Gly Gln Ala Arg Gln Ala Gln Asn Glu Cys
 625 630 635 640

Arg Lys Leu Gln Asp Glu Lys Glu Thr Leu Leu Gln Arg Leu Ser Glu
 645 650 655

Val Glu Gln Glu Arg Asp Gln Leu Glu Ile Val Ala Ile Asp Ala Glu
 660 665 670

Asn Met Arg Lys Glu Leu Ala Glu Leu Glu Asn Ala Leu Gln Glu Gln
 675 680 685

His Glu Val Asn Ile Ser Leu Gln Gln Thr Gln Gly Asp Leu Ser Ala
 690 695 700

Tyr Glu Ala Glu Leu Glu Ala Gln Leu Lys Ile Arg Asp Ala Glu Ala
 705 710 715 720

Asn Gln Leu Lys Glu Glu Leu Glu Lys Leu Arg Arg Leu Ser Gln Leu
 725 730 735

Glu Gln Ser Ala Leu Gln Ala Glu Leu Glu Lys Glu Lys Gln Ala Phe
 740 745 750

Lys Thr Ala Val Lys Lys Ala Gln Leu Ser Glu Gly Lys Asp Gln Glu
 755 760 765

Asn Ser Glu Leu Arg Thr Gln Leu Gln Gln Leu Gln Asp Asp Asn Asp
 770 775 780

ES 2 660 414 T3

Leu Leu Lys Gln Gln Leu Lys Asp Phe Gln Ser His Leu Asn His Val
 785 790 795 800
 Val Asp Gly Leu Ile Arg Pro Glu Glu Val Ala Ala Cys Val Asp Glu
 805 810 815
 Leu Arg Lys Lys Leu Lys Ser Gly Ala Gly Glu Met Arg Ile His Thr
 820 825 830
 Pro Ser Asp Val Leu Gly Lys Ser Leu Ala Asp Leu Gln Lys Gln Phe
 835 840 845
 Ser Glu Ile Leu Ala Arg Ser Gln Trp Glu Arg Gln Glu Ala Gln Val
 850 855 860
 Arg Glu Arg Lys Leu Gln Glu Glu Met Ala Leu Gln Gln Glu Lys Leu
 865 870 875 880
 Ala Ser Gly Gln Glu Glu Phe Arg His Ala Cys Glu Arg Ala Leu Glu
 885 890 895
 Ala Arg Ile Ser Phe Asp Lys Arg Gln His Glu Ala Arg Ile Gln Gln
 900 905 910
 Leu Glu Asn Glu Ile His Tyr Leu Gln Glu Asn Leu Lys Ser Met Glu
 915 920 925
 Glu Ile Gln Gly Leu Thr Asp Leu Gln Leu Gln Glu Ala Asp Glu Glu
 930 935 940
 Lys Glu Arg Ile Leu Ala Gln Leu Arg Glu Leu Glu Lys Lys Lys Lys
 945 950 955 960
 Leu Glu Asp Ala Lys Ser Gln Glu Gln Phe Leu Gly Leu Asp Arg Glu
 965 970 975
 Leu Lys Lys Leu Lys Lys Ala Val Ala Ala Ser Asp Lys Leu Ala Thr
 980 985 990
 Ala Glu Leu Thr Ile Ala Lys Asp Gln Leu Lys Ser Leu His Gly Thr
 995 1000 1005
 Val Met Lys Ile Asn Gln Glu Arg Ala Glu Glu Leu Gln Glu Thr
 1010 1015 1020
 Glu Arg Phe Ser Arg Lys Ala Ala Gln Ala Ala Arg Asp Leu Ile
 1025 1030 1035

ES 2 660 414 T3

Arg Ala Glu Ala Glu Ile Glu Leu Leu Gln Lys Leu Leu Arg Asp
1040 1045 1050

Lys Glu Glu Gln Phe Arg Asn Glu Ile Glu Lys Val Asp Val Gly
1055 1060 1065

Ser Gly Gly Ala Lys Ser Gln Met Leu Glu Met Glu Lys Leu Asn
1070 1075 1080

Glu Thr Met Glu Arg Gln Arg Thr Glu Ile Ala Arg Leu Arg Asn
1085 1090 1095

Leu Leu Asp Leu Thr Gly Ala Asp Asn Lys Gly Asn Phe Glu Asn
1100 1105 1110

Val Leu Glu Glu Ile Ala Glu Leu Arg Arg Glu Val Ser His Gln
1115 1120 1125

Asn Asp Tyr Ile Ser Ser Met Thr Asp Pro Phe Lys Arg Arg Gly
1130 1135 1140

Tyr Trp Tyr Phe Met Pro Pro Pro Ser Ser Ser Lys Val Ser Ser
1145 1150 1155

His Ser Ser Gln Ala Thr Lys Asp Ser Gly Val Gly Leu Lys Tyr
1160 1165 1170

Thr Ala Ser Thr Pro Val Arg Lys Pro His Arg Gly Arg Gln Asp
1175 1180 1185

Gly Lys Glu Asn Ser Gly Pro Pro Pro Ala Ser Gly Tyr Trp Val
1190 1195 1200

Tyr Ser Pro Ile Arg Ser Gly Leu His Lys Ser Phe Ser Asn Arg
1205 1210 1215

Asp Ala Asp Ser Gly Gly Asp Ser Gln Glu Glu Ser Glu Leu Asp
1220 1225 1230

Asp Gln Glu Asp His Pro Phe Val Pro Pro Pro Gly Tyr Met Met
1235 1240 1245

Tyr Thr Val Phe Pro Asp Gly Ser Pro Val Pro Gln Gly Met Ala
1250 1255 1260

Leu Tyr Ala Pro Pro Pro Pro Leu Pro Asn Asn Ser Gln Pro Leu

ES 2 660 414 T3

1265							1270								1275
Asp	Leu	Gly	Thr	Val	Val	Tyr	Gly	Pro	Pro	Pro	Val	Gly	Ala	Pro	
1280						1285					1290				
Ile	Val	Tyr	Gly	Pro	Pro	Pro	Pro	Asn	Phe	Ser	Val	Pro	Leu	Ile	
1295						1300					1305				
Pro	Val	Gly	Val	Leu	His	Cys	Asn	Val	Pro	Glu	His	His	Asn	Leu	
1310						1315					1320				
Glu	Asn	Glu	Val	Ser	Arg	Leu	Glu	Asp	Ile	Met	Gln	His	Leu	Lys	
1325						1330					1335				
Ser	Gly	Lys	Arg	Glu	Gln	Cys	Met	Lys	Thr	Pro	Lys	Leu	Gln	Ser	
1340						1345					1350				
Glu	Lys	Glu	Leu	Ala	Glu	Leu	Gln	His	Asn	Ile	Asp	Gly	Leu	Leu	
1355						1360					1365				
Gln	Glu	Lys	Lys	Asp	Leu	Glu	His	Glu	Val	Glu	Glu	Leu	His	Arg	
1370						1375					1380				
Thr	Ile	Gln	Lys	His	Gln	Gln	Arg	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp	Gly	Asn	
1385						1390					1395				
Val	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Asp	Leu	Glu	Ile	Glu	Lys	Ser	Leu	Lys	
1400						1405					1410				
His	His	Glu	Asp	Ile	Val	Asp	Glu	Ile	Glu	Cys	Ile	Glu	Arg	Thr	
1415						1420					1425				
Leu	Leu	Lys	Arg	Arg	Ala	Glu	Leu	Arg	Glu	Ala	Asp	Arg	Leu	Leu	
1430						1435					1440				
Thr	Glu	Ala	Glu	Ser	Glu	Leu	Ser	Cys	Thr	Lys	Glu	Lys	Thr	Lys	
1445						1450					1455				
His	Ala	Val	Glu	Lys	Phe	Thr	Asp	Ala	Lys	Arg	Asn	Leu	Leu	Gln	
1460						1465					1470				
Thr	Glu	Lys	Asp	Ala	Glu	Glu	Leu	Glu	Arg	Arg	Ala	Gln	Glu	Thr	
1475						1480					1485				
Ala	Ile	Asn	Leu	Val	Lys	Ala	Asp	Gln	Gln	Leu	Arg	Leu	Leu	Gln	
1490						1495					1500				

ES 2 660 414 T3

Ala Asp Thr Lys Asp Leu Glu Gln His Lys Met Glu Gln Glu Glu
1505 1510 1515

Ile Leu Lys Glu Ile Asn Lys Val Val Ala Ala Lys Asp Ser Asp
1520 1525 1530

Phe Gln Ser Leu Asn Lys Lys Lys Glu Val Leu Thr Gly Glu Leu
1535 1540 1545

Gln Lys Leu Gln Lys Asp Ile Glu Thr Ala Arg His Asn Glu Asp
1550 1555 1560

Gln His Leu Gln Val Leu Lys Glu Ser Glu Thr Leu Leu Gln Ala
1565 1570 1575

Lys Lys Ala Glu Leu Glu Asn Leu Lys Ser Gln Val Ser Gly Gln
1580 1585 1590

Gln Gln Glu Met Ala Val Leu Asp Arg Glu Leu Gly His Lys Lys
1595 1600 1605

Glu Glu Leu His Leu Leu Gln Glu Ser Met Val Gln Ala Lys Ala
1610 1615 1620

Asp Leu Gln Glu Ala Leu Arg Leu Gly Glu Ser Glu Val Thr Glu
1625 1630 1635

Lys Cys Asn His Ile Arg Glu Val Lys Ser Leu Leu Glu Glu Leu
1640 1645 1650

Ser Phe Gln Lys Gly Glu Leu Asn Val Gln Ile Ser Glu Lys Lys
1655 1660 1665

Thr Gln Leu Ala Leu Ile Lys Gln Glu Ile Glu Lys Glu Glu Asp
1670 1675 1680

Asn Leu Gln Val Val Leu Gly Gln Met Ser Lys His Lys Thr Glu
1685 1690 1695

Leu Lys Asn Ile Leu Asp Met Leu Gln Leu Glu Asn Asn Glu Leu
1700 1705 1710

Gln Gly Leu Lys Leu Gln His Asp Gln Lys Met Ser Glu Leu Glu
1715 1720 1725

Lys Thr Arg Val Glu Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Leu Glu Ser
1730 1735 1740

ES 2 660 414 T3

Leu Gln Gln Ala Ala Leu Arg Gln Arg Gly Glu Ile Glu Trp Gln
 1745 1750 1755

Lys Gln Leu Leu Gln Arg Asn Thr Gln Glu Val Glu Arg Met Thr
 1760 1765 1770

Ala Glu Thr Arg Ala Leu Gln Ser Cys Val Glu Ser Leu Cys Lys
 1775 1780 1785

Glu Lys Gln Asp Leu Glu Glu Lys Gln Asp Ser Trp Glu Lys Lys
 1790 1795 1800

Leu Ala Gln Thr Lys Arg Val Leu Ala Ala Ala Glu Glu Asp Ser
 1805 1810 1815

Glu Met Glu Arg Ala Arg Leu Glu Lys Leu Glu Leu Asp Ala Arg
 1820 1825 1830

Lys Leu Gln Gln Glu Leu Asp Gln Arg Asn Arg Glu Lys Leu Ser
 1835 1840 1845

Leu His Gln Asp Leu Ala Val Val Gln Gln Gln Leu Gln Glu Lys
 1850 1855 1860

Gln Glu Ala Val Asn Ser Leu Gln Lys Glu Leu Ala Asp Val Gln
 1865 1870 1875

Glu His Leu Asp Leu Ala Glu Gln Glu Val Leu Cys Thr Thr Lys
 1880 1885 1890

Arg Lys Asp Ala Leu Leu Ser Glu Gln Thr Arg Leu Glu Lys Asp
 1895 1900 1905

Val Gly Glu Trp Thr Lys Lys Phe Glu Asp Cys Gln Lys Glu Gly
 1910 1915 1920

Glu Thr Lys Gln Gln Gln Leu Gln Gly Leu Gln Lys Glu Ile Glu
 1925 1930 1935

Gly Asn Glu Ala Lys Leu Ala Gln Gln Glu Met Met Phe Gln Arg
 1940 1945 1950

Leu Gln Lys Glu Arg Glu Cys Glu Glu Lys Lys Leu Glu Ala Ser
 1955 1960 1965

Lys Val Thr Leu Lys Glu Gln Gln Gln Gln Leu Glu Lys Glu Leu
 1970 1975 1980

ES 2 660 414 T3

Met Glu Gln Lys Gly Lys Leu Asp Gln Val Leu Ala Lys Leu Leu
 1985 1990 1995

Val Ala Glu Glu Arg Val Arg Thr Leu Gln Glu Glu Gly Arg Trp
 2000 2005 2010

Ser Glu Thr Leu Glu Lys Thr Leu Ser Gln Thr Lys Arg Gln Leu
 2015 2020 2025

Ser Glu Arg Glu Gln Gln Leu Leu Ala Lys Ser Asp Glu Leu Leu
 2030 2035 2040

Ala Leu Gln Lys Glu Thr Asp Ser Met Arg Ala Asp Phe Ser Leu
 2045 2050 2055

Leu Arg Asn Gln Phe Leu Thr Glu Arg Lys Lys Ala Glu Lys Gln
 2060 2065 2070

Val Ala Ser Leu Lys Glu Ala Leu Lys Ile Gln Arg Ser Gln Leu
 2075 2080 2085

Glu Lys Asn Leu Leu Glu Gln Lys Gln Glu Asn Ser Cys Met Gln
 2090 2095 2100

Arg Glu Met Ala Thr Ile Glu Gln Val Ala Gln Asp Asn His Glu
 2105 2110 2115

Arg Ala Arg Arg Leu Met Arg Glu Leu Asn Gln Met Gln Arg Glu
 2120 2125 2130

Tyr Val Glu Leu Arg Lys Gln Met Thr Asn Gln Lys Asp Leu Glu
 2135 2140 2145

Arg Arg Gln Met Glu Ile Ser Asp Ala Met Gln Ala Leu Lys Cys
 2150 2155 2160

Glu Val Lys Asp Glu Ile Arg Thr Ser Leu Lys Asn Leu Asn Gln
 2165 2170 2175

Phe Leu Pro Glu Leu Pro Ala Asp Leu Glu Ala Leu Leu Glu Arg
 2180 2185 2190

Asn Glu Asn Leu Gly Gly Gly Leu Glu Ser Leu Lys Glu Asn Phe
 2195 2200 2205

Pro Phe Thr Val Ser Asp Arg Pro Ser Ser Cys Glu Glu Lys Leu

ES 2 660 414 T3

2210						2215						2220		
Asn	Phe	Gly	Gln	Ala	His	Val	Ala	Asp	Glu	Gln	Trp	Arg	Gly	Glu
2225						2230						2235		
Ala	Leu	Arg	Glu	Lys	Leu	Arg	His	Arg	Glu	Asp	Arg	Leu	Lys	Ala
2240						2245						2250		
Gln	Leu	Arg	Arg	Cys	Met	Ser	Lys	Gln	Ala	Glu	Val	Leu	Ser	Glu
2255						2260					2265			
Gly	Arg	Arg	Arg	Thr	Glu	Gly	Thr	Leu	His	Ser	Leu	Arg	Arg	Gln
2270						2275						2280		
Val	Asp	Ala	Leu	Gly	Glu	Leu	Val	Thr	Ser	Thr	Ser	Gly	Asp	Ser
2285						2290						2295		
Ala	Ser	Thr	Arg	Ser	Leu	Ser	Arg	Thr	Glu	Gly	Ser	Leu	Ala	Glu
2300						2305						2310		
Asp	Glu	Pro	Pro	Gly	Pro	Ser	Gln	Glu	Leu	His	Val	Leu	Gly	Ser
2315						2320						2325		
Gly	Gly	Ser	Asp	Arg	Gly	Gly	Gly	Arg	Gly	Gly	Gly	Arg	Lys	Gly
2330						2335						2340		
Leu	Ser	Arg	Arg	Arg	Arg	Trp	Asn	His	Gly	Glu	Ala	Arg	Leu	Gly
2345						2350						2355		
Pro	Arg	Arg	Pro	Pro	Arg	Glu	Gly	Ala	Gly	Arg	Gly	Ala	Ala	Phe
2360						2365						2370		
Arg	Ala	Leu	Val	Ser	Cys	Ser	Arg	Pro	Ala	Glu	Leu	Pro	Ala	Ala
2375						2380						2385		
Pro	Pro	Arg	Pro	Val	Ala	Ala	Ala	Gly	Arg	Ala	Pro	Thr	Leu	Arg
2390						2395						2400		
Thr	Arg	Arg	Thr	Arg	Arg	Pro	Gly	Val	Pro	Ser	Glu	Arg	Phe	Leu
2405						2410						2415		
Arg	Val	Arg	Gly	His	Gln	Ala	His	Gly	Lys	Ala	Arg	Pro	Cys	Gly
2420						2425						2430		
Lys	Ser	Arg	Glu	Arg	Asn	Pro	Asp	Ala	Arg	Ala	Gly	Leu	Trp	Ala
2435						2440						2445		

ES 2 660 414 T3

Leu Glu Thr Cys Cys Arg Lys Ser Ser Ala Arg Gly Cys Gly Leu
 2450 2455 2460

Glu Ala Pro Asn Cys Arg Arg Ala Arg Cys Gly Ala Ser Val Arg
 2465 2470 2475

Tyr Pro Leu Val Pro Arg Gly Arg Thr Gly Arg Gly Ala Val Thr
 2480 2485 2490

Pro Trp Gly Arg Leu Gln Ser Arg Gly Thr Arg Thr Thr Pro Arg
 2495 2500 2505

Pro Val Arg Arg Glu His Pro Gln His Gln Glu Arg Pro Pro Gly
 2510 2515 2520

Arg Val Thr Ala Ala His Thr Glu Thr Ala Pro Pro Arg Arg Val
 2525 2530 2535

Phe His Ala Arg Val Ala Val Gly Glu Val Ser Leu Gly Pro Gly
 2540 2545 2550

Arg Gly Leu Glu Arg Thr Arg Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Ala
 2555 2560 2565

Gly Leu Leu Ala Glu Ala Ala Ala Thr Ala Arg Cys Ala Asp Pro
 2570 2575 2580

Ser Thr Asp Pro Ser Ala
 2585

5 <210> 29
 <211> 7431
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>
 <221> CDS
 <222> (32)..(7009)
 <223>

<400> 29

gttttgatga acacctggct ttattcttgc a atg aag aaa ggt tct caa caa 52
 Met Lys Lys Gly Ser Gln Gln
 1 5

aaa ata ttc tcc aaa gca aag ata cca tca tca tct cac tct cct atc 100
 Lys Ile Phe Ser Lys Ala Lys Ile Pro Ser Ser Ser His Ser Pro Ile
 10 15 20

cca tca tct atg tcc aat atg aga tct agg tca ctt tca cct ttg att 148
 Pro Ser Ser Met Ser Asn Met Arg Ser Arg Ser Leu Ser Pro Leu Ile
 25 30 35

15

ES 2 660 414 T3

gga tca gag act cta cct ttt cat tct gga gga cag tgg tgt gag caa	196
Gly Ser Glu Thr Leu Pro Phe His Ser Gly Gly Gln Trp Cys Glu Gln	
40 45 50 55	
gtt gag att gca gat gaa aac aat atg ctt ttg gac tat caa gac cat	244
Val Glu Ile Ala Asp Glu Asn Asn Met Leu Leu Asp Tyr Gln Asp His	
60 65 70	
aaa gga gct gat tca cat gca gga gtt aga tat att aca gag gcc ctc	292
Lys Gly Ala Asp Ser His Ala Gly Val Arg Tyr Ile Thr Glu Ala Leu	
75 80 85	
att aaa aaa ctt act aaa cag gat aat ttg gct ttg ata aaa tct ctg	340
Ile Lys Lys Leu Thr Lys Gln Asp Asn Leu Ala Leu Ile Lys Ser Leu	
90 95 100	
aac ctt tca ctt tct aaa gac ggt ggc aag aaa ttt aag tat att gag	388
Asn Leu Ser Leu Ser Lys Asp Gly Gly Lys Lys Phe Lys Tyr Ile Glu	
105 110 115	
aat ttg gaa aaa tgt gtt aaa ctt gaa gta ctg aat ctc agc tat aat	436
Asn Leu Glu Lys Cys Val Lys Leu Glu Val Leu Asn Leu Ser Tyr Asn	
120 125 130 135	
cta ata ggg aag att gaa aag ttg gac aag ctg tta aaa tta cgt gaa	484
Leu Ile Gly Lys Ile Glu Lys Leu Asp Lys Leu Leu Lys Leu Arg Glu	
140 145 150	
ctc aac tta tca tat aac aaa atc agc aaa att gaa ggc ata gaa aat	532
Leu Asn Leu Ser Tyr Asn Lys Ile Ser Lys Ile Glu Gly Ile Glu Asn	
155 160 165	
atg tgt aat ctg caa aag ctt aac ctt gca gga aat gaa att gag cat	580
Met Cys Asn Leu Gln Lys Leu Asn Leu Ala Gly Asn Glu Ile Glu His	
170 175 180	
att cca gta tgg tta ggg aag aag tta aaa tct ttg cga gtc ctc aat	628
Ile Pro Val Trp Leu Gly Lys Lys Leu Lys Ser Leu Arg Val Leu Asn	
185 190 195	
ttg aaa ggc aac aag ata tca tcg ctc caa gat ata agc aag ttg aaa	676
Leu Lys Gly Asn Lys Ile Ser Ser Leu Gln Asp Ile Ser Lys Leu Lys	
200 205 210 215	
ccg ctt caa gat ttg att tct ctg atc cta gtt gaa aat cca gtt gtg	724
Pro Leu Gln Asp Leu Ile Ser Leu Ile Leu Val Glu Asn Pro Val Val	
220 225 230	
acc ctt cct cat tac ctc cag ttt acc att ttc cac ctc cgt tca ttg	772
Thr Leu Pro His Tyr Leu Gln Phe Thr Ile Phe His Leu Arg Ser Leu	
235 240 245	
gaa agt ttg gaa ggt cag cca gta acc act cag gat aga cag gag gct	820
Glu Ser Leu Glu Gly Gln Pro Val Thr Thr Gln Asp Arg Gln Glu Ala	
250 255 260	
ttt gag aga ttc agt tta gaa gag gta gaa aga ctg gaa aga gac cta	868
Phe Glu Arg Phe Ser Leu Glu Glu Val Glu Arg Leu Glu Arg Asp Leu	
265 270 275	
gaa aaa aag atg ata gaa act gaa gag ctt aag agc aaa caa aca agg	916
Glu Lys Lys Met Ile Glu Thr Glu Glu Leu Lys Ser Lys Gln Thr Arg	
280 285 290 295	

ES 2 660 414 T3

ttc ctt gag gaa att aaa aat caa gat aaa ttg aat aaa tca tta aaa	964
Phe Leu Glu Glu Ile Lys Asn Gln Asp Lys Leu Asn Lys Ser Leu Lys	
300 305 310	
gag gag gcc atg tta cag aaa cag agc tgt gag gaa ctc aag agt gac	1012
Glu Glu Ala Met Leu Gln Lys Gln Ser Cys Glu Glu Leu Lys Ser Asp	
315 320 325	
tta aac aca aaa aat gaa ttg cta aaa cag aag acc ata gaa tta aca	1060
Leu Asn Thr Lys Asn Glu Leu Leu Lys Gln Lys Thr Ile Glu Leu Thr	
330 335 340	
cga gca tgt cag aag caa tat gag ctg gaa cag gaa ttg gcc ttt tat	1108
Arg Ala Cys Gln Lys Gln Tyr Glu Leu Glu Gln Glu Leu Ala Phe Tyr	
345 350 355	
aaa att gat gct aaa ttt gag cca cta aat tat tat cca tca gag tat	1156
Lys Ile Asp Ala Lys Phe Glu Pro Leu Asn Tyr Tyr Pro Ser Glu Tyr	
360 365 370 375	
gct gaa att gat aaa gcc cca gat gaa agc cct tac att ggc aaa tcc	1204
Ala Glu Ile Asp Lys Ala Pro Asp Glu Ser Pro Tyr Ile Gly Lys Ser	
380 385 390	
aga tac aag aga aat atg ttt gcc aca gag agt tat att att gac agt	1252
Arg Tyr Lys Arg Asn Met Phe Ala Thr Glu Ser Tyr Ile Ile Asp Ser	
395 400 405	
gct cag gca gta cag atc aag aag atg gag cca gat gaa caa ctt aga	1300
Ala Gln Ala Val Gln Ile Lys Lys Met Glu Pro Asp Glu Gln Leu Arg	
410 415 420	
aat gat cac atg aac ttg aga ggc cac aca cca ctg gac acg caa ctg	1348
Asn Asp His Met Asn Leu Arg Gly His Thr Pro Leu Asp Thr Gln Leu	
425 430 435	
gaa gac aaa gaa aaa aaa ata agt gca gca caa act cga cta tca gaa	1396
Glu Asp Lys Glu Lys Lys Ile Ser Ala Ala Gln Thr Arg Leu Ser Glu	
440 445 450 455	
ctg cat gat gaa ata gaa aag gca gaa caa caa att ttg aga gct act	1444
Leu His Asp Glu Ile Glu Lys Ala Glu Gln Gln Ile Leu Arg Ala Thr	
460 465 470	
gaa gaa ttt aaa caa ctg gaa gaa gct ata caa cta aaa aag att tca	1492
Glu Glu Phe Lys Gln Leu Glu Glu Ala Ile Gln Leu Lys Lys Ile Ser	
475 480 485	
gaa gca ggg aaa gac ctt ctt tac aag cag ttg agt ggt aga cta caa	1540
Glu Ala Gly Lys Asp Leu Leu Tyr Lys Gln Leu Ser Gly Arg Leu Gln	
490 495 500	
ctt gta aat aaa tta cgc cag gaa gct ctg gat cta gaa ctg cag atg	1588
Leu Val Asn Lys Leu Arg Gln Glu Ala Leu Asp Ile Glu Leu Gln Met	
505 510 515	
gaa aag caa aag cag gaa att gcc gga aag cag aag gag att aag gac	1636
Glu Lys Gln Lys Gln Glu Ile Ala Gly Lys Gln Lys Glu Ile Lys Asp	
520 525 530 535	
ctg caa ata gcc ata gat agc ctg gat tcc aaa gac cca aaa cat tcc	1684
Leu Gln Ile Ala Ile Asp Ser Leu Asp Ser Lys Asp Pro Lys His Ser	

ES 2 660 414 T3

				540					545					550		
cat	atg	aag	gct	caa	aag	agc	ggt	aaa	gaa	caa	cag	ctt	gac	att	atg	1732
His	Met	Lys	Ala	Gln	Lys	Ser	Gly	Lys	Glu	Gln	Gln	Leu	Asp	Ile	Met	
				555					560					565		
aac	aag	cag	tac	caa	caa	ctt	gaa	agt	cgt	ttg	gat	gag	ata	ctt	tct	1780
Asn	Lys	Gln	Tyr	Gln	Gln	Leu	Glu	Ser	Arg	Leu	Asp	Glu	Ile	Leu	Ser	
				570					575					580		
aga	att	gct	aag	gaa	acg	gaa	gag	att	aag	gac	ctt	gaa	gaa	cag	ctt	1828
Arg	Ile	Ala	Lys	Glu	Thr	Glu	Glu	Ile	Lys	Asp	Leu	Glu	Glu	Gln	Leu	
				585					590					595		
act	gaa	ggc	cag	ata	gca	gca	aat	gaa	gcc	ctg	aag	aag	gat	tta	gaa	1876
Thr	Glu	Gly	Gln	Ile	Ala	Ala	Asn	Glu	Ala	Leu	Lys	Lys	Asp	Leu	Glu	
				600					605					610	615	
ggt	gtt	atc	agt	ggg	ttg	caa	gaa	tac	ctg	ggg	acc	att	aaa	ggc	cag	1924
Gly	Val	Ile	Ser	Gly	Leu	Gln	Glu	Tyr	Leu	Gly	Thr	Ile	Lys	Gly	Gln	
				620					625					630		
gca	act	cag	gcc	cag	aat	gag	tgc	agg	aag	ctg	cgg	gat	gag	aaa	gag	1972
Ala	Thr	Gln	Ala	Gln	Asn	Glu	Cys	Arg	Lys	Leu	Arg	Asp	Glu	Lys	Glu	
				635					640					645		
aca	ttg	ttg	cag	aga	ttg	aca	gaa	gtc	gag	cag	gag	aga	gac	cag	ctg	2020
Thr	Leu	Leu	Gln	Arg	Leu	Thr	Glu	Val	Glu	Gln	Glu	Arg	Asp	Gln	Leu	
				650					655					660		
gaa	ata	gtt	gcc	atg	gat	gca	gaa	aat	atg	agg	aag	gag	ctt	gca	gag	2068
Glu	Ile	Val	Ala	Met	Asp	Ala	Glu	Asn	Met	Arg	Lys	Glu	Leu	Ala	Glu	
				665					670					675		
cta	gaa	agt	gcc	ctc	caa	gag	cag	cat	gag	gtg	aat	gca	tct	ttg	cag	2116
Leu	Glu	Ser	Ala	Leu	Gln	Glu	Gln	His	Glu	Val	Asn	Ala	Ser	Leu	Gln	
				680					685					690	695	
cag	acc	cag	gga	gat	ctc	agt	gcc	tat	gaa	gct	gag	cta	gag	gct	cgg	2164
Gln	Thr	Gln	Gly	Asp	Leu	Ser	Ala	Tyr	Glu	Ala	Glu	Leu	Glu	Ala	Arg	
				700					705					710		
cta	aac	cta	agg	gat	gct	gaa	gcc	aac	cag	ctc	aag	gaa	gag	ttg	gaa	2212
Leu	Asn	Leu	Arg	Asp	Ala	Glu	Ala	Asn	Gln	Leu	Lys	Glu	Glu	Leu	Glu	
				715					720					725		
aaa	gta	aca	aga	ctt	acc	cag	tta	gaa	caa	tca	gcc	ctt	caa	gca	gaa	2260
Lys	Val	Thr	Arg	Leu	Thr	Gln	Leu	Glu	Gln	Ser	Ala	Leu	Gln	Ala	Glu	
				730					735					740		
ctt	gag	aag	gaa	agg	caa	gcc	ctc	aag	aat	gcc	ctt	gga	aaa	gcc	cag	2308
Leu	Glu	Lys	Glu	Arg	Gln	Ala	Leu	Lys	Asn	Ala	Leu	Gly	Lys	Ala	Gln	
				745					750					755		
ttc	tca	gaa	gaa	aag	gag	caa	gag	aac	agt	gag	ctc	cat	gca	aaa	ctt	2356
Phe	Ser	Glu	Glu	Lys	Glu	Gln	Glu	Asn	Ser	Glu	Leu	His	Ala	Lys	Leu	
				760					765					770	775	
aaa	cac	ttg	cag	gat	gac	aat	aat	ctg	tta	aaa	cag	caa	ctt	aaa	gat	2404
Lys	His	Leu	Gln	Asp	Asp	Asn	Asn	Leu	Leu	Lys	Gln	Gln	Leu	Lys	Asp	
				780					785					790		
ttc	cag	aat	cac	ctt	aac	cat	gtg	gtt	gat	ggt	ttg	gtt	cgt	cca	gaa	2452

ES 2 660 414 T3

Phe	Gln	Asn	His	Leu	Asn	His	Val	Val	Asp	Gly	Leu	Val	Arg	Pro	Glu		
			795					800					805				
gaa	gtg	gca	gct	cg	gtg	gat	gag	cta	aga	aga	aaa	ctg	aaa	tta	gga	2500	
Glu	Val	Ala	Ala	Arg	Val	Asp	Glu	Leu	Arg	Arg	Lys	Leu	Lys	Leu	Gly		
		810					815					820					
act	ggg	gaa	atg	aac	atc	cat	agt	cct	tca	gat	gtc	tta	ggg	aaa	agt	2548	
Thr	Gly	Glu	Met	Asn	Ile	His	Ser	Pro	Ser	Asp	Val	Leu	Gly	Lys	Ser		
	825					830					835						
ctt	gct	gat	tta	cag	aaa	caa	ttc	agt	gaa	att	ctt	gca	cg	tcc	aag	2596	
Leu	Ala	Asp	Leu	Gln	Lys	Gln	Phe	Ser	Glu	Ile	Leu	Ala	Arg	Ser	Lys		
840				845						850					855		
tgg	gaa	aga	gat	gaa	gca	caa	g	aga	gag	aga	aaa	ctc	caa	gaa	gaa	2644	
Trp	Glu	Arg	Asp	Glu	Ala	Gln	Val	Arg	Glu	Arg	Lys	Leu	Gln	Glu	Glu		
				860					865					870			
atg	gct	ctg	cag	caa	gag	aaa	ctg	gca	act	gga	caa	gaa	gag	ttc	agg	2692	
Met	Ala	Leu	Gln	Gln	Glu	Lys	Leu	Ala	Thr	Gly	Gln	Glu	Glu	Phe	Arg		
			875					880						885			
cag	gcc	tgt	gag	aga	gcc	ctg	gaa	gca	aga	atg	aat	ttt	gat	aag	agg	2740	
Gln	Ala	Cys	Glu	Arg	Ala	Leu	Glu	Ala	Arg	Met	Asn	Phe	Asp	Lys	Arg		
		890					895						900				
caa	cat	gaa	gca	aga	atc	cag	caa	atg	gag	aat	gaa	att	cac	tat	ttg	2788	
Gln	His	Glu	Ala	Arg	Ile	Gln	Gln	Met	Glu	Asn	Glu	Ile	His	Tyr	Leu		
	905					910						915					
caa	gaa	aat	cta	aaa	agt	atg	gag	gaa	atc	caa	ggc	ctt	aca	gat	ctc	2836	
Gln	Glu	Asn	Leu	Lys	Ser	Met	Glu	Glu	Ile	Gln	Gly	Leu	Thr	Asp	Leu		
920				925						930					935		
caa	ctt	cag	gaa	gct	gat	gaa	gag	aag	gag	aga	att	ctg	gcc	caa	ctc	2884	
Gln	Leu	Gln	Glu	Ala	Asp	Glu	Glu	Lys	Glu	Arg	Ile	Leu	Ala	Gln	Leu		
				940					945					950			
cga	gag	tta	gag	aaa	aag	aag	aaa	ctt	gaa	gat	gcc	aaa	tct	cag	gag	2932	
Arg	Glu	Leu	Glu	Lys	Lys	Lys	Lys	Leu	Glu	Asp	Ala	Lys	Ser	Gln	Glu		
			955					960						965			
caa	g	ttt	ggt	tta	gat	aaa	gaa	ctg	aag	aaa	cta	aag	aaa	gcc	gtg	2980	
Gln	Val	Phe	Gly	Leu	Asp	Lys	Glu	Leu	Lys	Lys	Leu	Lys	Lys	Ala	Val		
		970					975							980			
gcc	acc	tct	gat	aag	cta	gcc	aca	gct	gag	ctc	acc	att	gcc	aaa	gac	3028	
Ala	Thr	Ser	Asp	Lys	Leu	Ala	Thr	Ala	Glu	Leu	Thr	Ile	Ala	Lys	Asp		
		985				990							995				
cag	ctg	aag	tcc	ctt	cat	gga	act	g	atg	aaa	att	aac	cag	gag	3073		
Gln	Leu	Lys	Ser	Leu	His	Gly	Thr	Val	Met	Lys	Ile	Asn	Gln	Glu			
1000					1005						1010						
cga	gca	gag	gag	ttg	cag	gaa	gca	gag	agg	ttc	agc	aga	aag	gca	3118		
Arg	Ala	Glu	Glu	Leu	Gln	Glu	Ala	Glu	Arg	Phe	Ser	Arg	Lys	Ala			
1015					1020					1025							
gca	caa	gca	gcc	aga	gat	ctc	acc	cga	gca	gaa	gct	gag	atc	gaa	3163		
Ala	Gln	Ala	Ala	Arg	Asp	Leu	Thr	Arg	Ala	Glu	Ala	Glu	Ile	Glu			
1030					1035						1040						

ES 2 660 414 T3

ctc Leu 1045	ctg Leu	cag Gln	aat Asn	ctc Leu	ctc Leu	agg Arg	cag Gln	aag Lys	ggg Gly	gag Glu	cag Gln	ttt Phe	cga Arg	ctt Leu	3208
					1050					1055					
gag Glu 1060	atg Met	gag Glu	aaa Lys	aca Thr	ggt Gly	gta Val	ggt Gly	act Thr	gga Gly	gca Ala	aac Asn	tca Ser	cag Gln	gtc Val	3253
					1065					1070					
cta Leu 1075	gaa Glu	att Ile	gag Glu	aaa Lys	ctg Leu	aat Asn	gag Glu	aca Thr	atg Met	gaa Glu	cga Arg	caa Gln	agg Arg	aca Thr	3298
					1080					1085					
gag Glu 1090	att Ile	gca Ala	agg Arg	ctg Leu	cag Gln	aat Asn	gta Val	cta Leu	gac Asp	ctc Leu	act Thr	gga Gly	agt Ser	gac Asp	3343
					1095					1100					
aac Asn 1105	aaa Lys	gga Gly	ggc Gly	ttt Phe	gaa Glu	aat Asn	ggt Val	tta Leu	gaa Glu	gaa Glu	att Ile	gct Ala	gaa Glu	ctt Leu	3388
					1110					1115					
cga Arg 1120	cgt Arg	gaa Glu	ggt Val	tct Ser	tat Tyr	cag Gln	aat Asn	gat Asp	tac Tyr	ata Ile	agc Ser	agc Ser	atg Met	gca Ala	3433
					1125					1130					
gat Asp 1135	cct Pro	ttc Phe	aaa Lys	aga Arg	cga Arg	ggc Gly	tat Tyr	tgg Trp	tac Tyr	ttt Phe	atg Met	cca Pro	cca Pro	cca Pro	3478
					1140					1145					
cca Pro 1150	tca Ser	tca Ser	aaa Lys	ggt Val	tcc Ser	agc Ser	cat His	agt Ser	tcc Ser	cag Gln	gcc Ala	acc Thr	aag Lys	gac Asp	3523
					1155					1160					
tct Ser 1165	ggt Gly	ggt Val	ggc Gly	ctt Leu	aag Lys	tac Tyr	tca Ser	gcc Ala	tca Ser	act Thr	cct Pro	ggt Val	aga Arg	aaa Lys	3568
					1170					1175					
cca Pro 1180	cgc Arg	cct Pro	ggg Gly	cag Gln	cag Gln	gat Asp	ggg Gly	aag Lys	gaa Glu	ggc Gly	agt Ser	caa Gln	cct Pro	ccc Pro	3613
					1185					1190					
cct Pro 1195	gcc Ala	tca Ser	gga Gly	tac Tyr	tgg Trp	ggt Val	tat Tyr	tct Ser	ccc Pro	atc Ile	agg Arg	agt Ser	ggg Gly	tta Leu	3658
					1200					1205					
cat His 1210	aaa Lys	ctg Leu	ttt Phe	cca Pro	agt Ser	aga Arg	gat Asp	gca Ala	gac Asp	agt Ser	gga Gly	gga Gly	gat Asp	agt Ser	3703
					1215					1220					
cag Gln 1225	gaa Glu	gag Glu	agt Ser	gag Glu	ctg Leu	gat Asp	gac Asp	caa Gln	gaa Glu	gaa Glu	ccc Pro	cca Pro	ttt Phe	gtg Val	3748
					1230					1235					
cct Pro 1240	cct Pro	cct Pro	gga Gly	tac Tyr	atg Met	atg Met	tat Tyr	act Thr	gtg Val	ctt Leu	cct Pro	gat Asp	ggt Gly	tct Ser	3793
					1245					1250					
cct Pro 1255	gta Val	ccc Pro	cag Gln	ggc Gly	atg Met	gcc Ala	ctg Leu	tat Tyr	gca Ala	cca Pro	cct Pro	cct Pro	ccc Pro	ttg Leu	3838
					1260					1265					
cca Pro 1270	aac Asn	aat Asn	agc Ser	cga Arg	cct Pro	ctc Leu	acc Thr	cct Pro	ggc Gly	act Thr	ggt Val	ggt Val	tat Tyr	ggc Gly	3883
					1275					1280					

ES 2 660 414 T3

cca	cct	cct	gct	ggg	gcc	ccc	atg	gtg	tat	ggg	cct	cca	ccc	ccc	3928
Pro	Pro	Pro	Ala	Gly	Ala	Pro	Met	Val	Tyr	Gly	Pro	Pro	Pro	Pro	
1285					1290					1295					
aac	ttc	tcc	atc	ccc	ttc	atc	cct	atg	ggt	gtg	ctg	cat	tgc	aac	3973
Asn	Phe	Ser	Ile	Pro	Phe	Ile	Pro	Met	Gly	Val	Leu	His	Cys	Asn	
1300					1305					1310					
gtc	cct	gaa	cac	cat	aac	tta	gag	aat	gaa	gtt	tct	aga	tta	gaa	4018
Val	Pro	Glu	His	His	Asn	Leu	Glu	Asn	Glu	Val	Ser	Arg	Leu	Glu	
1315					1320					1325					
gac	ata	atg	cag	cat	tta	aaa	tca	aag	aag	cgg	gaa	gaa	agg	tgg	4063
Asp	Ile	Met	Gln	His	Leu	Lys	Ser	Lys	Lys	Arg	Glu	Glu	Arg	Trp	
1330					1335					1340					
atg	aga	gca	tcc	aag	cgg	cag	tcg	gag	aaa	gaa	atg	gaa	gaa	ctg	4108
Met	Arg	Ala	Ser	Lys	Arg	Gln	Ser	Glu	Lys	Glu	Met	Glu	Glu	Leu	
1345					1350					1355					
cat	cat	aat	att	gat	gat	ctt	ttg	caa	gag	aag	aaa	agc	tta	gag	4153
His	His	Asn	Ile	Asp	Asp	Leu	Leu	Gln	Glu	Lys	Lys	Ser	Leu	Glu	
1360					1365					1370					
tgt	gaa	gta	gaa	gaa	tta	cat	aga	act	gtc	cag	aaa	cgt	caa	cag	4198
Cys	Glu	Val	Glu	Glu	Leu	His	Arg	Thr	Val	Gln	Lys	Arg	Gln	Gln	
1375					1380					1385					
caa	aag	gac	ttc	att	gat	gga	aat	gtt	gag	agt	ctt	atg	act	gaa	4243
Gln	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp	Gly	Asn	Val	Glu	Ser	Leu	Met	Thr	Glu	
1390					1395					1400					
cta	gaa	ata	gaa	aaa	tca	ctc	aaa	cat	cat	gaa	gat	att	gta	gat	4288
Leu	Glu	Ile	Glu	Lys	Ser	Leu	Lys	His	His	Glu	Asp	Ile	Val	Asp	
1405					1410					1415					
gaa	att	gag	tgc	att	gag	aag	act	ctt	ctg	aaa	cgt	cgc	tca	gag	4333
Glu	Ile	Glu	Cys	Ile	Glu	Lys	Thr	Leu	Leu	Lys	Arg	Arg	Ser	Glu	
1420					1425					1430					
ctc	agg	gaa	gct	gac	cga	ctc	ctg	gca	gag	gct	gag	agt	gaa	ctt	4378
Leu	Arg	Glu	Ala	Asp	Arg	Leu	Leu	Ala	Glu	Ala	Glu	Ser	Glu	Leu	
1435					1440					1445					
tca	tgc	act	aaa	gaa	aag	aca	aaa	aat	gct	gtt	gaa	aag	ttc	act	4423
Ser	Cys	Thr	Lys	Glu	Lys	Thr	Lys	Asn	Ala	Val	Glu	Lys	Phe	Thr	
1450					1455					1460					
gat	gcc	aag	aga	agt	tta	ttg	caa	act	gag	tca	gat	gct	gag	gaa	4468
Asp	Ala	Lys	Arg	Ser	Leu	Leu	Gln	Thr	Glu	Ser	Asp	Ala	Glu	Glu	
1465					1470					1475					
tta	gaa	agg	aga	gct	cag	gaa	act	gct	gtt	aac	ctc	gtc	aaa	gct	4513
Leu	Glu	Arg	Arg	Ala	Gln	Glu	Thr	Ala	Val	Asn	Leu	Val	Lys	Ala	
1480					1485					1490					
gat	cag	cag	cta	aga	tcg	ctc	cag	gct	gat	gca	aag	gat	ttg	gag	4558
Asp	Gln	Gln	Leu	Arg	Ser	Leu	Gln	Ala	Asp	Ala	Lys	Asp	Leu	Glu	
1495					1500					1505					
cag	cac	aaa	atc	aag	caa	gaa	gaa	atc	ttg	aaa	gaa	ata	aac	aaa	4603
Gln	His	Lys	Ile	Lys	Gln	Glu	Glu	Ile	Leu	Lys	Glu	Ile	Asn	Lys	

ES 2 660 414 T3

Gln 1750	Lys	Gly	Glu	Ile	Glu 1755	Trp	Gln	Lys	Gln	Leu 1760	Leu	Glu	Arg	Asp	
aaa	cga	gaa	ata	gaa	cga	atg	act	gct	gag	tcc	cga	gct	tta	caa	5368
Lys 1765	Arg	Glu	Ile	Glu	Arg 1770	Met	Thr	Ala	Glu	Ser 1775	Arg	Ala	Leu	Gln	
tcg	tgt	ggt	gag	tgt	ttg	agc	aaa	gaa	aag	gaa	gat	ctc	caa	gag	5413
Ser 1780	Cys	Val	Glu	Cys	Leu 1785	Ser	Lys	Glu	Lys	Glu 1790	Asp	Leu	Gln	Glu	
aaa	tgt	gac	att	tgg	gaa	aaa	aag	ttg	gca	caa	acc	aaa	agg	ggt	5458
Lys 1795	Cys	Asp	Ile	Trp	Glu 1800	Lys	Lys	Leu	Ala	Gln 1805	Thr	Lys	Arg	Val	
tta	gca	gca	gca	gaa	gaa	aat	agc	aaa	atg	gag	caa	tca	aac	tta	5503
Leu 1810	Ala	Ala	Ala	Glu	Glu 1815	Asn	Ser	Lys	Met	Glu 1820	Gln	Ser	Asn	Leu	
gaa	aag	ttg	gaa	ttg	aat	gtc	aga	aaa	ctg	cag	cag	gaa	cta	gac	5548
Glu 1825	Lys	Leu	Glu	Leu	Asn 1830	Val	Arg	Lys	Leu	Gln 1835	Gln	Glu	Leu	Asp	
caa	cta	aac	aga	gac	aag	ttg	tca	ctg	cat	aac	gac	att	tca	gca	5593
Gln 1840	Leu	Asn	Arg	Asp	Lys 1845	Leu	Ser	Leu	His	Asn 1850	Asp	Ile	Ser	Ala	
atg	caa	cag	cag	ctc	caa	gaa	aaa	cga	gaa	gca	gta	aac	tca	ctg	5638
Met 1855	Gln	Gln	Gln	Leu	Gln 1860	Glu	Lys	Arg	Glu	Ala 1865	Val	Asn	Ser	Leu	
cag	gag	gaa	cta	gct	aat	gtc	caa	gac	cat	ttg	aac	cta	gca	aaa	5683
Gln 1870	Glu	Glu	Leu	Ala	Asn 1875	Val	Gln	Asp	His	Leu 1880	Asn	Leu	Ala	Lys	
cag	gac	ctg	ctt	cac	acc	acc	aag	cat	cag	gat	gtg	ttg	ctc	agt	5728
Gln 1885	Asp	Leu	Leu	His	Thr 1890	Thr	Lys	His	Gln	Asp 1895	Val	Leu	Leu	Ser	
gag	cag	acc	cga	ctc	cag	aag	gac	atc	agt	gaa	tgg	gca	aat	agg	5773
Glu 1900	Gln	Thr	Arg	Leu	Gln 1905	Lys	Asp	Ile	Ser	Glu 1910	Trp	Ala	Asn	Arg	
ttt	gaa	gac	tgt	cag	aaa	gaa	gag	gag	aca	aaa	caa	caa	caa	ctt	5818
Phe 1915	Glu	Asp	Cys	Gln	Lys 1920	Glu	Glu	Glu	Thr	Lys 1925	Gln	Gln	Gln	Leu	
caa	gtg	ctt	cag	aat	gag	att	gaa	gaa	aac	aag	ctc	aaa	cta	gtc	5863
Gln 1930	Val	Leu	Gln	Asn	Glu 1935	Ile	Glu	Glu	Asn	Lys 1940	Leu	Lys	Leu	Val	
caa	caa	gaa	atg	atg	ttt	cag	aga	ctc	cag	aaa	gag	aga	gaa	agt	5908
Gln 1945	Gln	Glu	Met	Met	Phe 1950	Gln	Arg	Leu	Gln	Lys 1955	Glu	Arg	Glu	Ser	
gaa	gaa	agc	aaa	tta	gaa	acc	agt	aaa	gtg	aca	ctg	aag	gag	caa	5953
Glu 1960	Glu	Ser	Lys	Leu	Glu 1965	Thr	Ser	Lys	Val	Thr 1970	Leu	Lys	Glu	Gln	
cag	cac	cag	ctg	gaa	aag	gaa	tta	aca	gac	cag	aaa	agc	aaa	ctg	5998
Gln 1975	His	Gln	Leu	Glu	Lys 1980	Glu	Leu	Thr	Asp	Gln 1985	Lys	Ser	Lys	Leu	

ES 2 660 414 T3

gac Asp 1990	caa Gln Val	gtg Val	ctc Leu	tca Ser	aag Lys 1995	gtg Val	ctg Leu	gca Ala	gct Ala	gaa Glu 2000	gag Glu	cgt Arg	gtt Val	agg Arg	6043
act Thr 2005	ctg Leu	cag Gln	gaa Glu	gag Glu	gag Glu 2010	agg Arg	tgg Trp	tgt Cys	gag Glu	agc Ser 2015	ctg Leu	gag Glu	aag Lys	aca Thr	6088
ctc Leu 2020	tcc Ser	caa Gln	act Thr	aaa Lys	cgg Arg 2025	cag Gln	ctt Leu	tca Ser	gaa Glu	agg Arg 2030	gag Glu	cag Gln	caa Gln	ttg Leu	6133
gtg Val 2035	gag Glu	aaa Lys	tca Ser	ggt Gly	gag Glu 2040	ctg Leu	ttg Leu	gcc Ala	ctc Leu	cag Gln 2045	aaa Lys	gag Glu	gca Ala	gat Asp	6178
tct Ser 2050	atg Met	agg Arg	gca Ala	gac Asp	ttc Phe 2055	agc Ser	ctt Leu	ctg Leu	cgg Arg	aac Asn 2060	cag Gln	ttc Phe	ttg Leu	aca Thr	6223
gaa Glu 2065	aga Arg	aag Lys	aaa Lys	gct Ala	gag Glu 2070	aag Lys	cag Gln	gtg Val	gcc Ala	agc Ser 2075	ctg Leu	aag Lys	gaa Glu	gca Ala	6268
ctt Leu 2080	aag Lys	atc Ile	cag Gln	cgg Arg	agc Ser 2085	cag Gln	ctg Leu	gag Glu	aaa Lys	aac Asn 2090	ctt Leu	ctt Leu	gag Glu	caa Gln	6313
aaa Lys 2095	cag Gln	gag Glu	aac Asn	agc Ser	tgc Cys 2100	ata Ile	caa Gln	aag Lys	gaa Glu	atg Met 2105	gca Ala	aca Thr	att Ile	gaa Glu	6358
ctg Leu 2110	gta Val	gcc Ala	cag Gln	gac Asp	aac Asn 2115	cat His	gag Glu	cgg Arg	gcc Ala	agg Arg 2120	cgc Arg	ctg Leu	atg Met	aag Lys	6403
gag Glu 2125	ctc Leu	aac Asn	cag Gln	atg Met	cag Gln 2130	tat Tyr	gag Glu	tac Tyr	acg Thr	gag Glu 2135	ctc Leu	aag Lys	aaa Lys	cag Gln	6448
atg Met 2140	gca Ala	aac Asn	caa Gln	aaa Lys	gat Asp 2145	ttg Leu	gag Glu	aga Arg	aga Arg	caa Gln 2150	atg Met	gaa Glu	atc Ile	agt Ser	6493
gat Asp 2155	gca Ala	atg Met	agg Arg	aca Thr	ctt Leu 2160	aaa Lys	tct Ser	gag Glu	gtg Val	aag Lys 2165	gat Asp	gaa Glu	atc Ile	aga Arg	6538
acc Thr 2170	agc Ser	ttg Leu	aag Lys	aat Asn	ctt Leu 2175	aat Asn	cag Gln	ttt Phe	ctt Leu	cca Pro 2180	gaa Glu	cta Leu	cca Pro	gca Ala	6583
gat Asp 2185	cta Leu	gaa Glu	gct Ala	att Ile	ttg Leu 2190	gaa Glu	aga Arg	aac Asn	gaa Glu	aac Asn 2195	cta Leu	gaa Glu	gga Gly	gaa Glu	6628
ttg Leu 2200	gaa Glu	agc Ser	ttg Leu	aaa Lys	gag Glu 2205	aac Asn	ctt Leu	cca Pro	ttt Phe	acc Thr 2210	atg Met	aat Asn	gag Glu	gga Gly	6673
cct Pro 2215	ttt Phe	gaa Glu	gaa Glu	aaa Lys	ctg Leu 2220	aac Asn	ttt Phe	tcc Ser	caa Gln	gtt Val 2225	cac His	ata Ile	atg Met	gat Asp	6718

ES 2 660 414 T3

gaa cac tgg cgt gga gaa gca ctc cgg gag aaa ctg cgt cac cgg 6763
 Glu His Trp Arg Gly Glu Ala Leu Arg Glu Lys Leu Arg His Arg
 2230 2235 2240

gaa gac cga ctc aag gcc caa ctc cga cac tgt atg tcc aag caa 6808
 Glu Asp Arg Leu Lys Ala Gln Leu Arg His Cys Met Ser Lys Gln
 2245 2250 2255

gca gaa gta tta att aaa gga aag cgg cag aca gag ggc act tta 6853
 Ala Glu Val Leu Ile Lys Gly Lys Arg Gln Thr Glu Gly Thr Leu
 2260 2265 2270

cac agt ttg agg aga caa gta gat gct tta ggg gaa ttg gtc acc 6898
 His Ser Leu Arg Arg Gln Val Asp Ala Leu Gly Glu Leu Val Thr
 2275 2280 2285

agc acc tct gca gat tca gcg tca tca ccc agt ctg tct cag ctg 6943
 Ser Thr Ser Ala Asp Ser Ala Ser Ser Pro Ser Leu Ser Gln Leu
 2290 2295 2300

gag tct tcc ctc aca gag gac tct caa ctt gga caa aat cag gaa 6988
 Glu Ser Ser Leu Thr Glu Asp Ser Gln Leu Gly Gln Asn Gln Glu
 2305 2310 2315

aag aat gcc tca gcc aga tga ggaactgt cttgtgtaaa tatattcaag 7039
 Lys Asn Ala Ser Ala Arg
 2320 2325

gaaaacacct ccactacctc actgacttca taattggaat gtcacatggt ttttttaatc 7099

aagatgcagt gaactgagat tctgaaactc cactgtagtt tactttgcct gtaccattaa 7159

tgccaatggt tttataaatc acttgtacat agtacatatg ggaatagttg catatgggaa 7219

tttaaaccaa catgtggctg agcctttttt tttttaatct tcgtaacatg tttaaaaaaa 7279

aacagtgatt ttaactgcat atttgaacct acaaactggt aaatcttatt aacaaaaaga 7339

atgtacttaa ggcctctttt atttatagtg tcgagttatt tttgaatttt gcttaaaatc 7399

tatttttcat atgaaaataa aagataacaa tc 7431

<210> 30
 <211> 2325
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 30

Met Lys Lys Gly Ser Gln Gln Lys Ile Phe Ser Lys Ala Lys Ile Pro
 1 5 10 15

Ser Ser Ser His Ser Pro Ile Pro Ser Ser Met Ser Asn Met Arg Ser
 20 25 30

Arg Ser Leu Ser Pro Leu Ile Gly Ser Glu Thr Leu Pro Phe His Ser
 35 40 45

10

ES 2 660 414 T3

Gly Gly Gln Trp Cys Glu Gln Val Glu Ile Ala Asp Glu Asn Asn Met
 50 55 60

Leu Leu Asp Tyr Gln Asp His Lys Gly Ala Asp Ser His Ala Gly Val
 65 70 75 80

Arg Tyr Ile Thr Glu Ala Leu Ile Lys Lys Leu Thr Lys Gln Asp Asn
 85 90 95

Leu Ala Leu Ile Lys Ser Leu Asn Leu Ser Leu Ser Lys Asp Gly Gly
 100 105 110

Lys Lys Phe Lys Tyr Ile Glu Asn Leu Glu Lys Cys Val Lys Leu Glu
 115 120 125

Val Leu Asn Leu Ser Tyr Asn Leu Ile Gly Lys Ile Glu Lys Leu Asp
 130 135 140

Lys Leu Leu Lys Leu Arg Glu Leu Asn Leu Ser Tyr Asn Lys Ile Ser
 145 150 155 160

Lys Ile Glu Gly Ile Glu Asn Met Cys Asn Leu Gln Lys Leu Asn Leu
 165 170 175

Ala Gly Asn Glu Ile Glu His Ile Pro Val Trp Leu Gly Lys Lys Leu
 180 185 190

Lys Ser Leu Arg Val Leu Asn Leu Lys Gly Asn Lys Ile Ser Ser Leu
 195 200 205

Gln Asp Ile Ser Lys Leu Lys Pro Leu Gln Asp Leu Ile Ser Leu Ile
 210 215 220

Leu Val Glu Asn Pro Val Val Thr Leu Pro His Tyr Leu Gln Phe Thr
 225 230 235 240

Ile Phe His Leu Arg Ser Leu Glu Ser Leu Glu Gly Gln Pro Val Thr
 245 250 255

Thr Gln Asp Arg Gln Glu Ala Phe Glu Arg Phe Ser Leu Glu Glu Val
 260 265 270

Glu Arg Leu Glu Arg Asp Leu Glu Lys Lys Met Ile Glu Thr Glu Glu
 275 280 285

Leu Lys Ser Lys Gln Thr Arg Phe Leu Glu Glu Ile Lys Asn Gln Asp
 290 295 300

ES 2 660 414 T3

Lys Leu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Glu Ala Met Leu Gln Lys Gln Ser
 305 310 315 320
 Cys Glu Glu Leu Lys Ser Asp Leu Asn Thr Lys Asn Glu Leu Leu Lys
 325 330 335
 Gln Lys Thr Ile Glu Leu Thr Arg Ala Cys Gln Lys Gln Tyr Glu Leu
 340 345 350
 Glu Gln Glu Leu Ala Phe Tyr Lys Ile Asp Ala Lys Phe Glu Pro Leu
 355 360 365
 Asn Tyr Tyr Pro Ser Glu Tyr Ala Glu Ile Asp Lys Ala Pro Asp Glu
 370 375 380
 Ser Pro Tyr Ile Gly Lys Ser Arg Tyr Lys Arg Asn Met Phe Ala Thr
 385 390 395 400
 Glu Ser Tyr Ile Ile Asp Ser Ala Gln Ala Val Gln Ile Lys Lys Met
 405 410 415
 Glu Pro Asp Glu Gln Leu Arg Asn Asp His Met Asn Leu Arg Gly His
 420 425 430
 Thr Pro Leu Asp Thr Gln Leu Glu Asp Lys Glu Lys Lys Ile Ser Ala
 435 440 445
 Ala Gln Thr Arg Leu Ser Glu Leu His Asp Glu Ile Glu Lys Ala Glu
 450 455 460
 Gln Gln Ile Leu Arg Ala Thr Glu Glu Phe Lys Gln Leu Glu Glu Ala
 465 470 475 480
 Ile Gln Leu Lys Lys Ile Ser Glu Ala Gly Lys Asp Leu Leu Tyr Lys
 485 490 495
 Gln Leu Ser Gly Arg Leu Gln Leu Val Asn Lys Leu Arg Gln Glu Ala
 500 505 510
 Leu Asp Leu Glu Leu Gln Met Glu Lys Gln Lys Gln Glu Ile Ala Gly
 515 520 525
 Lys Gln Lys Glu Ile Lys Asp Leu Gln Ile Ala Ile Asp Ser Leu Asp
 530 535 540
 Ser Lys Asp Pro Lys His Ser His Met Lys Ala Gln Lys Ser Gly Lys
 545 550 555 560

ES 2 660 414 T3

Glu Gln Gln Leu Asp Ile Met Asn Lys Gln Tyr Gln Gln Leu Glu Ser
 565 570 575

Arg Leu Asp Glu Ile Leu Ser Arg Ile Ala Lys Glu Thr Glu Glu Ile
 580 585 590

Lys Asp Leu Glu Glu Gln Leu Thr Glu Gly Gln Ile Ala Ala Asn Glu
 595 600 605

Ala Leu Lys Lys Asp Leu Glu Gly Val Ile Ser Gly Leu Gln Glu Tyr
 610 615 620

Leu Gly Thr Ile Lys Gly Gln Ala Thr Gln Ala Gln Asn Glu Cys Arg
 625 630 635 640

Lys Leu Arg Asp Glu Lys Glu Thr Leu Leu Gln Arg Leu Thr Glu Val
 645 650 655

Glu Gln Glu Arg Asp Gln Leu Glu Ile Val Ala Met Asp Ala Glu Asn
 660 665 670

Met Arg Lys Glu Leu Ala Glu Leu Glu Ser Ala Leu Gln Glu Gln His
 675 680 685

Glu Val Asn Ala Ser Leu Gln Gln Thr Gln Gly Asp Leu Ser Ala Tyr
 690 695 700

Glu Ala Glu Leu Glu Ala Arg Leu Asn Leu Arg Asp Ala Glu Ala Asn
 705 710 715 720

Gln Leu Lys Glu Glu Leu Glu Lys Val Thr Arg Leu Thr Gln Leu Glu
 725 730 735

Gln Ser Ala Leu Gln Ala Glu Leu Glu Lys Glu Arg Gln Ala Leu Lys
 740 745 750

Asn Ala Leu Gly Lys Ala Gln Phe Ser Glu Glu Lys Glu Gln Glu Asn
 755 760 765

Ser Glu Leu His Ala Lys Leu Lys His Leu Gln Asp Asp Asn Asn Leu
 770 775 780

Leu Lys Gln Gln Leu Lys Asp Phe Gln Asn His Leu Asn His Val Val
 785 790 795 800

Asp Gly Leu Val Arg Pro Glu Glu Val Ala Ala Arg Val Asp Glu Leu

ES 2 660 414 T3

				805						810					815
Arg	Arg	Lys	Leu	Lys	Leu	Gly	Thr	Gly	Glu	Met	Asn	Ile	His	Ser	Pro
			820					825					830		
Ser	Asp	Val	Leu	Gly	Lys	Ser	Leu	Ala	Asp	Leu	Gln	Lys	Gln	Phe	Ser
		835					840					845			
Glu	Ile	Leu	Ala	Arg	Ser	Lys	Trp	Glu	Arg	Asp	Glu	Ala	Gln	Val	Arg
	850					855					860				
Glu	Arg	Lys	Leu	Gln	Glu	Glu	Met	Ala	Leu	Gln	Gln	Glu	Lys	Leu	Ala
865					870					875					880
Thr	Gly	Gln	Glu	Glu	Phe	Arg	Gln	Ala	Cys	Glu	Arg	Ala	Leu	Glu	Ala
				885					890						895
Arg	Met	Asn	Phe	Asp	Lys	Arg	Gln	His	Glu	Ala	Arg	Ile	Gln	Gln	Met
			900					905					910		
Glu	Asn	Glu	Ile	His	Tyr	Leu	Gln	Glu	Asn	Leu	Lys	Ser	Met	Glu	Glu
		915					920					925			
Ile	Gln	Gly	Leu	Thr	Asp	Leu	Gln	Leu	Gln	Glu	Ala	Asp	Glu	Glu	Lys
	930					935					940				
Glu	Arg	Ile	Leu	Ala	Gln	Leu	Arg	Glu	Leu	Glu	Lys	Lys	Lys	Lys	Leu
945					950					955					960
Glu	Asp	Ala	Lys	Ser	Gln	Glu	Gln	Val	Phe	Gly	Leu	Asp	Lys	Glu	Leu
				965					970					975	
Lys	Lys	Leu	Lys	Lys	Ala	Val	Ala	Thr	Ser	Asp	Lys	Leu	Ala	Thr	Ala
			980					985					990		
Glu	Leu	Thr	Ile	Ala	Lys	Asp	Gln	Leu	Lys	Ser	Leu	His	Gly	Thr	Val
		995					1000					1005			
Met	Lys	Ile	Asn	Gln	Glu	Arg	Ala	Glu	Glu	Leu	Gln	Glu	Ala	Glu	
	1010					1015					1020				
Arg	Phe	Ser	Arg	Lys	Ala	Ala	Gln	Ala	Ala	Arg	Asp	Leu	Thr	Arg	
	1025					1030					1035				
Ala	Glu	Ala	Glu	Ile	Glu	Leu	Leu	Gln	Asn	Leu	Leu	Arg	Gln	Lys	
	1040					1045					1050				

ES 2 660 414 T3

Gly Glu Gln Phe Arg Leu Glu Met Glu Lys Thr Gly Val Gly Thr
1055 1060 1065

Gly Ala Asn Ser Gln Val Leu Glu Ile Glu Lys Leu Asn Glu Thr
1070 1075 1080

Met Glu Arg Gln Arg Thr Glu Ile Ala Arg Leu Gln Asn Val Leu
1085 1090 1095

Asp Leu Thr Gly Ser Asp Asn Lys Gly Gly Phe Glu Asn Val Leu
1100 1105 1110

Glu Glu Ile Ala Glu Leu Arg Arg Glu Val Ser Tyr Gln Asn Asp
1115 1120 1125

Tyr Ile Ser Ser Met Ala Asp Pro Phe Lys Arg Arg Gly Tyr Trp
1130 1135 1140

Tyr Phe Met Pro Pro Pro Pro Ser Ser Lys Val Ser Ser His Ser
1145 1150 1155

Ser Gln Ala Thr Lys Asp Ser Gly Val Gly Leu Lys Tyr Ser Ala
1160 1165 1170

Ser Thr Pro Val Arg Lys Pro Arg Pro Gly Gln Gln Asp Gly Lys
1175 1180 1185

Glu Gly Ser Gln Pro Pro Pro Ala Ser Gly Tyr Trp Val Tyr Ser
1190 1195 1200

Pro Ile Arg Ser Gly Leu His Lys Leu Phe Pro Ser Arg Asp Ala
1205 1210 1215

Asp Ser Gly Gly Asp Ser Gln Glu Glu Ser Glu Leu Asp Asp Gln
1220 1225 1230

Glu Glu Pro Pro Phe Val Pro Pro Pro Gly Tyr Met Met Tyr Thr
1235 1240 1245

Val Leu Pro Asp Gly Ser Pro Val Pro Gln Gly Met Ala Leu Tyr
1250 1255 1260

Ala Pro Pro Pro Pro Leu Pro Asn Asn Ser Arg Pro Leu Thr Pro
1265 1270 1275

Gly Thr Val Val Tyr Gly Pro Pro Pro Ala Gly Ala Pro Met Val
1280 1285 1290

ES 2 660 414 T3

Tyr Gly Pro Pro Pro Pro Asn Phe Ser Ile Pro Phe Ile Pro Met
 1295 1300 1305

 Gly Val Leu His Cys Asn Val Pro Glu His His Asn Leu Glu Asn
 1310 1315 1320

 Glu Val Ser Arg Leu Glu Asp Ile Met Gln His Leu Lys Ser Lys
 1325 1330 1335

 Lys Arg Glu Glu Arg Trp Met Arg Ala Ser Lys Arg Gln Ser Glu
 1340 1345 1350

 Lys Glu Met Glu Glu Leu His His Asn Ile Asp Asp Leu Leu Gln
 1355 1360 1365

 Glu Lys Lys Ser Leu Glu Cys Glu Val Glu Glu Leu His Arg Thr
 1370 1375 1380

 Val Gln Lys Arg Gln Gln Gln Lys Asp Phe Ile Asp Gly Asn Val
 1385 1390 1395

 Glu Ser Leu Met Thr Glu Leu Glu Ile Glu Lys Ser Leu Lys His
 1400 1405 1410

 His Glu Asp Ile Val Asp Glu Ile Glu Cys Ile Glu Lys Thr Leu
 1415 1420 1425

 Leu Lys Arg Arg Ser Glu Leu Arg Glu Ala Asp Arg Leu Leu Ala
 1430 1435 1440

 Glu Ala Glu Ser Glu Leu Ser Cys Thr Lys Glu Lys Thr Lys Asn
 1445 1450 1455

 Ala Val Glu Lys Phe Thr Asp Ala Lys Arg Ser Leu Leu Gln Thr
 1460 1465 1470

 Glu Ser Asp Ala Glu Glu Leu Glu Arg Arg Ala Gln Glu Thr Ala
 1475 1480 1485

 Val Asn Leu Val Lys Ala Asp Gln Gln Leu Arg Ser Leu Gln Ala
 1490 1495 1500

 Asp Ala Lys Asp Leu Glu Gln His Lys Ile Lys Gln Glu Glu Ile
 1505 1510 1515

 Leu Lys Glu Ile Asn Lys Ile Val Ala Ala Lys Asp Ser Asp Phe
 1520 1525 1530

ES 2 660 414 T3

Gln Cys Leu Ser Lys Lys Lys Glu Lys Leu Thr Glu Glu Leu Gln
 1535 1540 1545

Lys Leu Gln Lys Asp Ile Glu Met Ala Glu Arg Asn Glu Asp His
 1550 1555 1560

His Leu Gln Val Leu Lys Glu Ser Glu Val Leu Leu Gln Ala Lys
 1565 1570 1575

Arg Ala Glu Leu Glu Lys Leu Lys Ser Gln Val Thr Ser Gln Gln
 1580 1585 1590

Gln Glu Met Ala Val Leu Asp Arg Gln Leu Gly His Lys Lys Glu
 1595 1600 1605

Glu Leu His Leu Leu Gln Gly Ser Met Val Gln Ala Lys Ala Asp
 1610 1615 1620

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

Cys Asn His Ile Arg Glu Val Lys Ser Leu Leu Glu Glu Leu Ser
 1640 1645 1650

Phe Gln Lys Gly Glu Leu Asn Val Gln Ile Ser Glu Arg Lys Thr
 1655 1660 1665

Gln Leu Thr Leu Ile Lys Gln Glu Ile Glu Lys Glu Glu Glu Asn
 1670 1675 1680

Leu Gln Val Val Leu Arg Gln Met Ser Lys His Lys Thr Glu Leu
 1685 1690 1695

Lys Asn Ile Leu Asp Met Leu Gln Leu Glu Asn His Glu Leu Gln
 1700 1705 1710

Gly Leu Lys Leu Gln His Asp Gln Arg Val Ser Glu Leu Glu Lys
 1715 1720 1725

Thr Gln Val Ala Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Leu Glu Asn Leu
 1730 1735 1740

Gln Gln Ile Ser Gln Gln Gln Lys Gly Glu Ile Glu Trp Gln Lys
 1745 1750 1755

Gln Leu Leu Glu Arg Asp Lys Arg Glu Ile Glu Arg Met Thr Ala

ES 2 660 414 T3

1760						1765						1770			
Glu	Ser	Arg	Ala	Leu	Gln	Ser	Cys	Val	Glu	Cys	Leu	Ser	Lys	Glu	
1775						1780					1785				
Lys	Glu	Asp	Leu	Gln	Glu	Lys	Cys	Asp	Ile	Trp	Glu	Lys	Lys	Leu	
1790						1795					1800				
Ala	Gln	Thr	Lys	Arg	Val	Leu	Ala	Ala	Ala	Glu	Glu	Asn	Ser	Lys	
1805						1810					1815				
Met	Glu	Gln	Ser	Asn	Leu	Glu	Lys	Leu	Glu	Leu	Asn	Val	Arg	Lys	
1820						1825					1830				
Leu	Gln	Gln	Glu	Leu	Asp	Gln	Leu	Asn	Arg	Asp	Lys	Leu	Ser	Leu	
1835						1840					1845				
His	Asn	Asp	Ile	Ser	Ala	Met	Gln	Gln	Gln	Leu	Gln	Glu	Lys	Arg	
1850						1855					1860				
Glu	Ala	Val	Asn	Ser	Leu	Gln	Glu	Glu	Leu	Ala	Asn	Val	Gln	Asp	
1865						1870					1875				
His	Leu	Asn	Leu	Ala	Lys	Gln	Asp	Leu	Leu	His	Thr	Thr	Lys	His	
1880						1885					1890				
Gln	Asp	Val	Leu	Leu	Ser	Glu	Gln	Thr	Arg	Leu	Gln	Lys	Asp	Ile	
1895						1900					1905				
Ser	Glu	Trp	Ala	Asn	Arg	Phe	Glu	Asp	Cys	Gln	Lys	Glu	Glu	Glu	
1910						1915					1920				
Thr	Lys	Gln	Gln	Gln	Leu	Gln	Val	Leu	Gln	Asn	Glu	Ile	Glu	Glu	
1925						1930					1935				
Asn	Lys	Leu	Lys	Leu	Val	Gln	Gln	Glu	Met	Met	Phe	Gln	Arg	Leu	
1940						1945					1950				
Gln	Lys	Glu	Arg	Glu	Ser	Glu	Glu	Ser	Lys	Leu	Glu	Thr	Ser	Lys	
1955						1960					1965				
Val	Thr	Leu	Lys	Glu	Gln	Gln	His	Gln	Leu	Glu	Lys	Glu	Leu	Thr	
1970						1975					1980				
Asp	Gln	Lys	Ser	Lys	Leu	Asp	Gln	Val	Leu	Ser	Lys	Val	Leu	Ala	
1985						1990					1995				

ES 2 660 414 T3

Ala Glu Glu Arg Val Arg Thr Leu Gln Glu Glu Glu Arg Trp Cys
 2000 2005 2010

Glu Ser Leu Glu Lys Thr Leu Ser Gln Thr Lys Arg Gln Leu Ser
 2015 2020 2025

Glu Arg Glu Gln Gln Leu Val Glu Lys Ser Gly Glu Leu Leu Ala
 2030 2035 2040

Leu Gln Lys Glu Ala Asp Ser Met Arg Ala Asp Phe Ser Leu Leu
 2045 2050 2055

Arg Asn Gln Phe Leu Thr Glu Arg Lys Lys Ala Glu Lys Gln Val
 2060 2065 2070

Ala Ser Leu Lys Glu Ala Leu Lys Ile Gln Arg Ser Gln Leu Glu
 2075 2080 2085

Lys Asn Leu Leu Glu Gln Lys Gln Glu Asn Ser Cys Ile Gln Lys
 2090 2095 2100

Glu Met Ala Thr Ile Glu Leu Val Ala Gln Asp Asn His Glu Arg
 2105 2110 2115

Ala Arg Arg Leu Met Lys Glu Leu Asn Gln Met Gln Tyr Glu Tyr
 2120 2125 2130

Thr Glu Leu Lys Lys Gln Met Ala Asn Gln Lys Asp Leu Glu Arg
 2135 2140 2145

Arg Gln Met Glu Ile Ser Asp Ala Met Arg Thr Leu Lys Ser Glu
 2150 2155 2160

Val Lys Asp Glu Ile Arg Thr Ser Leu Lys Asn Leu Asn Gln Phe
 2165 2170 2175

Leu Pro Glu Leu Pro Ala Asp Leu Glu Ala Ile Leu Glu Arg Asn
 2180 2185 2190

Glu Asn Leu Glu Gly Glu Leu Glu Ser Leu Lys Glu Asn Leu Pro
 2195 2200 2205

Phe Thr Met Asn Glu Gly Pro Phe Glu Glu Lys Leu Asn Phe Ser
 2210 2215 2220

Gln Val His Ile Met Asp Glu His Trp Arg Gly Glu Ala Leu Arg
 2225 2230 2235

ES 2 660 414 T3

Glu Lys Leu Arg His Arg Glu Asp Arg Leu Lys Ala Gln Leu Arg
 2240 2245 2250

His Cys Met Ser Lys Gln Ala Glu Val Leu Ile Lys Gly Lys Arg
 2255 2260 2265

Gln Thr Glu Gly Thr Leu His Ser Leu Arg Arg Gln Val Asp Ala
 2270 2275 2280

Leu Gly Glu Leu Val Thr Ser Thr Ser Ala Asp Ser Ala Ser Ser
 2285 2290 2295

Pro Ser Leu Ser Gln Leu Glu Ser Ser Leu Thr Glu Asp Ser Gln
 2300 2305 2310

Leu Gly Gln Asn Gln Glu Lys Asn Ala Ser Ala Arg
 2315 2320 2325

5 <210> 31
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Cebador

<400> 31
 gcagcaaaag actcagac 18

15 <210> 32
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Cebador

<400> 32
 aagttgcaac atgtccag 18

25 <210> 33
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Cebador

35 <400> 33
 ggatccatga agaaagggtc tcag 24

40 <210> 34
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cebador

ES 2 660 414 T3

```

<400> 34
gtcgactcag ggtcgggtgcg cgtc      24

5  <210> 35
   <211> 23
   <212> ADN
   <213> Artificial

10 <220>
   <223> Cebador

   <400> 35
   gtcgacctat gcggaggggt ctg      23

15 <210> 36
   <211> 25
   <212> ADN
   <213> Artificial

20 <220>
   <223> Cebador

   <400> 36
   ggatccatga agaaagggtc tcaac    25

25 <210> 37
   <211> 25
   <212> ADN
   <213> Artificial

30 <220>
   <223> Cebador

   <400> 37
   gtcgactcat ctggctgagg cattc    25

35 <210> 38
   <211> 6046
   <212> ADN
   <213> Canis familiaris

40 <220>
   <221> CDS
   <222> (1)..(5934)
   <223>

45 <400> 38

   atg tcg tcc tgg ctc ggg ggc ctg ggc tcc ggc ctg ggc cag tcg ctg      48
   Met Ser Ser Trp Leu Gly Gly Leu Gly Ser Gly Leu Gly Gln Ser Leu
   1           5           10           15

   ggg caa gtc gga ggc agc ctg gcc tcc ctc act ggc cag att tca aac      96
   Gly Gln Val Gly Gly Ser Leu Ala Ser Leu Thr Gly Gln Ile Ser Asn

```

ES 2 660 414 T3

				20				25				30				
ttt	acg	aag	gac	atg	ctg	atg	gag	ggc	acg	gag	gag	gtg	gaa	gca	gaa	144
Phe	Thr	Lys	Asp	Met	Leu	Met	Glu	Gly	Thr	Glu	Glu	Val	Glu	Ala	Glu	
		35				40						45				
tta	cct	aat	tct	agg	aga	aag	gaa	ggt	gaa	gcc	att	cat	gca	atc	tta	192
Leu	Pro	Asn	Ser	Arg	Arg	Lys	Glu	Val	Glu	Ala	Ile	His	Ala	Ile	Leu	
		50				55						60				
aga	tca	gag	aat	gag	aga	ctc	aaa	gaa	ctt	tgt	act	gat	tta	gaa	gag	240
Arg	Ser	Glu	Asn	Glu	Arg	Leu	Lys	Glu	Leu	Cys	Thr	Asp	Leu	Glu	Glu	
		65				70						75		80		
aag	cat	gaa	gca	tca	gag	ctt	caa	ata	aag	caa	caa	tct	aca	aat	tac	288
Lys	His	Glu	Ala	Ser	Glu	Leu	Gln	Ile	Lys	Gln	Gln	Ser	Thr	Asn	Tyr	
				85						90				95		
cga	aat	caa	cta	caa	cag	aaa	gag	gta	gaa	atc	agc	cat	ctt	aaa	gca	336
Arg	Asn	Gln	Leu	Gln	Gln	Lys	Glu	Val	Glu	Ile	Ser	His	Leu	Lys	Ala	
		100						105						110		
aga	cag	att	gca	ctg	cag	gat	cag	ttg	ctg	aag	ctg	cag	tca	gct	gct	384
Arg	Gln	Ile	Ala	Leu	Gln	Asp	Gln	Leu	Leu	Lys	Leu	Gln	Ser	Ala	Ala	
		115				120						125				
cag	tct	gca	cat	tca	gga	gct	agc	agc	gta	cca	gca	gcc	ctg	gca	tca	432
Gln	Ser	Ala	His	Ser	Gly	Ala	Ser	Ser	Val	Pro	Ala	Ala	Leu	Ala	Ser	
		130				135						140				
tct	ccg	ttc	agc	tat	tct	gtc	agt	cat	cat	gct	tca	gct	ttc	cat	gac	480
Ser	Pro	Phe	Ser	Tyr	Ser	Val	Ser	His	His	Ala	Ser	Ala	Phe	His	Asp	
		145				150						155		160		
gat	gac	atg	gac	ttc	agt	gac	ata	att	tca	tca	caa	caa	gaa	ata	aac	528
Asp	Asp	Met	Asp	Phe	Ser	Asp	Ile	Ile	Ser	Ser	Gln	Gln	Glu	Ile	Asn	
				165						170				175		
aga	tta	tca	aat	gaa	ggt	tca	aga	ctt	gag	tct	gag	ggt	ggc	cat	tgg	576
Arg	Leu	Ser	Asn	Glu	Val	Ser	Arg	Leu	Glu	Ser	Glu	Val	Gly	His	Trp	
		180						185						190		
agg	cat	att	gct	cag	act	tct	aaa	gca	caa	gga	tca	aat	agc	tct	gat	624
Arg	His	Ile	Ala	Gln	Thr	Ser	Lys	Ala	Gln	Gly	Ser	Asn	Ser	Ser	Asp	
		195						200						205		
caa	agt	gaa	atc	tgt	aaa	cta	caa	agt	atc	att	aag	gaa	ctc	aaa	cag	672
Gln	Ser	Glu	Ile	Cys	Lys	Leu	Gln	Ser	Ile	Ile	Lys	Glu	Leu	Lys	Gln	
		210				215						220				
att	cga	agt	cag	gaa	atc	gat	gac	cat	caa	cat	gaa	atg	tca	gtg	ttg	720
Ile	Arg	Ser	Gln	Glu	Ile	Asp	Asp	His	Gln	His	Glu	Met	Ser	Val	Leu	
		225				230						235		240		
cag	aat	gca	cat	caa	cag	aag	ttg	aca	gat	ata	agt	cgt	cgg	cat	cga	768
Gln	Asn	Ala	His	Gln	Gln	Lys	Leu	Thr	Asp	Ile	Ser	Arg	Arg	His	Arg	
				245				250						255		
gaa	gaa	tta	cgt	gac	tat	gaa	gaa	cga	att	gaa	gaa	ctg	gaa	aat	ctg	816
Glu	Glu	Leu	Arg	Asp	Tyr	Glu	Glu	Arg	Ile	Glu	Glu	Leu	Glu	Asn	Leu	
		260				265						270				
tta	gaa	caa	ggt	ggc	tca	gga	att	gta	ata	cct	gat	cac	tca	aaa	atc	864

ES 2 660 414 T3

atc att agt aaa ctg aga aaa gat cta aat gat gaa aac aag aga gtc Ile Ile Ser Lys Leu Arg Lys Asp Leu Asn Asp Glu Asn Lys Arg Val 530 535 540	1632
cat caa ctt gaa gat gat aaa aag aat atg act aaa gaa cta aat gtg His Gln Leu Glu Asp Asp Lys Lys Asn Met Thr Lys Glu Leu Asn Val 545 550 555 560	1680
cag aaa gag aag tta gtt caa agt gaa ctc gtc cta aat ggc ttg cat Gln Lys Glu Lys Leu Val Gln Ser Glu Leu Val Leu Asn Gly Leu His 565 570 575	1728
tta gcc aag cag aag ctt gag gag aaa gta gaa gat tta gtg gat cag Leu Ala Lys Gln Lys Leu Glu Glu Lys Val Glu Asp Leu Val Asp Gln 580 585 590	1776
cta aat aaa tca caa aaa agt aat tta aac atg cag aag gag aac ttt Leu Asn Lys Ser Gln Lys Ser Asn Leu Asn Met Gln Lys Glu Asn Phe 595 600 605	1824
gga ctt aag gaa cat att aaa caa aat gag gaa gag ctt tct aga gtc Gly Leu Lys Glu His Ile Lys Gln Asn Glu Glu Glu Leu Ser Arg Val 610 615 620	1872
agg gat gag tta act cag tct cta agt cga gac tct ggc agt gat ttt Arg Asp Glu Leu Thr Gln Ser Leu Ser Arg Asp Ser Gly Ser Asp Phe 625 630 635 640	1920
aag gat gac tta ctt aaa gaa agg gaa gct gaa gtc aga aac tta aaa Lys Asp Asp Leu Leu Lys Glu Arg Glu Ala Glu Val Arg Asn Leu Lys 645 650 655	1968
caa aat ctt tca gaa ata gaa cag ctc aat gac agt tta aac aaa gtt Gln Asn Leu Ser Glu Ile Glu Gln Leu Asn Asp Ser Leu Asn Lys Val 660 665 670	2016
gcc ttt gat ctc aaa atg gaa aat gaa aag ttg gtc tta gcg tgt gaa Ala Phe Asp Leu Lys Met Glu Asn Glu Lys Leu Val Leu Ala Cys Glu 675 680 685	2064
gat ata aga cat cag ttg gaa gaa tca att gtt ggc agc aat cag atg Asp Ile Arg His Gln Leu Glu Glu Ser Ile Val Gly Ser Asn Gln Met 690 695 700	2112
tct ctg gaa aga aac act att gtg gag gct cta aaa atg gaa aaa gga Ser Leu Glu Arg Asn Thr Ile Val Glu Ala Leu Lys Met Glu Lys Gly 705 710 715 720	2160
cag tta gaa gca gaa ttg agt cga gct gac caa agg ctg ttg gaa gaa Gln Leu Glu Ala Glu Leu Ser Arg Ala Asp Gln Arg Leu Leu Glu Glu 725 730 735	2208
gcc agt aag tat gaa cag acg att caa gag cta tca aag gca cgt gat Ala Ser Lys Tyr Glu Gln Thr Ile Gln Glu Leu Ser Lys Ala Arg Asp 740 745 750	2256
ttg agg acc tct gct tta cag ctg gag cag cag cat tta atg aaa ctc Leu Arg Thr Ser Ala Leu Gln Leu Glu Gln Gln His Leu Met Lys Leu 755 760 765	2304
agt caa gag aag gac ttc gaa ata gca gaa ctt aaa aag aac att gaa Ser Gln Glu Lys Asp Phe Glu Ile Ala Glu Leu Lys Lys Asn Ile Glu 770 775 780	2352

ES 2 660 414 T3

cag atg gat act gat cat aaa gaa act aag gca att ttg tca tct att	2400
Gln Met Asp Thr Asp His Lys Glu Thr Lys Ala Ile Leu Ser Ser Ile	
785 790 795 800	
tta gaa gag cag aag caa ttg acg caa ctt ata agt gag aag gaa att	2448
Leu Glu Glu Gln Lys Gln Leu Thr Gln Leu Ile Ser Glu Lys Glu Ile	
805 810 815	
ttt att gag aaa ctt aaa gaa aga agt tca gag ctt cag gag gaa tta	2496
Phe Ile Glu Lys Leu Lys Glu Arg Ser Ser Glu Leu Gln Glu Glu Leu	
820 825 830	
gag aaa tct act cag gcc tca agg aaa att gaa att tta aag caa acc	2544
Glu Lys Ser Thr Gln Ala Ser Arg Lys Ile Glu Ile Leu Lys Gln Thr	
835 840 845	
att gag gag aaa gac aga agt ctt ggg tcc atg aaa gaa gaa aac aat	2592
Ile Glu Glu Lys Asp Arg Ser Leu Gly Ser Met Lys Glu Glu Asn Asn	
850 855 860	
cat ctg aaa gaa gaa ctg gaa cgg ctc cgt gaa cag cag agt cga gcc	2640
His Leu Lys Glu Glu Leu Glu Arg Leu Arg Glu Gln Gln Ser Arg Ala	
865 870 875 880	
gtg cct gtg gtg gag cct aaa ccc ctg gat agt gtt aca gag cta gaa	2688
Val Pro Val Val Glu Pro Lys Pro Leu Asp Ser Val Thr Glu Leu Glu	
885 890 895	
tct gag gtg ttg cag cta aat ata gta aag agg aat ctt gag gag gaa	2736
Ser Glu Val Leu Gln Leu Asn Ile Val Lys Arg Asn Leu Glu Glu Glu	
900 905 910	
ata aaa cgt cat cag aag att ata gaa gat caa aac cag agt aaa atg	2784
Ile Lys Arg His Gln Lys Ile Ile Glu Asp Gln Asn Gln Ser Lys Met	
915 920 925	
cag ctg ctt cag tct cta gag gag cag aag aag gaa atg gat gaa ttt	2832
Gln Leu Leu Gln Ser Leu Glu Glu Gln Lys Lys Glu Met Asp Glu Phe	
930 935 940	
aag tgc cag cat gag caa atg aac gtc aca cac acc caa ctc ttc tta	2880
Lys Cys Gln His Glu Gln Met Asn Val Thr His Thr Gln Leu Phe Leu	
945 950 955 960	
gag aaa gat gag gag att aag aat ttg caa aaa aca att gaa caa atc	2928
Glu Lys Asp Glu Glu Ile Lys Asn Leu Gln Lys Thr Ile Glu Gln Ile	
965 970 975	
aaa acc caa tgg cat gaa gaa aga cag gac gtt caa atg gag aat tct	2976
Lys Thr Gln Trp His Glu Glu Arg Gln Asp Val Gln Met Glu Asn Ser	
980 985 990	
gag ttc ttt caa gaa aca aaa gtg cag agc ctt aat cta gaa aat ggc	3024
Glu Phe Phe Gln Glu Thr Lys Val Gln Ser Leu Asn Leu Glu Asn Gly	
995 1000 1005	
agt gaa aag cat gat tta tcg aaa gcc gaa act gag agg tta gta	3069
Ser Glu Lys His Asp Leu Ser Lys Ala Glu Thr Glu Arg Leu Val	
1010 1015 1020	
aaa gga ata aaa gaa cga gag ctg gag att aaa ctt cta aat gaa	3114
Lys Gly Ile Lys Glu Arg Glu Leu Glu Ile Lys Leu Leu Asn Glu	

ES 2 660 414 T3

aaa tct	ctt gca ttt gag cag	cta ctg aaa gaa aaa	gag cag ggc	4554
Lys Ser	Leu Ala Phe Glu Gln	Leu Leu Lys Glu Lys	Glu Gln Gly	
1505	1510	1515		
aag act	ggg gag tta aat caa	ctt tta aat gca gtt	aag tca atg	4599
Lys Thr	Gly Glu Leu Asn Gln	Leu Leu Asn Ala Val	Lys Ser Met	
1520	1525	1530		
cag gag	aag aca gtt aag ttt	caa caa gag aga gac	cag gtc atg	4644
Gln Glu	Lys Thr Val Lys Phe	Gln Gln Glu Arg Asp	Gln Val Met	
1535	1540	1545		
ttg gcc	ctg aaa cag aaa caa	atg gaa aac agt gct	tta cag aat	4689
Leu Ala	Leu Lys Gln Lys Gln	Met Glu Asn Ser Ala	Leu Gln Asn	
1550	1555	1560		
gag gtt	caa cat tta cgc gac	aaa gaa tta cgc tta	aac cag gag	4734
Glu Val	Gln His Leu Arg Asp	Lys Glu Leu Arg Leu	Asn Gln Glu	
1565	1570	1575		
cta gag	aga ttg cgt aac cat	ctt tta gaa tca gag	gat tct tac	4779
Leu Glu	Arg Leu Arg Asn His	Leu Leu Glu Ser Glu	Asp Ser Tyr	
1580	1585	1590		
acc cgt	gaa gct ttg gct gca	gaa gag aga gag gcc	aaa ctg aga	4824
Thr Arg	Glu Ala Leu Ala Ala	Glu Glu Arg Glu Ala	Lys Leu Arg	
1595	1600	1605		
agg aaa	gtc aca gta ttg gag	gaa aag cta gtt tca	tct tct aat	4869
Arg Lys	Val Thr Val Leu Glu	Glu Lys Leu Val Ser	Ser Ser Asn	
1610	1615	1620		
gca atg	gaa aat gca agc cat	cag gcc agt ttg cag	gta gag tca	4914
Ala Met	Glu Asn Ala Ser His	Gln Ala Ser Leu Gln	Val Glu Ser	
1625	1630	1635		
ctg cag	gag cag ctg aat gtg	gtc tct aag cag agg	gat gaa acc	4959
Leu Gln	Glu Gln Leu Asn Val	Val Ser Lys Gln Arg	Asp Glu Thr	
1640	1645	1650		
gcc ctg	cag ctc tct gtg tct	cgg gaa caa gta aag	cag tat gct	5004
Ala Leu	Gln Leu Ser Val Ser	Arg Glu Gln Val Lys	Gln Tyr Ala	
1655	1660	1665		
ctc tca	ctc tcc aac ctg cag	atg gta cta gag cat	ttc cag caa	5049
Leu Ser	Leu Ser Asn Leu Gln	Met Val Leu Glu His	Phe Gln Gln	
1670	1675	1680		
gag gaa	aaa gct gtg tat tct	gct gaa cta gaa aag	cac aaa cag	5094
Glu Glu	Lys Ala Val Tyr Ser	Ala Glu Leu Glu Lys	His Lys Gln	
1685	1690	1695		
ctt gta	gct gaa tgg aag aaa	aag gca gaa aat ctg	gaa gga aaa	5139
Leu Val	Ala Glu Trp Lys Lys	Lys Ala Glu Asn Leu	Glu Gly Lys	
1700	1705	1710		
ctg atg	tca tta cag gag cgt	ttt gat gaa gca aat	gct gcg ttg	5184
Leu Met	Ser Leu Gln Glu Arg	Phe Asp Glu Ala Asn	Ala Ala Leu	
1715	1720	1725		
gat tca	gca tca aga ctt aca	gag cag tta gat tta	aag gaa gaa	5229
Asp Ser	Ala Ser Arg Leu Thr	Glu Gln Leu Asp Leu	Lys Glu Glu	
1730	1735	1740		

ES 2 660 414 T3

caa att	gaa gaa	ctt aaa	aaa aaa	caa aat	gaa ctc	cga caa	gaa atg		5274
Gln Ile	Glu Glu	Leu Lys	Lys Lys	Gln Asn	Glu Leu	Arg Gln	Glu Met		
1745			1750			1755			
ctg gat	gat gta	caa aag	aaa aaa	ttg atg	aac tta	gta aac	agc aca		5319
Leu Asp	Asp Val	Gln Lys	Lys Lys	Leu Met	Asn Leu	Val Asn	Ser Thr		
1760			1765			1770			
gaa gga	aaa gtg	gac aaa	gtc gtc	cta atg	aga aac	ctc ttc	att gga		5364
Glu Gly	Lys Val	Asp Lys	Val Val	Leu Met	Arg Asn	Leu Phe	Ile Gly		
1775			1780			1785			
cat ttc	cac aca	cca aag	cat cat	cag cgc	cac gag	gtg tta	cga tta		5409
His Phe	His Thr	Pro Lys	His His	Gln Arg	His Glu	Val Leu	Arg Leu		
1790			1795			1800			
atg gga	agc atc	ctt ggt	atc atc	aag agg	gag gaa	atg gaa	cag ttg		5454
Met Gly	Ser Ile	Leu Gly	Ile Ile	Lys Arg	Glu Glu	Met Glu	Gln Leu		
1805			1810			1815			
ctt cat	gaa gat	cag ggt	ggt ggt	gtt acc	agg tgg	atg act	gga tgg		5499
Leu His	Glu Asp	Gln Gly	Gly Gly	Val Thr	Arg Trp	Met Thr	Gly Trp		
1820			1825			1830			
ctt gga	gga gga	tca aaa	agt gtc	ccc aac	aca cct	ctg aga	cca cca		5544
Leu Gly	Gly Gly	Ser Lys	Ser Val	Pro Asn	Thr Pro	Leu Arg	Pro Pro		
1835			1840			1845			
aat caa	caa tct	gtg ctt	aat aat	agc tct	ttt tca	gaa ctt	ttt gtt		5589
Asn Gln	Gln Ser	Val Leu	Asn Asn	Ser Ser	Phe Ser	Glu Leu	Phe Val		
1850			1855			1860			
aaa ttt	cta gaa	aca gaa	tct tct	cat cca	tct gtt	cca cca	cca aag		5634
Lys Phe	Leu Glu	Thr Glu	Ser Ser	His Pro	Ser Val	Pro Pro	Pro Lys		
1865			1870			1875			
ctt tct	gtt cat	gat atg	aaa aaa	cct ctg	gat tca	cca gga	agg aga		5679
Leu Ser	Val His	Asp Met	Lys Lys	Pro Leu	Asp Ser	Pro Gly	Arg Arg		
1880			1885			1890			
aaa gta	gtc ata	cat gta	tca tca	gaa agt	ttt aaa	gaa acc	aca gag		5724
Lys Val	Val Ile	His Val	Ser Ser	Glu Ser	Phe Lys	Glu Thr	Thr Glu		
1895			1900			1905			
tcc aga	tgt gga	agg aga	aca aca	gat gtg	aat cca	ttc ttg	gct ccc		5769
Ser Arg	Cys Gly	Arg Arg	Thr Thr	Asp Val	Asn Pro	Phe Leu	Ala Pro		
1910			1915			1920			
cgc tct	gca gct	gtg cct	ctc ctc	att aac	cca gct	gga ctt	gga cct		5814
Arg Ser	Ala Ala	Val Pro	Leu Leu	Ile Asn	Pro Ala	Gly Leu	Gly Pro		
1925			1930			1935			
ggt ggg	cct ggg	cat ctt	ctt ctt	ttg aag	ccc atc	tca gac	gtg ttg		5859
Gly Gly	Pro Gly	His Leu	Leu Leu	Leu Lys	Pro Ile	Ser Asp	Val Leu		
1940			1945			1950			
ccc aca	ttt aca	cct ttg	ccg cct	gtg tca	cct gac	aac agt	gct gga		5904
Pro Thr	Phe Thr	Pro Leu	Pro Pro	Val Ser	Pro Asp	Asn Ser	Ala Gly		
1955			1960			1965			
ggt gtg	ttg aaa	gac ctt	tta tta	aag caa	tag atg	atgattctca	agccagagac		5954
Val Val	Leu Lys	Asp Leu	Leu Leu	Lys Gln					

ES 2 660 414 T3

1970

1975

aacatatgta gcacttttaa gaaaccatga acactatgtg tatgtacttt atcacaaagt 6014

ggcctttcag aaaaagtcac gtgtttgttt gc 6046

<210> 39
 <211> 1977
 <212> PRT
 <213> *Canis familiaris*

5

<400> 39

Met Ser Ser Trp Leu Gly Gly Leu Gly Ser Gly Leu Gly Gln Ser Leu
 1 5 10 15

Gly Gln Val Gly Gly Ser Leu Ala Ser Leu Thr Gly Gln Ile Ser Asn
 20 25 30

Phe Thr Lys Asp Met Leu Met Glu Gly Thr Glu Glu Val Glu Ala Glu
 35 40 45

Leu Pro Asn Ser Arg Arg Lys Glu Val Glu Ala Ile His Ala Ile Leu
 50 55 60

Arg Ser Glu Asn Glu Arg Leu Lys Glu Leu Cys Thr Asp Leu Glu Glu
 65 70 75 80

Lys His Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ile Lys Gln Gln Ser Thr Asn Tyr
 85 90 95

Arg Asn Gln Leu Gln Gln Lys Glu Val Glu Ile Ser His Leu Lys Ala
 100 105 110

Arg Gln Ile Ala Leu Gln Asp Gln Leu Leu Lys Leu Gln Ser Ala Ala
 115 120 125

Gln Ser Ala His Ser Gly Ala Ser Ser Val Pro Ala Ala Leu Ala Ser
 130 135 140

Ser Pro Phe Ser Tyr Ser Val Ser His His Ala Ser Ala Phe His Asp
 145 150 155 160

Asp Asp Met Asp Phe Ser Asp Ile Ile Ser Ser Gln Gln Glu Ile Asn
 165 170 175

Arg Leu Ser Asn Glu Val Ser Arg Leu Glu Ser Glu Val Gly His Trp
 180 185 190

Arg His Ile Ala Gln Thr Ser Lys Ala Gln Gly Ser Asn Ser Ser Asp

10

ES 2 660 414 T3

195					200					205					
Gln	Ser	Glu	Ile	Cys	Lys	Leu	Gln	Ser	Ile	Ile	Lys	Glu	Leu	Lys	Gln
210						215					220				
Ile	Arg	Ser	Gln	Glu	Ile	Asp	Asp	His	Gln	His	Glu	Met	Ser	Val	Leu
225					230					235					240
Gln	Asn	Ala	His	Gln	Gln	Lys	Leu	Thr	Asp	Ile	Ser	Arg	Arg	His	Arg
				245					250					255	
Glu	Glu	Leu	Arg	Asp	Tyr	Glu	Glu	Arg	Ile	Glu	Glu	Leu	Glu	Asn	Leu
			260					265					270		
Leu	Glu	Gln	Gly	Gly	Ser	Gly	Ile	Val	Ile	Pro	Asp	His	Ser	Lys	Ile
		275					280					285			
His	Glu	Met	Gln	Lys	Thr	Ile	Gln	Asn	Leu	Gln	Thr	Glu	Lys	Val	Ala
	290					295					300				
Ser	Ile	Lys	Lys	Ile	Glu	Glu	Leu	Glu	Asp	Lys	Ile	Lys	Asp	Ile	Asp
305					310					315					320
Lys	Lys	Leu	Ser	Ser	Ala	Glu	Asn	Asp	Arg	Asp	Val	Leu	Arg	Lys	Glu
				325					330					335	
Lys	Glu	Cys	Leu	Asn	Val	Glu	Asn	Arg	Gln	Ile	Thr	Glu	Gln	Cys	Glu
			340					345					350		
Ser	Leu	Lys	Leu	Glu	Cys	Lys	Leu	Gln	His	Asp	Ala	Glu	Lys	Gln	Gly
		355					360					365			
Asp	Thr	Val	Thr	Glu	Lys	Glu	Arg	Ile	Leu	Pro	Gln	Ser	Thr	Ser	Val
	370					375					380				
Glu	Glu	Glu	Val	Leu	Lys	Leu	Gln	Gln	Ala	Leu	Ser	Asp	Ala	Glu	Asn
385					390					395					400
Glu	Ile	Met	Arg	Leu	Ser	Asn	Leu	Tyr	Gln	Asp	Asn	Ser	Leu	Thr	Glu
				405					410					415	
Asp	Asn	Leu	Lys	Leu	Lys	Met	His	Val	Glu	Phe	Leu	Glu	Lys	Gln	Lys
			420					425					430		
Ser	Leu	Leu	Ser	Gln	Glu	Lys	Glu	Glu	Leu	Gln	Leu	Ser	Leu	Leu	Lys
		435					440					445			

ES 2 660 414 T3

Leu Asn Asn Glu Tyr Glu Val Ile Lys Ser Thr Ala Val Arg Asp Met
 450 455 460

Asp Met Asp Ser Thr Leu Cys Asp Leu Arg Leu Thr Leu Glu Ala Lys
 465 470 475 480

Asp Gln Glu Leu Asn Gln Ser Leu Thr Glu Lys Glu Ile Leu Val Ala
 485 490 495

Glu Leu Glu Glu Leu Asp Arg Gln Asn Gln Glu Ala Thr Lys His Met
 500 505 510

Ile Leu Ile Lys Asp Gln Leu Ser Lys Gln Gln Ser Glu Gly Glu Thr
 515 520 525

Ile Ile Ser Lys Leu Arg Lys Asp Leu Asn Asp Glu Asn Lys Arg Val
 530 535 540

His Gln Leu Glu Asp Asp Lys Lys Asn Met Thr Lys Glu Leu Asn Val
 545 550 555 560

Gln Lys Glu Lys Leu Val Gln Ser Glu Leu Val Leu Asn Gly Leu His
 565 570 575

Leu Ala Lys Gln Lys Leu Glu Glu Lys Val Glu Asp Leu Val Asp Gln
 580 585 590

Leu Asn Lys Ser Gln Lys Ser Asn Leu Asn Met Gln Lys Glu Asn Phe
 595 600 605

Gly Leu Lys Glu His Ile Lys Gln Asn Glu Glu Glu Leu Ser Arg Val
 610 615 620

Arg Asp Glu Leu Thr Gln Ser Leu Ser Arg Asp Ser Gly Ser Asp Phe
 625 630 635 640

Lys Asp Asp Leu Leu Lys Glu Arg Glu Ala Glu Val Arg Asn Leu Lys
 645 650 655

Gln Asn Leu Ser Glu Ile Glu Gln Leu Asn Asp Ser Leu Asn Lys Val
 660 665 670

Ala Phe Asp Leu Lys Met Glu Asn Glu Lys Leu Val Leu Ala Cys Glu
 675 680 685

Asp Ile Arg His Gln Leu Glu Glu Ser Ile Val Gly Ser Asn Gln Met
 690 695 700

ES 2 660 414 T3

Ser Leu Glu Arg Asn Thr Ile Val Glu Ala Leu Lys Met Glu Lys Gly
705 710 715 720

Gln Leu Glu Ala Glu Leu Ser Arg Ala Asp Gln Arg Leu Leu Glu Glu
725 730 735

Ala Ser Lys Tyr Glu Gln Thr Ile Gln Glu Leu Ser Lys Ala Arg Asp
740 745 750

Leu Arg Thr Ser Ala Leu Gln Leu Glu Gln Gln His Leu Met Lys Leu
755 760 765

Ser Gln Glu Lys Asp Phe Glu Ile Ala Glu Leu Lys Lys Asn Ile Glu
770 775 780

Gln Met Asp Thr Asp His Lys Glu Thr Lys Ala Ile Leu Ser Ser Ile
785 790 795 800

Leu Glu Glu Gln Lys Gln Leu Thr Gln Leu Ile Ser Glu Lys Glu Ile
805 810 815

Phe Ile Glu Lys Leu Lys Glu Arg Ser Ser Glu Leu Gln Glu Glu Leu
820 825 830

Glu Lys Ser Thr Gln Ala Ser Arg Lys Ile Glu Ile Leu Lys Gln Thr
835 840 845

Ile Glu Glu Lys Asp Arg Ser Leu Gly Ser Met Lys Glu Glu Asn Asn
850 855 860

His Leu Lys Glu Glu Leu Glu Arg Leu Arg Glu Gln Gln Ser Arg Ala
865 870 875 880

Val Pro Val Val Glu Pro Lys Pro Leu Asp Ser Val Thr Glu Leu Glu
885 890 895

Ser Glu Val Leu Gln Leu Asn Ile Val Lys Arg Asn Leu Glu Glu Glu
900 905 910

Ile Lys Arg His Gln Lys Ile Ile Glu Asp Gln Asn Gln Ser Lys Met
915 920 925

Gln Leu Leu Gln Ser Leu Glu Glu Gln Lys Lys Glu Met Asp Glu Phe
930 935 940

Lys Cys Gln His Glu Gln Met Asn Val Thr His Thr Gln Leu Phe Leu
945 950 955 960

ES 2 660 414 T3

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

ES 2 660 414 T3

Thr	Asn	Lys	Val	Asn	Glu	Asn	Glu	Leu	Leu	Arg	Gln	Ala	Val	Thr
1430						1435					1440			
Asn	Leu	Lys	Glu	Arg	Val	Leu	Ile	Leu	Glu	Met	Asp	Ile	Gly	Lys
1445						1450					1455			
Leu	Lys	Glu	Glu	Asn	Glu	Lys	Ile	Val	Glu	Arg	Thr	Arg	Glu	Lys
1460						1465					1470			
Glu	Thr	Glu	Tyr	Gln	Ala	Leu	Gln	Glu	Thr	Asn	Met	Lys	Phe	Ser
1475						1480					1485			
Met	Met	Leu	Arg	Glu	Lys	Glu	Phe	Glu	Cys	His	Ser	Met	Lys	Glu
1490						1495					1500			
Lys	Ser	Leu	Ala	Phe	Glu	Gln	Leu	Leu	Lys	Glu	Lys	Glu	Gln	Gly
1505						1510					1515			
Lys	Thr	Gly	Glu	Leu	Asn	Gln	Leu	Leu	Asn	Ala	Val	Lys	Ser	Met
1520						1525					1530			
Gln	Glu	Lys	Thr	Val	Lys	Phe	Gln	Gln	Glu	Arg	Asp	Gln	Val	Met
1535						1540					1545			
Leu	Ala	Leu	Lys	Gln	Lys	Gln	Met	Glu	Asn	Ser	Ala	Leu	Gln	Asn
1550						1555					1560			
Glu	Val	Gln	His	Leu	Arg	Asp	Lys	Glu	Leu	Arg	Leu	Asn	Gln	Glu
1565						1570					1575			
Leu	Glu	Arg	Leu	Arg	Asn	His	Leu	Leu	Glu	Ser	Glu	Asp	Ser	Tyr
1580						1585					1590			
Thr	Arg	Glu	Ala	Leu	Ala	Ala	Glu	Glu	Arg	Glu	Ala	Lys	Leu	Arg
1595						1600					1605			
Arg	Lys	Val	Thr	Val	Leu	Glu	Glu	Lys	Leu	Val	Ser	Ser	Ser	Asn
1610						1615					1620			
Ala	Met	Glu	Asn	Ala	Ser	His	Gln	Ala	Ser	Leu	Gln	Val	Glu	Ser
1625						1630					1635			
Leu	Gln	Glu	Gln	Leu	Asn	Val	Val	Ser	Lys	Gln	Arg	Asp	Glu	Thr
1640						1645					1650			
Ala	Leu	Gln	Leu	Ser	Val	Ser	Arg	Glu	Gln	Val	Lys	Gln	Tyr	Ala
1655						1660					1665			

ES 2 660 414 T3

Leu Ser Leu Ser Asn Leu Gln Met Val Leu Glu His Phe Gln Gln
 1670 1675 1680

 Glu Glu Lys Ala Val Tyr Ser Ala Glu Leu Glu Lys His Lys Gln
 1685 1690 1695

 Leu Val Ala Glu Trp Lys Lys Lys Ala Glu Asn Leu Glu Gly Lys
 1700 1705 1710

 Leu Met Ser Leu Gln Glu Arg Phe Asp Glu Ala Asn Ala Ala Leu
 1715 1720 1725

 Asp Ser Ala Ser Arg Leu Thr Glu Gln Leu Asp Leu Lys Glu Glu
 1730 1735 1740

 Gln Ile Glu Glu Leu Lys Lys Gln Asn Glu Leu Arg Gln Glu Met
 1745 1750 1755

 Leu Asp Asp Val Gln Lys Lys Leu Met Asn Leu Val Asn Ser Thr
 1760 1765 1770

 Glu Gly Lys Val Asp Lys Val Leu Met Arg Asn Leu Phe Ile Gly
 1775 1780 1785

 His Phe His Thr Pro Lys His Gln Arg His Glu Val Leu Arg Leu
 1790 1795 1800

 Met Gly Ser Ile Leu Gly Ile Lys Arg Glu Glu Met Glu Gln Leu
 1805 1810 1815

 Leu His Glu Asp Gln Gly Gly Val Thr Arg Trp Met Thr Gly Trp
 1820 1825 1830

 Leu Gly Gly Gly Ser Lys Ser Val Pro Asn Thr Pro Leu Arg Pro
 1835 1840 1845

 Asn Gln Gln Ser Val Leu Asn Ser Ser Phe Ser Glu Leu Phe Val
 1850 1855 1860

 Lys Phe Leu Glu Thr Glu Ser His Pro Ser Val Pro Pro Pro Lys
 1865 1870 1875

 Leu Ser Val His Asp Met Lys Pro Leu Asp Ser Pro Gly Arg Arg
 1880 1885 1890

 Lys Val Val Ile His Val Ser Glu Ser Phe Lys Glu Thr Thr Glu
 1895 1900 1905

ES 2 660 414 T3

Ser Arg Cys Gly Arg Arg Thr Asp Val Asn Pro Phe Leu Ala Pro
 1910 1915 1920

Arg Ser Ala Ala Val Pro Leu Ile Asn Pro Ala Gly Leu Gly Pro
 1925 1930 1935

Gly Gly Pro Gly His Leu Leu Leu Lys Pro Ile Ser Asp Val Leu
 1940 1945 1950

Pro Thr Phe Thr Pro Leu Pro Val Ser Pro Asp Asn Ser Ala Gly
 1955 1960 1965

Val Val Leu Lys Asp Leu Leu Lys Gln
 1970 1975

<210> 40
 <211> 6452
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> CDS
 <222> (357)..(6296)
 <223>

<400> 40

```

cgagcgagtg tcatggcggc cggcgtcgag ttggcaggag taaccacgg aactgaggaa      60
agtcattaga gctgagaaag aagtggcca atctggacgg tgggaattcg tgggaatgag      120
cagaaggccc tccgtagtga ctgtgtcact agaggcgggc ccctggtaaa attccaggcc      180
aggcctctgc gtttctaggc agaacctgga gtcggccttg cctgagaacc cagctttgtg      240
ttatcgtatc ctgtctcgcg aaggcaggcg ttcaaggata tttggtcggg tgcgccggcg      300
gcgctaaacg ttttcttttt tccgagcggg ccgggtcgtt ctctaaactc gccgcg atg      359
                                     Met
                                     1
tcg tcc tgg ctt ggg ggc ctc ggc tcc gga ttg ggc cag tct ctg ggt      407
Ser Ser Trp Leu Gly Gly Leu Gly Ser Gly Leu Gly Gln Ser Leu Gly
                    5                                10                                15
caa gtc ggg ggc agc ctg gct tcc ctc act ggc cag ata tca aac ttt      455
Gln Val Gly Gly Ser Leu Ala Ser Leu Thr Gly Gln Ile Ser Asn Phe
                    20                                25                                30
aca aag gat atg ctg atg gag ggc acg gag gaa gtg gaa gca gaa tta      503
Thr Lys Asp Met Leu Met Glu Gly Thr Glu Glu Val Glu Ala Glu Leu
                    35                                40                                45
cct gat tct agg aca aag gaa att gaa gcc att cat gca atc ttg aga      551
Pro Asp Ser Arg Thr Lys Glu Ile Glu Ala Ile His Ala Ile Leu Arg
50                                55                                60                                65
    
```

15

ES 2 660 414 T3

tca gag aat gaa agg ctt aag aaa ctt tgt act gat cta gaa gag aaa	599
Ser Glu Asn Glu Arg Leu Lys Lys Leu Cys Thr Asp Leu Glu Glu Lys	
70 75 80	
cat gaa gca tca gag att caa ata aag cag caa tct aca agt tac cga	647
His Glu Ala Ser Glu Ile Gln Ile Lys Gln Gln Ser Thr Ser Tyr Arg	
85 90 95	
aat caa ctt caa caa aaa gag gta gaa atc agc cat ctt aaa gcc aga	695
Asn Gln Leu Gln Gln Lys Glu Val Glu Ile Ser His Leu Lys Ala Arg	
100 105 110	
cag att gca ctc cag gat cag ttg ctg aaa ctg cag tca gct gct cag	743
Gln Ile Ala Leu Gln Asp Gln Leu Leu Lys Leu Gln Ser Ala Ala Gln	
115 120 125	
tca gta cct tca gga gct ggt gta cca gca acc act gca tca tct tca	791
Ser Val Pro Ser Gly Ala Gly Val Pro Ala Thr Thr Ala Ser Ser Ser	
130 135 140 145	
ttc gct tat ggg att agt cat cat cct tca gct ttc cat gac gat gac	839
Phe Ala Tyr Gly Ile Ser His His Pro Ser Ala Phe His Asp Asp Asp	
150 155 160	
atg gac ttt ggt gat ata att tca tcc caa caa gaa ata aac cga ctc	887
Met Asp Phe Gly Asp Ile Ile Ser Ser Gln Gln Glu Ile Asn Arg Leu	
165 170 175	
tca aat gaa gtt tca aga ctt gag tct gaa gtt ggc cat tgg agg cat	935
Ser Asn Glu Val Ser Arg Leu Glu Ser Glu Val Gly His Trp Arg His	
180 185 190	
att gct cag act tcc aaa gca caa gga aca gat aac tct gat caa agt	983
Ile Ala Gln Thr Ser Lys Ala Gln Gly Thr Asp Asn Ser Asp Gln Ser	
195 200 205	
gaa ata tgt aaa cta caa aat atc att aag gaa cta aaa cag aac cga	1031
Glu Ile Cys Lys Leu Gln Asn Ile Ile Lys Glu Leu Lys Gln Asn Arg	
210 215 220 225	
agt cag gaa att gat gac cat caa cat gaa atg tca gta ctg cag aat	1079
Ser Gln Glu Ile Asp Asp His Gln His Glu Met Ser Val Leu Gln Asn	
230 235 240	
gca cac caa cag aaa ttg aca gaa ata agt cga cga cat cga gaa gaa	1127
Ala His Gln Gln Lys Leu Thr Glu Ile Ser Arg Arg His Arg Glu Glu	
245 250 255	
tta agt gac tat gaa gaa cga att gaa gaa ctt gaa aat ctg tta caa	1175
Leu Ser Asp Tyr Glu Glu Arg Ile Glu Glu Leu Glu Asn Leu Leu Gln	
260 265 270	
caa ggt ggc tct gga gtt ata gaa act gat ctc tct aaa atc tat gag	1223
Gln Gly Gly Ser Gly Val Ile Glu Thr Asp Leu Ser Lys Ile Tyr Glu	
275 280 285	
atg caa aaa act att caa gtt cta caa ata gaa aaa gtg gag tct acc	1271
Met Gln Lys Thr Ile Gln Val Leu Gln Ile Glu Lys Val Glu Ser Thr	
290 295 300 305	
aaa aaa atg gaa caa ctt gag gat aaa ata aaa gat ata aat aaa aaa	1319
Lys Lys Met Glu Gln Leu Glu Asp Lys Ile Lys Asp Ile Asn Lys Lys	
310 315 320	

ES 2 660 414 T3

tta tct tct gca gaa aat gac aga gat att ttg agg agg gaa caa gaa	1367
Leu Ser Ser Ala Glu Asn Asp Arg Asp Ile Leu Arg Arg Glu Gln Glu	
325 330 335	
cag cta aat gtg gaa aag aga caa ata atg gaa gaa tgt gaa aac ttg	1415
Gln Leu Asn Val Glu Lys Arg Gln Ile Met Glu Glu Cys Glu Asn Leu	
340 345 350	
aaa ttg gaa tgt agt aaa ttg cag cct tct gct gtg aag caa agt gat	1463
Lys Leu Glu Cys Ser Lys Leu Gln Pro Ser Ala Val Lys Gln Ser Asp	
355 360 365	
act atg aca gaa aag gaa aga att ctt gcc cag agt gca tca gtg gaa	1511
Thr Met Thr Glu Lys Glu Arg Ile Leu Ala Gln Ser Ala Ser Val Glu	
370 375 380 385	
gaa gtg ttc aga cta caa caa gca ctg tct gat gcc gaa aat gaa ata	1559
Glu Val Phe Arg Leu Gln Gln Ala Leu Ser Asp Ala Glu Asn Glu Ile	
390 395 400	
atg aga ttg agt agt tta aac cag gat aac agt ctt gct gaa gac aat	1607
Met Arg Leu Ser Ser Leu Asn Gln Asp Asn Ser Leu Ala Glu Asp Asn	
405 410 415	
ctg aaa ctt aaa atg cgt atc gaa gtt tta gaa aaa gag aag tca tta	1655
Leu Lys Leu Lys Met Arg Ile Glu Val Leu Glu Lys Glu Lys Ser Leu	
420 425 430	
ctg agt caa gaa aag gaa gaa ctt cag atg tca ctt tta aaa ttg aac	1703
Leu Ser Gln Glu Lys Glu Glu Leu Gln Met Ser Leu Leu Lys Leu Asn	
435 440 445	
aat gaa tat gaa gta att aaa agt aca gct aca aga gac ata agt ttg	1751
Asn Glu Tyr Glu Val Ile Lys Ser Thr Ala Thr Arg Asp Ile Ser Leu	
450 455 460 465	
gat tca gaa tta cat gac tta aga ctt aat ttg gag gca aag gaa caa	1799
Asp Ser Glu Leu His Asp Leu Arg Leu Asn Leu Glu Ala Lys Glu Gln	
470 475 480	
gaa ctc aat cag agt att agt gaa aag gaa aca ctg ata gct gag ata	1847
Glu Leu Asn Gln Ser Ile Ser Glu Lys Glu Thr Leu Ile Ala Glu Ile	
485 490 495	
gaa gaa ttg gac aga cag aat caa gaa gct aca aag cac atg att ttg	1895
Glu Glu Leu Asp Arg Gln Asn Gln Glu Ala Thr Lys His Met Ile Leu	
500 505 510	
ata aaa gat cag cta tca aaa caa caa aat gaa gga gat agc atc atc	1943
Ile Lys Asp Gln Leu Ser Lys Gln Gln Asn Glu Gly Asp Ser Ile Ile	
515 520 525	
agt aaa ctg aaa caa gat cta aat gat gaa aaa aag aga gtt cat caa	1991
Ser Lys Leu Lys Gln Asp Leu Asn Asp Glu Lys Lys Arg Val His Gln	
530 535 540 545	
ctt gaa gat gat aaa atg gac att act aaa gag tta gat gta cag aaa	2039
Leu Glu Asp Asp Lys Met Asp Ile Thr Lys Glu Leu Asp Val Gln Lys	
550 555 560	
gaa aag cta att caa agt gaa gtg gcc cta aat gat tta cat tta acc	2087
Glu Lys Leu Ile Gln Ser Glu Val Ala Leu Asn Asp Leu His Leu Thr	

ES 2 660 414 T3

			565					570					575				
aag	cag	aaa	ctt	gag	gac	aaa	gta	gaa	aat	tta	gta	gat	cag	cta	aat		2135
Lys	Gln	Lys	Leu	Glu	Asp	Lys	Val	Glu	Asn	Leu	Val	Asp	Gln	Leu	Asn		
		580					585					590					
aaa	tca	caa	gaa	agt	aat	gta	agc	atc	cag	aag	gag	aat	tta	gaa	ctt		2183
Lys	Ser	Gln	Glu	Ser	Asn	Val	Ser	Ile	Gln	Lys	Glu	Asn	Leu	Glu	Leu		
	595					600					605						
aag	gag	cat	att	aga	caa	aat	gag	gag	gag	ctt	tct	aga	ata	agg	aat		2231
Lys	Glu	His	Ile	Arg	Gln	Asn	Glu	Glu	Glu	Leu	Ser	Arg	Ile	Arg	Asn		
610					615					620					625		
gag	tta	atg	cag	tct	cta	aat	caa	gac	tct	aat	agt	aat	ttt	aag	gat		2279
Glu	Leu	Met	Gln	Ser	Leu	Asn	Gln	Asp	Ser	Asn	Ser	Asn	Phe	Lys	Asp		
				630					635					640			
acc	tta	ctt	aaa	gaa	aga	gaa	gct	gaa	gtt	aga	aac	tta	aag	caa	aat		2327
Thr	Leu	Leu	Lys	Glu	Arg	Glu	Ala	Glu	Val	Arg	Asn	Leu	Lys	Gln	Asn		
			645					650						655			
ctt	tca	gaa	tta	gaa	cag	ctc	aat	gaa	aat	tta	aag	aaa	gtt	gct	ttt		2375
Leu	Ser	Glu	Leu	Glu	Gln	Leu	Asn	Glu	Asn	Leu	Lys	Lys	Val	Ala	Phe		
		660					665					670					
gat	gtc	aaa	atg	gaa	aat	gaa	aag	tta	gtt	tta	gca	tgt	gaa	gat	gtg		2423
Asp	Val	Lys	Met	Glu	Asn	Glu	Lys	Leu	Val	Leu	Ala	Cys	Glu	Asp	Val		
	675					680						685					
agg	cat	cag	tta	gaa	gaa	tgt	ctt	gct	ggt	aac	aat	cag	ctt	tct	ctg		2471
Arg	His	Gln	Leu	Glu	Glu	Cys	Leu	Ala	Gly	Asn	Asn	Gln	Leu	Ser	Leu		
690					695					700					705		
gaa	aaa	aac	act	att	gtg	gag	act	cta	aaa	atg	gaa	aaa	gga	gag	ata		2519
Glu	Lys	Asn	Thr	Ile	Val	Glu	Thr	Leu	Lys	Met	Glu	Lys	Gly	Glu	Ile		
			710						715					720			
gag	gca	gaa	ttg	tgt	tgg	gct	aaa	aag	agg	ctg	ttg	gaa	gaa	gca	aac		2567
Glu	Ala	Glu	Leu	Cys	Trp	Ala	Lys	Lys	Arg	Leu	Leu	Glu	Glu	Ala	Asn		
			725					730						735			
aag	tat	gag	aaa	acc	att	gaa	gaa	ctg	tca	aat	gca	cgt	aat	ttg	aat		2615
Lys	Tyr	Glu	Lys	Thr	Ile	Glu	Glu	Leu	Ser	Asn	Ala	Arg	Asn	Leu	Asn		
		740					745					750					
acc	tct	gcc	tta	cag	ctg	gaa	cat	gag	cat	tta	att	aaa	ctc	aat	caa		2663
Thr	Ser	Ala	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Glu	His	Leu	Ile	Lys	Leu	Asn	Gln		
	755					760						765					
aag	aaa	gac	atg	gaa	ata	gca	gaa	ctc	aaa	aag	aat	att	gaa	caa	atg		2711
Lys	Lys	Asp	Met	Glu	Ile	Ala	Glu	Leu	Lys	Lys	Asn	Ile	Glu	Gln	Met		
770					775						780				785		
gat	act	gac	cat	aaa	gaa	act	aag	gac	gtt	ttg	tca	tct	agt	tta	gaa		2759
Asp	Thr	Asp	His	Lys	Glu	Thr	Lys	Asp	Val	Leu	Ser	Ser	Ser	Leu	Glu		
			790						795					800			
gag	cag	aag	cag	ttg	aca	caa	ctt	ata	aac	aag	aaa	gaa	att	ttt	att		2807
Glu	Gln	Lys	Gln	Leu	Thr	Gln	Leu	Ile	Asn	Lys	Lys	Glu	Ile	Phe	Ile		
			805					810						815			
gaa	aag	ctt	aaa	gaa	aga	agt	tca	aag	ctg	cag	gag	gaa	ttg	gat	aaa		2855

ES 2 660 414 T3

Glu Lys Leu Lys Glu Arg Ser Ser Lys Leu Gln Glu Glu Leu Asp Lys	
820	825 830
tat tct cag gcc tta aga aaa aat gaa att tta aga cag acc ata gag	2903
Tyr Ser Gln Ala Leu Arg Lys Asn Glu Ile Leu Arg Gln Thr Ile Glu	
835	840 845
gaa aaa gac cga agt ctt gga tcc atg aaa gag gaa aat aat cat ctg	2951
Glu Lys Asp Arg Ser Leu Gly Ser Met Lys Glu Glu Asn Asn His Leu	
850	855 860 865
caa gaa gaa ttg gaa cga ctc agg gaa gag cag agt cga acc gca cct	2999
Gln Glu Glu Leu Glu Arg Leu Arg Glu Glu Gln Ser Arg Thr Ala Pro	
870	875 880
gtg gct gac cct aaa acc ctt gat agt gtt act gaa cta gca tct gag	3047
Val Ala Asp Pro Lys Thr Leu Asp Ser Val Thr Glu Leu Ala Ser Glu	
885	890 895
gta tct caa ctg aac acg atc aag gaa cat ctt gaa gag gaa att aaa	3095
Val Ser Gln Leu Asn Thr Ile Lys Glu His Leu Glu Glu Glu Ile Lys	
900	905 910
cat cat caa aag ata att gaa gat caa aac cag agt aag atg caa cta	3143
His His Gln Lys Ile Ile Glu Asp Gln Asn Gln Ser Lys Met Gln Leu	
915	920 925
ctt cag tct tta caa gag caa aag aag gaa atg gat gag ttt aga tac	3191
Leu Gln Ser Leu Gln Glu Gln Lys Lys Glu Met Asp Glu Phe Arg Tyr	
930	935 940 945
cag cat gag caa atg aac gcc aca cac acc cag ctc ttt tta gag aag	3239
Gln His Glu Gln Met Asn Ala Thr His Thr Gln Leu Phe Leu Glu Lys	
950	955 960
gat gag gaa att aag agt ttg caa aaa aca att gaa caa atc aaa acc	3287
Asp Glu Glu Ile Lys Ser Leu Gln Lys Thr Ile Glu Gln Ile Lys Thr	
965	970 975
cag ttg cat gaa gaa aga cag gac att caa aca gat aac tct gat att	3335
Gln Leu His Glu Glu Arg Gln Asp Ile Gln Thr Asp Asn Ser Asp Ile	
980	985 990
ttt caa gaa aca aaa gtt cag agc ctt aat ata gaa aat gga agt gaa	3383
Phe Gln Glu Thr Lys Val Gln Ser Leu Asn Ile Glu Asn Gly Ser Glu	
995	1000 1005
aag cat gat tta tct aaa gct gaa acg gaa aga tta gtg aaa gga	3428
Lys His Asp Leu Ser Lys Ala Glu Thr Glu Arg Leu Val Lys Gly	
1010	1015 1020
ata aaa gag cga gaa ctg gag att aaa ctt cta aat gaa aag aat	3473
Ile Lys Glu Arg Glu Leu Glu Ile Lys Leu Leu Asn Glu Lys Asn	
1025	1030 1035
ata tct tta act aaa cag att gat cag ttg tcc aaa gat gaa gtt	3518
Ile Ser Leu Thr Lys Gln Ile Asp Gln Leu Ser Lys Asp Glu Val	
1040	1045 1050
ggt aaa cta act cag att att cag cag aaa gat ttg gag ata caa	3563
Gly Lys Leu Thr Gln Ile Ile Gln Gln Lys Asp Leu Glu Ile Gln	
1055	1060 1065

ES 2 660 414 T3

gct Ala 1070	ctt Leu	cat His	gct Ala	aga Arg	att Ile 1075	tct Ser	tca Ser	act Thr	tcc Ser	cat His 1080	act Thr	caa Gln	gat Asp	gtt Val	3608
gtt Val 1085	tac Tyr	ctt Leu	caa Gln	cag Gln	caa Gln 1090	ctg Leu	cag Gln	gct Ala	tat Tyr	gct Ala 1095	atg Met	gaa Glu	aga Arg	gaa Glu	3653
aag Lys 1100	gta Val	ttt Phe	gct Ala	ggt Val	ttg Leu 1105	aat Asn	gag Glu	aag Lys	act Thr	agg Arg 1110	gaa Glu	aat Asn	agc Ser	cat His	3698
cta Leu 1115	aaa Lys	aca Thr	gaa Glu	tat Tyr	cac His 1120	aaa Lys	atg Met	atg Met	gat Asp	att Ile 1125	gtt Val	gct Ala	gcc Ala	aag Lys	3743
gaa Glu 1130	gca Ala	gct Ala	ctt Leu	atc Ile	aaa Lys 1135	ctg Leu	caa Gln	gat Asp	gaa Glu	aat Asn 1140	aaa Lys	aaa Lys	ttg Leu	tcc Ser	3788
act Thr 1145	aga Arg	ttt Phe	gaa Glu	agt Ser	agt Ser 1150	ggc Gly	caa Gln	gat Asp	atg Met	ttt Phe 1155	aga Arg	gaa Glu	act Thr	att Ile	3833
cag Gln 1160	aat Asn	tta Leu	tca Ser	cgt Arg	atc Ile 1165	att Ile	cga Arg	gaa Glu	aaa Lys	gac Asp 1170	atc Ile	gaa Glu	ata Ile	gat Asp	3878
gca Ala 1175	cta Leu	agt Ser	cag Gln	aaa Lys	tgt Cys 1180	cag Gln	act Thr	tta Leu	ttg Leu	gca Ala 1185	gtt Val	tta Leu	caa Gln	aca Thr	3923
tcc Ser 1190	agc Ser	act Thr	ggt Gly	aat Asn	gag Glu 1195	gct Ala	gga Gly	ggt Gly	gtt Val	aat Asn 1200	agt Ser	cat His	caa Gln	ttt Phe	3968
gag Glu 1205	gag Glu	ctt Leu	cta Leu	cag Gln	gaa Glu 1210	cgt Arg	gac Asp	aag Lys	tta Leu	aaa Lys 1215	cag Gln	caa Gln	gta Val	aag Lys	4013
aaa Lys 1220	atg Met	gaa Glu	gag Glu	tgg Trp	aag Lys 1225	cag Gln	cag Gln	gtg Val	atg Met	acc Thr 1230	aca Thr	gta Val	caa Gln	aat Asn	4058
atg Met 1235	caa Gln	cac His	gag Glu	tca Ser	gcc Ala 1240	cag Gln	ctt Leu	cag Gln	gaa Glu	gag Glu 1245	ctt Leu	cac His	caa Gln	ctt Leu	4103
caa Gln 1250	gca Ala	cag Gln	ggt Val	ttg Leu	ggt Val 1255	gac Asp	agt Ser	gat Asp	aat Asn	aat Asn 1260	tct Ser	aaa Lys	tta Leu	caa Gln	4148
gtg Val 1265	gac Asp	tat Tyr	act Thr	ggc Gly	ctg Leu 1270	atc Ile	caa Gln	agt Ser	tat Tyr	gag Glu 1275	cag Gln	aat Asn	gaa Glu	acc Thr	4193
aaa Lys 1280	ctc Leu	aaa Lys	aat Asn	ttt Phe	ggg Gly 1285	cag Gln	gaa Glu	tta Leu	gca Ala	caa Gln 1290	gtt Val	cag Gln	cac His	agc Ser	4238
att Ile 1295	ggg Gly	cag Gln	ctt Leu	tgc Cys	aat Asn 1300	acc Thr	aag Lys	gat Asp	ctt Leu	ctt Leu 1305	tta Leu	gga Gly	aaa Lys	ctt Leu	4283

ES 2 660 414 T3

gat Asp 1310	att Ile	att Ile	tca Ser	ccc Pro	cag Gln 1315	ctg Leu	tct Ser	tct Ser	gca Ala	tca Ser 1320	ttg Leu	ctt Leu	act Thr	ccc Pro	4328
cag Gln 1325	tct Ser	gca Ala	gag Glu	tgt Cys	ctt Leu 1330	aga Arg	gca Ala	agt Ser	aag Lys	tct Ser 1335	gaa Glu	gta Val	ttg Leu	agt Ser	4373
gaa Glu 1340	tct Ser	tct Ser	gaa Glu	ttg Leu	ctt Leu 1345	cag Gln	caa Gln	gag Glu	tta Leu	gaa Glu 1350	gag Glu	cta Leu	aga Arg	aaa Lys	4418
tca Ser 1355	cta Leu	cag Gln	gaa Glu	aaa Lys	gat Asp 1360	gca Ala	aca Thr	att Ile	aga Arg	act Thr 1365	ctc Leu	cag Gln	gaa Glu	aat Asn	4463
aac Asn 1370	cac His	aga Arg	ttg Leu	tct Ser	gat Asp 1375	tcg Ser	att Ile	gct Ala	gcc Ala	acc Thr 1380	tca Ser	gag Glu	cta Leu	gaa Glu	4508
aga Arg 1385	aaa Lys	gaa Glu	cac His	gaa Glu	caa Gln 1390	acc Thr	gat Asp	tca Ser	gaa Glu	atc Ile 1395	aag Lys	cag Gln	cta Leu	aag Lys	4553
gag Glu 1400	aaa Lys	caa Gln	gat Asp	gtt Val	ttg Leu 1405	caa Gln	aag Lys	tta Leu	ctt Leu	aag Lys 1410	gaa Glu	aaa Lys	gac Asp	ctc Leu	4598
tta Leu 1415	atc Ile	aaa Lys	gcc Ala	aaa Lys	agt Ser 1420	gat Asp	caa Gln	cta Leu	ctt Leu	tct Ser 1425	tcc Ser	aat Asn	gaa Glu	aat Asn	4643
ttc Phe 1430	act Thr	aac Asn	aaa Lys	gta Val	aat Asn 1435	gaa Glu	aac Asn	gaa Glu	ctt Leu	ttg Leu 1440	agg Arg	cag Gln	gca Ala	gta Val	4688
aca Thr 1445	aac Asn	ctg Leu	aag Lys	gag Glu	aga Arg 1450	ata Ile	tta Leu	att Ile	cta Leu	gag Glu 1455	atg Met	gac Asp	att Ile	ggc Gly	4733
aaa Lys 1460	cta Leu	aaa Lys	gga Gly	gaa Glu	aat Asn 1465	gaa Glu	aaa Lys	ata Ile	gtg Val	gaa Glu 1470	aca Thr	tac Tyr	agg Arg	gga Gly	4778
aag Lys 1475	gaa Glu	aca Thr	gaa Glu	tat Tyr	caa Gln 1480	gcg Ala	tta Leu	caa Gln	gag Glu	act Thr 1485	aac Asn	atg Met	aag Lys	ttt Phe	4823
tct Ser 1490	atg Met	atg Met	ctg Leu	cga Arg	gaa Glu 1495	aaa Lys	gag Glu	ttt Phe	gag Glu	tgc Cys 1500	cac His	tca Ser	atg Met	aag Lys	4868
gag Glu 1505	aag Lys	gct Ala	ctt Leu	gct Ala	ttt Phe 1510	gaa Glu	cag Gln	cta Leu	ttg Leu	aaa Lys 1515	gag Glu	aaa Lys	gaa Glu	cag Gln	4913
ggc Gly 1520	aag Lys	act Thr	gga Gly	gag Glu	tta Leu 1525	aat Asn	cag Gln	ctt Leu	tta Leu	aat Asn 1530	gca Ala	gtt Val	aaa Lys	tca Ser	4958
atg Met	cag Gln	gag Glu	aag Lys	aca Thr	gtt Val	gtg Val	ttt Phe	caa Gln	cag Gln	gag Glu	aga Arg	gac Asp	caa Gln	gtc Val	5003

ES 2 660 414 T3

Ser	Glu	Gly	Lys	Val	Asp	Lys	Val	Leu	Met	Arg	Asn	Leu	Phe	Ile		
1775					1780					1785						
ggt	cat	ttc	cac	aca	ccg	aaa	aat	cag	cgt	cat	gaa	gtg	tta	cg		5768
Gly	His	Phe	His	Thr	Pro	Lys	Asn	Gln	Arg	His	Glu	Val	Leu	Arg		
1790					1795					1800						
tta	atg	ggg	agc	atc	ctg	ggc	gtc	aga	agg	gag	gag	atg	gag	cag		5813
Leu	Met	Gly	Ser	Ile	Leu	Gly	Val	Arg	Arg	Glu	Glu	Met	Glu	Gln		
1805					1810					1815						
ttg	ttt	cat	gac	gat	cag	ggc	agt	ggt	acc	agg	tgg	atg	act	ggg		5858
Leu	Phe	His	Asp	Asp	Gln	Gly	Ser	Val	Thr	Arg	Trp	Met	Thr	Gly		
1820					1825					1830						
tgg	ctt	gga	gga	gga	tca	aaa	agt	ggt	ccc	aac	aca	cct	ttg	aga		5903
Trp	Leu	Gly	Gly	Gly	Ser	Lys	Ser	Val	Pro	Asn	Thr	Pro	Leu	Arg		
1835					1840					1845						
cca	aat	cag	caa	tct	gtg	ggt	aat	agt	tct	ttt	tca	gaa	ctt	ttt		5948
Pro	Asn	Gln	Gln	Ser	Val	Val	Asn	Ser	Ser	Phe	Ser	Glu	Leu	Phe		
1850					1855					1860						
ggt	aaa	ttt	cta	gaa	aca	gaa	tct	cat	cca	tcc	att	cca	cca	cca		5993
Val	Lys	Phe	Leu	Glu	Thr	Glu	Ser	His	Pro	Ser	Ile	Pro	Pro	Pro		
1865					1870					1875						
aag	ctt	tct	ggt	cat	gat	atg	aaa	cct	ctg	gat	tca	cca	gga	aga		6038
Lys	Leu	Ser	Val	His	Asp	Met	Lys	Pro	Leu	Asp	Ser	Pro	Gly	Arg		
1880					1885					1890						
aga	aaa	aga	gat	aca	aat	gca	cca	gaa	agt	ttt	aaa	gat	aca	gca		6083
Arg	Lys	Arg	Asp	Thr	Asn	Ala	Pro	Glu	Ser	Phe	Lys	Asp	Thr	Ala		
1895					1900					1905						
gaa	tcc	agg	tct	ggt	aga	aga	aca	gat	gta	aat	ccg	ttt	ttg	gct		6128
Glu	Ser	Arg	Ser	Gly	Arg	Arg	Thr	Asp	Val	Asn	Pro	Phe	Leu	Ala		
1910					1915					1920						
cct	cgc	tcg	gca	gct	gta	cct	ctt	att	aac	cca	gct	gga	ctt	gga		6173
Pro	Arg	Ser	Ala	Ala	Val	Pro	Leu	Ile	Asn	Pro	Ala	Gly	Leu	Gly		
1925					1930					1935						
cct	ggt	ggg	ccc	ggg	cat	ctt	ctt	ctg	aaa	ccc	atc	tca	gat	ggt		6218
Pro	Gly	Gly	Pro	Gly	His	Leu	Leu	Leu	Lys	Pro	Ile	Ser	Asp	Val		
1940					1945					1950						
ttg	ccc	aca	ttt	aca	cct	ttg	cca	gcg	tta	cct	gac	aac	agt	gct		6263
Leu	Pro	Thr	Phe	Thr	Pro	Leu	Pro	Ala	Leu	Pro	Asp	Asn	Ser	Ala		
1955					1960					1965						
ggg	ggt	gtg	ctg	aaa	gac	ctt	tta	aag	caa	tag	atgattctca					6306
Gly	Val	Val	Leu	Lys	Asp	Leu	Leu	Lys	Gln							
1970					1975											
agccagagac	aatctagcac	tttaaagaaa	ccatgaacac	tatatgtatg	tactttatca											6366
caaagtggcc	tttggggaga	aagtcatgta	tttgttcgca	attatgcttt	ctctgaattt											6426
aataaaaata	ttcctaatagc	ttttag														6452

ES 2 660 414 T3

<210> 41
 <211> 1979
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 41

Met Ser Ser Trp Leu Gly Gly Leu Gly Ser Gly Leu Gly Gln Ser Leu
 1 5 10 15

Gly Gln Val Gly Gly Ser Leu Ala Ser Leu Thr Gly Gln Ile Ser Asn
 20 25 30

Phe Thr Lys Asp Met Leu Met Glu Gly Thr Glu Glu Val Glu Ala Glu
 35 40 45

Leu Pro Asp Ser Arg Thr Lys Glu Ile Glu Ala Ile His Ala Ile Leu
 50 55 60

Arg Ser Glu Asn Glu Arg Leu Lys Lys Leu Cys Thr Asp Leu Glu Glu
 65 70 75 80

Lys His Glu Ala Ser Glu Ile Gln Ile Lys Gln Gln Ser Thr Ser Tyr
 85 90 95

Arg Asn Gln Leu Gln Gln Lys Glu Val Glu Ile Ser His Leu Lys Ala
 100 105 110

Arg Gln Ile Ala Leu Gln Asp Gln Leu Leu Lys Leu Gln Ser Ala Ala
 115 120 125

Gln Ser Val Pro Ser Gly Ala Gly Val Pro Ala Thr Thr Ala Ser Ser
 130 135 140

Ser Phe Ala Tyr Gly Ile Ser His His Pro Ser Ala Phe His Asp Asp
 145 150 155 160

Asp Met Asp Phe Gly Asp Ile Ile Ser Ser Gln Gln Glu Ile Asn Arg
 165 170 175

Leu Ser Asn Glu Val Ser Arg Leu Glu Ser Glu Val Gly His Trp Arg
 180 185 190

His Ile Ala Gln Thr Ser Lys Ala Gln Gly Thr Asp Asn Ser Asp Gln
 195 200 205

Ser Glu Ile Cys Lys Leu Gln Asn Ile Ile Lys Glu Leu Lys Gln Asn
 210 215 220

Arg Ser Gln Glu Ile Asp Asp His Gln His Glu Met Ser Val Leu Gln

ES 2 660 414 T3

Gln Glu Leu Asn Gln Ser Ile Ser Glu Lys Glu Thr Leu Ile Ala Glu
485 490 495

Ile Glu Glu Leu Asp Arg Gln Asn Gln Glu Ala Thr Lys His Met Ile
500 505 510

Leu Ile Lys Asp Gln Leu Ser Lys Gln Gln Asn Glu Gly Asp Ser Ile
515 520 525

Ile Ser Lys Leu Lys Gln Asp Leu Asn Asp Glu Lys Lys Arg Val His
530 535 540

Gln Leu Glu Asp Asp Lys Met Asp Ile Thr Lys Glu Leu Asp Val Gln
545 550 555 560

Lys Glu Lys Leu Ile Gln Ser Glu Val Ala Leu Asn Asp Leu His Leu
565 570 575

Thr Lys Gln Lys Leu Glu Asp Lys Val Glu Asn Leu Val Asp Gln Leu
580 585 590

Asn Lys Ser Gln Glu Ser Asn Val Ser Ile Gln Lys Glu Asn Leu Glu
595 600 605

Leu Lys Glu His Ile Arg Gln Asn Glu Glu Glu Leu Ser Arg Ile Arg
610 615 620

Asn Glu Leu Met Gln Ser Leu Asn Gln Asp Ser Asn Ser Asn Phe Lys
625 630 635 640

Asp Thr Leu Leu Lys Glu Arg Glu Ala Glu Val Arg Asn Leu Lys Gln
645 650 655

Asn Leu Ser Glu Leu Glu Gln Leu Asn Glu Asn Leu Lys Lys Val Ala
660 665 670

Phe Asp Val Lys Met Glu Asn Glu Lys Leu Val Leu Ala Cys Glu Asp
675 680 685

Val Arg His Gln Leu Glu Glu Cys Leu Ala Gly Asn Asn Gln Leu Ser
690 695 700

Leu Glu Lys Asn Thr Ile Val Glu Thr Leu Lys Met Glu Lys Gly Glu
705 710 715 720

Ile Glu Ala Glu Leu Cys Trp Ala Lys Lys Arg Leu Leu Glu Glu Ala
725 730 735

ES 2 660 414 T3

Asn Lys Tyr Glu Lys Thr Ile Glu Glu Leu Ser Asn Ala Arg Asn Leu
 740 745 750

Asn Thr Ser Ala Leu Gln Leu Glu His Glu His Leu Ile Lys Leu Asn
 755 760 765

Gln Lys Lys Asp Met Glu Ile Ala Glu Leu Lys Lys Asn Ile Glu Gln
 770 775 780

Met Asp Thr Asp His Lys Glu Thr Lys Asp Val Leu Ser Ser Ser Leu
 785 790 795 800

Glu Glu Gln Lys Gln Leu Thr Gln Leu Ile Asn Lys Lys Glu Ile Phe
 805 810 815

Ile Glu Lys Leu Lys Glu Arg Ser Ser Lys Leu Gln Glu Glu Leu Asp
 820 825 830

Lys Tyr Ser Gln Ala Leu Arg Lys Asn Glu Ile Leu Arg Gln Thr Ile
 835 840 845

Glu Glu Lys Asp Arg Ser Leu Gly Ser Met Lys Glu Glu Asn Asn His
 850 855 860

Leu Gln Glu Glu Leu Glu Arg Leu Arg Glu Glu Gln Ser Arg Thr Ala
 865 870 875 880

Pro Val Ala Asp Pro Lys Thr Leu Asp Ser Val Thr Glu Leu Ala Ser
 885 890 895

Glu Val Ser Gln Leu Asn Thr Ile Lys Glu His Leu Glu Glu Glu Ile
 900 905 910

Lys His His Gln Lys Ile Ile Glu Asp Gln Asn Gln Ser Lys Met Gln
 915 920 925

Leu Leu Gln Ser Leu Gln Glu Gln Lys Lys Glu Met Asp Glu Phe Arg
 930 935 940

Tyr Gln His Glu Gln Met Asn Ala Thr His Thr Gln Leu Phe Leu Glu
 945 950 955 960

Lys Asp Glu Glu Ile Lys Ser Leu Gln Lys Thr Ile Glu Gln Ile Lys
 965 970 975

Thr Gln Leu His Glu Glu Arg Gln Asp Ile Gln Thr Asp Asn Ser Asp
 980 985 990

ES 2 660 414 T3

Ile Phe Gln Glu Thr Lys Val Gln Ser Leu Asn Ile Glu Asn Gly Ser
 995 1000 1005

Glu Lys His Asp Leu Ser Lys Ala Glu Thr Glu Arg Leu Val Lys
 1010 1015 1020

Gly Ile Lys Glu Arg Glu Leu Glu Ile Lys Leu Leu Asn Glu Lys
 1025 1030 1035

Asn Ile Ser Leu Thr Lys Gln Ile Asp Gln Leu Ser Lys Asp Glu
 1040 1045 1050

Val Gly Lys Leu Thr Gln Ile Ile Gln Gln Lys Asp Leu Glu Ile
 1055 1060 1065

Gln Ala Leu His Ala Arg Ile Ser Ser Thr Ser His Thr Gln Asp
 1070 1075 1080

Val Val Tyr Leu Gln Gln Gln Leu Gln Ala Tyr Ala Met Glu Arg
 1085 1090 1095

Glu Lys Val Phe Ala Val Leu Asn Glu Lys Thr Arg Glu Asn Ser
 1100 1105 1110

His Leu Lys Thr Glu Tyr His Lys Met Met Asp Ile Val Ala Ala
 1115 1120 1125

Lys Glu Ala Ala Leu Ile Lys Leu Gln Asp Glu Asn Lys Lys Leu
 1130 1135 1140

Ser Thr Arg Phe Glu Ser Ser Gly Gln Asp Met Phe Arg Glu Thr
 1145 1150 1155

Ile Gln Asn Leu Ser Arg Ile Ile Arg Glu Lys Asp Ile Glu Ile
 1160 1165 1170

Asp Ala Leu Ser Gln Lys Cys Gln Thr Leu Leu Ala Val Leu Gln
 1175 1180 1185

Thr Ser Ser Thr Gly Asn Glu Ala Gly Gly Val Asn Ser His Gln
 1190 1195 1200

Phe Glu Glu Leu Leu Gln Glu Arg Asp Lys Leu Lys Gln Gln Val
 1205 1210 1215

Lys Lys Met Glu Glu Trp Lys Gln Gln Val Met Thr Thr Val Gln

ES 2 660 414 T3

1220						1225						1230			
Asn Met	Gln His	Glu Ser	Ala	Gln Leu	Gln Glu	Glu	Leu His	Gln							
1235			1240			1245									
Leu Gln	Ala Gln	Val Leu	Val	Asp Ser	Asp Asn	Asn	Ser Lys	Leu							
1250			1255			1260									
Gln Val	Asp Tyr	Thr Gly	Leu	Ile Gln	Ser Tyr	Glu	Gln Asn	Glu							
1265			1270			1275									
Thr Lys	Leu Lys	Asn Phe	Gly	Gln Glu	Leu Ala	Gln	Val Gln	His							
1280			1285			1290									
Ser Ile	Gly Gln	Leu Cys	Asn	Thr Lys	Asp Leu	Leu	Leu Gly	Lys							
1295			1300			1305									
Leu Asp	Ile Ile	Ser Pro	Gln	Leu Ser	Ser Ala	Ser	Leu Leu	Thr							
1310			1315			1320									
Pro Gln	Ser Ala	Glu Cys	Leu	Arg Ala	Ser Lys	Ser	Glu Val	Leu							
1325			1330			1335									
Ser Glu	Ser Ser	Glu Leu	Leu	Gln Gln	Glu Leu	Glu	Glu Leu	Arg							
1340			1345			1350									
Lys Ser	Leu Gln	Glu Lys	Asp	Ala Thr	Ile Arg	Thr	Leu Gln	Glu							
1355			1360			1365									
Asn Asn	His Arg	Leu Ser	Asp	Ser Ile	Ala Ala	Thr	Ser Glu	Leu							
1370			1375			1380									
Glu Arg	Lys Glu	His Glu	Gln	Thr Asp	Ser Glu	Ile	Lys Gln	Leu							
1385			1390			1395									
Lys Glu	Lys Gln	Asp Val	Leu	Gln Lys	Leu Leu	Lys	Glu Lys	Asp							
1400			1405			1410									
Leu Leu	Ile Lys	Ala Lys	Ser	Asp Gln	Leu Leu	Ser	Ser Asn	Glu							
1415			1420			1425									
Asn Phe	Thr Asn	Lys Val	Asn	Glu Asn	Glu Leu	Leu	Arg Gln	Ala							
1430			1435			1440									
Val Thr	Asn Leu	Lys Glu	Arg	Ile Leu	Ile Leu	Glu	Met Asp	Ile							
1445			1450			1455									

ES 2 660 414 T3

Gly Lys Leu Lys Gly Glu Asn Glu Lys Ile Val Glu Thr Tyr Arg
1460 1465 1470

Gly Lys Glu Thr Glu Tyr Gln Ala Leu Gln Glu Thr Asn Met Lys
1475 1480 1485

Phe Ser Met Met Leu Arg Glu Lys Glu Phe Glu Cys His Ser Met
1490 1495 1500

Lys Glu Lys Ala Leu Ala Phe Glu Gln Leu Leu Lys Glu Lys Glu
1505 1510 1515

Gln Gly Lys Thr Gly Glu Leu Asn Gln Leu Leu Asn Ala Val Lys
1520 1525 1530

Ser Met Gln Glu Lys Thr Val Val Phe Gln Gln Glu Arg Asp Gln
1535 1540 1545

Val Met Leu Ala Leu Lys Gln Lys Gln Met Glu Asn Thr Ala Leu
1550 1555 1560

Gln Asn Glu Val Gln Arg Leu Arg Asp Lys Glu Phe Arg Ser Asn
1565 1570 1575

Gln Glu Leu Glu Arg Leu Arg Asn His Leu Leu Glu Ser Glu Asp
1580 1585 1590

Ser Tyr Thr Arg Glu Ala Leu Ala Ala Glu Asp Arg Glu Ala Lys
1595 1600 1605

Leu Arg Lys Lys Val Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Val Ser Ser
1610 1615 1620

Ser Asn Ala Met Glu Asn Ala Ser His Gln Ala Ser Val Gln Val
1625 1630 1635

Glu Ser Leu Gln Glu Gln Leu Asn Val Val Ser Lys Gln Arg Asp
1640 1645 1650

Glu Thr Ala Leu Gln Leu Ser Val Ser Gln Glu Gln Val Lys Gln
1655 1660 1665

Tyr Ala Leu Ser Leu Ala Asn Leu Gln Met Val Leu Glu His Phe
1670 1675 1680

Gln Gln Glu Glu Lys Ala Met Tyr Ser Ala Glu Leu Glu Lys Gln
1685 1690 1695

ES 2 660 414 T3

Lys Gln Leu Ile Ala Glu Trp Lys Lys Asn Ala Glu Asn Leu Glu
 1700 1705 1710

Gly Lys Val Ile Ser Leu Gln Glu Cys Leu Asp Glu Ala Asn Ala
 1715 1720 1725

Ala Leu Asp Ser Ala Ser Arg Leu Thr Glu Gln Leu Asp Val Lys
 1730 1735 1740

Glu Glu Gln Ile Glu Glu Leu Lys Arg Gln Asn Glu Leu Arg Gln
 1745 1750 1755

Glu Met Leu Asp Asp Val Gln Lys Lys Leu Met Ser Leu Ala Asn
 1760 1765 1770

Ser Ser Glu Gly Lys Val Asp Lys Val Leu Met Arg Asn Leu Phe
 1775 1780 1785

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

Arg Leu Met Gly Ser Ile Leu Gly Val Arg Arg Glu Glu Met Glu
 1805 1810 1815

Gln Leu Phe His Asp Asp Gln Gly Ser Val Thr Arg Trp Met Thr
 1820 1825 1830

Gly Trp Leu Gly Gly Gly Ser Lys Ser Val Pro Asn Thr Pro Leu
 1835 1840 1845

Arg Pro Asn Gln Gln Ser Val Val Asn Ser Ser Phe Ser Glu Leu
 1850 1855 1860

Phe Val Lys Phe Leu Glu Thr Glu Ser His Pro Ser Ile Pro Pro
 1865 1870 1875

Pro Lys Leu Ser Val His Asp Met Lys Pro Leu Asp Ser Pro Gly
 1880 1885 1890

Arg Arg Lys Arg Asp Thr Asn Ala Pro Glu Ser Phe Lys Asp Thr
 1895 1900 1905

Ala Glu Ser Arg Ser Gly Arg Arg Thr Asp Val Asn Pro Phe Leu
 1910 1915 1920

Ala Pro Arg Ser Ala Ala Val Pro Leu Ile Asn Pro Ala Gly Leu
 1925 1930 1935

ES 2 660 414 T3

Gly Pro Gly Gly Pro Gly His Leu Leu Leu Lys Pro Ile Ser Asp
 1940 1945 1950

Val Leu Pro Thr Phe Thr Pro Leu Pro Ala Leu Pro Asp Asn Ser
 1955 1960 1965

Ala Gly Val Val Leu Lys Asp Leu Leu Lys Gln
 1970 1975

5 <210> 42
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Cebador

<400> 42
 gaagctacaa agcacatg 18

15 <210> 43
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Cebador

<400> 43
 tcctgtcttt cttcatgc 18

25 <210> 44
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Cebador

<400> 44
 gtcgacatgt cgtcctggct cggg 24

35 <210> 45
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial

40 <220>
 <223> Cebador

<400> 45
 ctcgagctat tgcttataaa ggtc 24

45 <210> 46
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial

50 <220>
 <223> Cebador

55 <400> 46
 catatgtcgt cctggcttgg gggc 24

ES 2 660 414 T3

<210> 47
<211> 25
<212> ADN
<213> Artificial
5
<220>
<223> Cebador
10 <400> 47
ggtacctgcttgc tttaaaggt cttc 25

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un agente para su uso en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de un cáncer/cánceres, comprendiendo el agente uno cualquiera de los polipéptidos (a) o (b) posteriores, teniendo dicho polipéptido actividad inductora de citotoxicidad de inducción de actividad citotóxica contra células tumorales *in vitro* en células T estimuladas con el polipéptido, o un vector recombinante que comprende un polinucleótido que codifica dicho polipéptido y es capaz de expresar *in vivo* dicho polipéptido:
- 10 (a) un polipéptido que consiste en la secuencia de aminoácidos que se muestra en las SEQ ID NO: 2 o 4 del LISTADO DE SECUENCIAS; y
(b) un polipéptido que tiene una identidad de secuencia de no menos del 98 % con el polipéptido (a).
- 15 2. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho polipéptido que tiene una actividad inductora de citotoxicidad consiste en la secuencia de aminoácidos que se muestra en las SEQ ID NO: 2 o 4 del LISTADO DE SECUENCIAS.
3. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que comprende un polipéptido.
- 20 4. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, que es para su uso poniendo en contacto *in vitro* células presentadoras de antígeno con el agente, de manera que se hace que las células presentadoras de antígeno presenten el polipéptido, y entonces administrar las células presentadoras de antígeno a un sujeto.
- 25 5. El agente para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que es para su uso en seres humanos, perros o gatos.
- 30 6. El agente para su uso de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que comprende adicionalmente un inmunopotenciador.
- 35 7. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que dicho inmunopotenciador es al menos uno que se selecciona de entre el grupo que consiste en adyuvante incompleto de Freund; Montanida; poli I:C y derivados del mismo; oligonucleótidos CpG; interleucina-12; interleucina-18; interferón- α ; interferón- β ; interferón- ω ; interferón- γ ; y ligando Flt3.
- 40 8. Un uso de uno cualquiera de los polipéptidos (a) o (b) posteriores, teniendo dicho polipéptido una actividad inductora de citotoxicidad de inducción de actividad citotóxica contra células tumorales *in vitro* en células T estimuladas con el polipéptido, o un vector recombinante que comprende un polinucleótido que codifica dicho polipéptido y es capaz de expresar *in vivo* dicho polipéptido, para la producción de un agente para su uso en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de un cáncer/cánceres:
- (a) un polipéptido que consiste en la secuencia de aminoácidos que se muestra en las SEQ ID NO: 2 o 4 del LISTADO DE SECUENCIAS; y
(b) un polipéptido que tiene una identidad de secuencia de no menos del 98 % con el polipéptido (a).

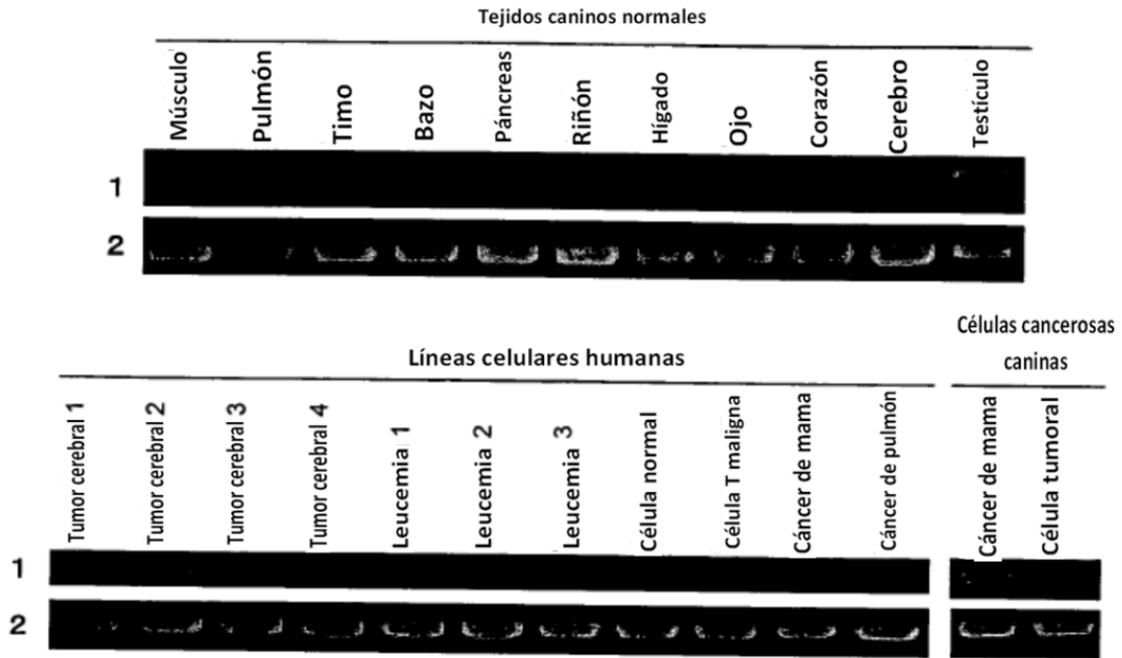


Fig.1

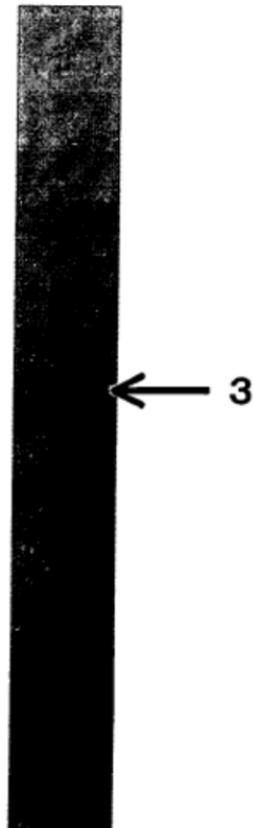


Fig.2

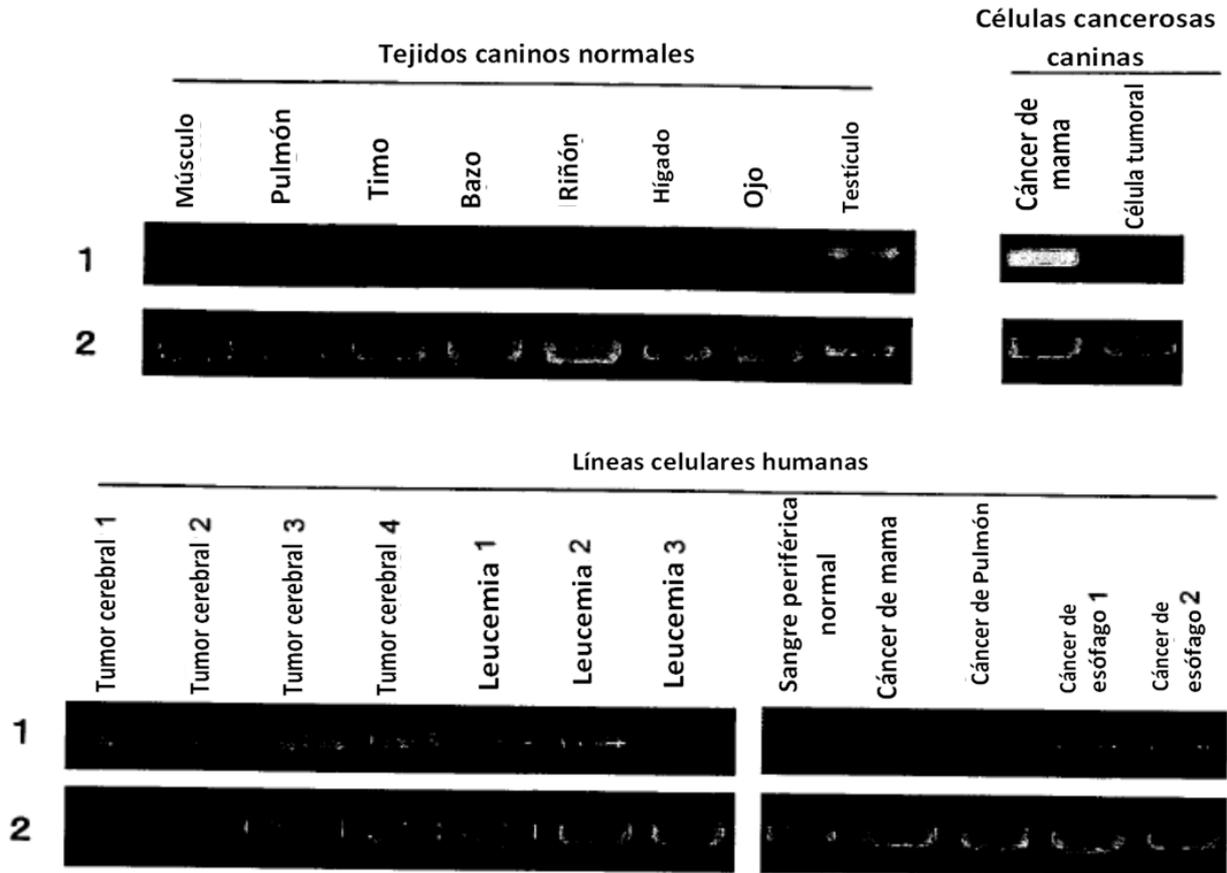


Fig.3

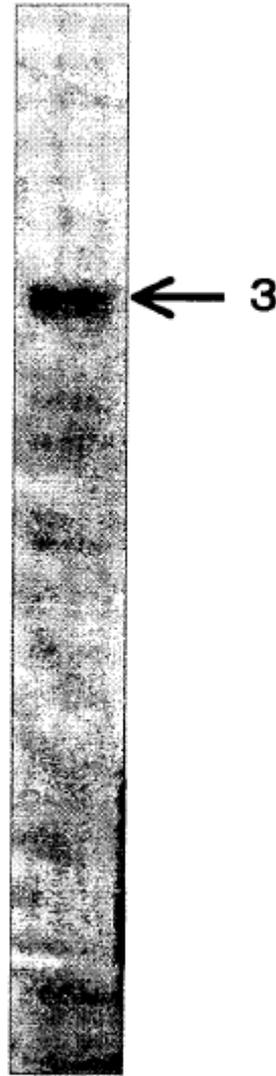


Fig.4

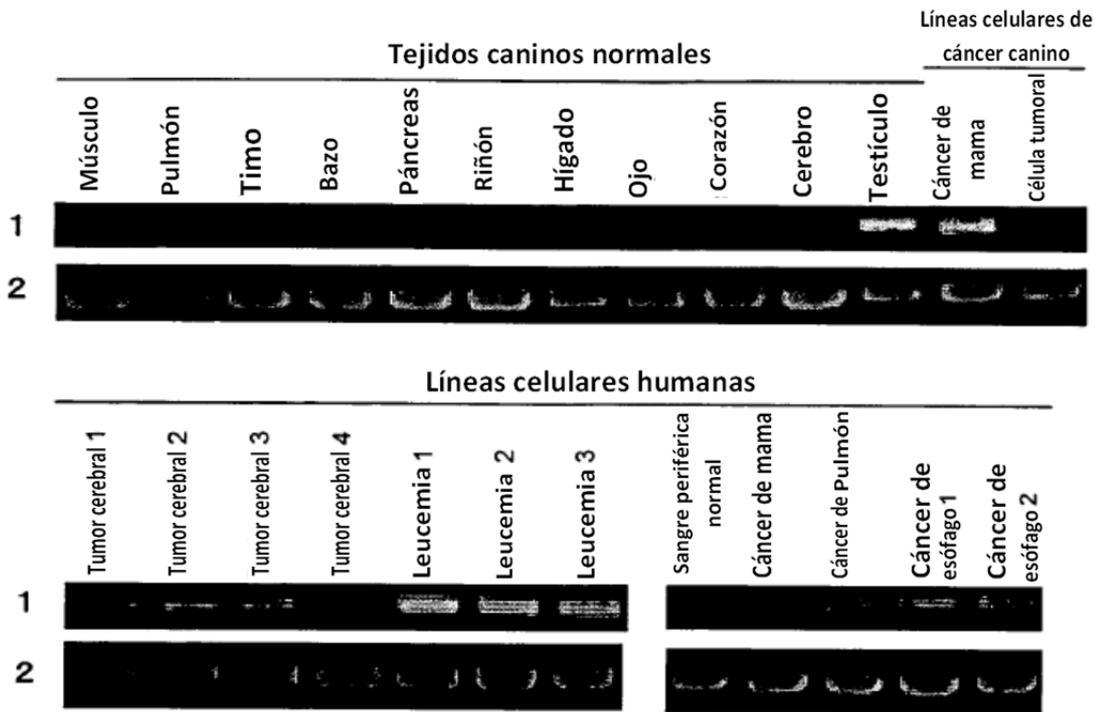


Fig.5



Fig.6

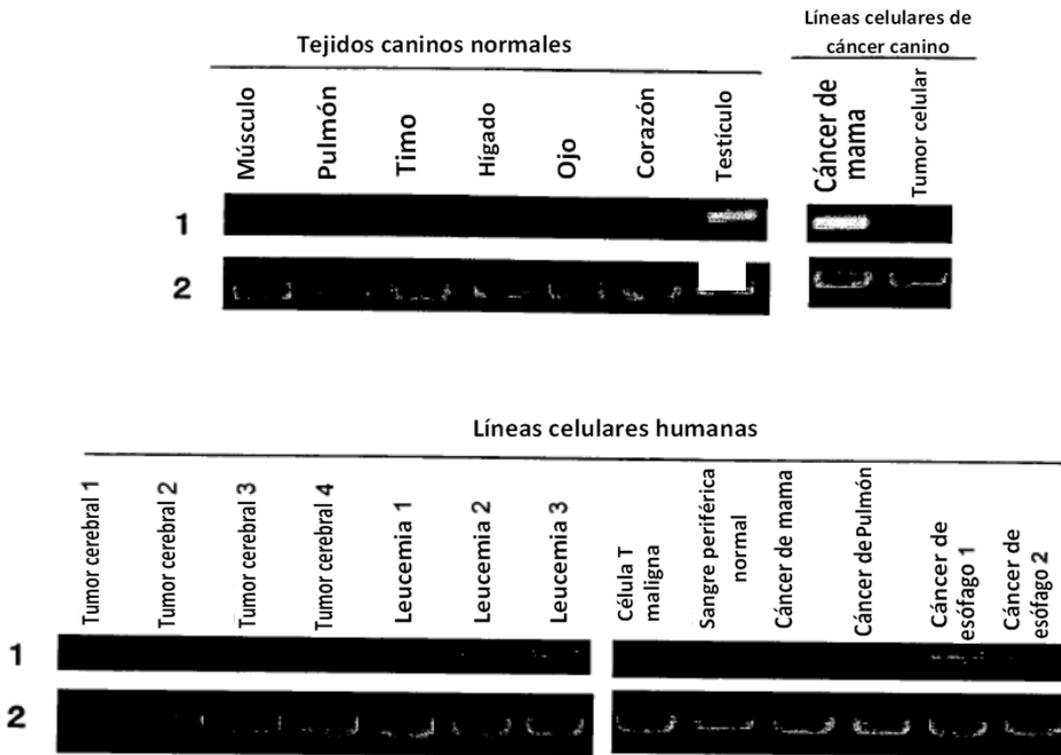


Fig.7

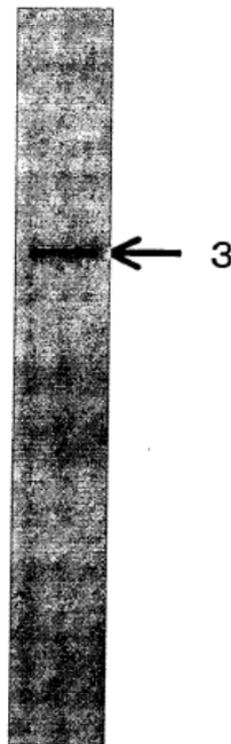


Fig.8