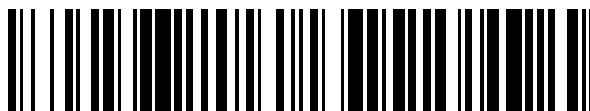


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 674 710**

51 Int. Cl.:

C12N 15/11 (2006.01)

C12N 15/12 (2006.01)

C12N 5/10 (2006.01)

C07K 14/47 (2006.01)

C12Q 1/68 (2008.01)

A61K 38/17 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.05.2008** **PCT/EP2008/056075**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.11.2008** **WO08138994**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.05.2008** **E 08759707 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.03.2018** **EP 2158317**

54 Título: **Fármaco, medicamento, composición antitumoral y uso de los mismos**

30 Prioridad:

16.05.2007 EP 07108349

16.05.2007 US 798685

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.07.2018

73 Titular/es:

GENE SIGNAL INTERNATIONAL SA (100.0%)
Parc Scientifique EPFL, PSE-A
1015 Lausanne VD, CH

72 Inventor/es:

AL MAHMOOD, SALMAN y
COLIN, SYLVIE

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 674 710 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

Fármaco, medicamento, composición antitumoral y uso de los mismos

La presente invención se refiere al campo de los tratamientos para cánceres. Más específicamente, la presente invención se refiere al tratamiento de cánceres mediante polipéptidos pequeños.

- 5 El cáncer es una clase de enfermedades o trastornos caracterizados por división descontrolada de células y la capacidad de estas células para diseminarse, ya sea por crecimiento directo en tejido adyacente a través de invasión, o por implantación en sitios distantes por metástasis (donde se transportan células cancerosas a través del torrente sanguíneo o del sistema linfático). El cáncer puede afectar a personas de todas las edades, pero el riesgo tiende a aumentar con la edad. Es una de las principales causas de muerte en los países desarrollados.
- 10 Hay muchos tipos de cáncer. La gravedad de los síntomas depende del sitio y el carácter de la malignidad y de si hay metástasis. Una vez diagnosticado, el cáncer generalmente se trata con una combinación de cirugía, quimioterapia y radioterapia. A medida que se desarrolla la investigación, los tratamientos se vuelven más específicos para el tipo de patología del cáncer. Ya existen fármacos para cánceres específicos diana para varios cánceres. Si no se trata, los cánceres pueden causar enfermedad y muerte, aunque este no es siempre el caso.
- 15 Los tratamientos actuales se dirigen a propiedades distintas de células malignas, tales como por ejemplo evadir la apoptosis, potencial de crecimiento ilimitado (inmortalización) debido a la superabundancia de la telomerasa, autosuficiencia de factores de crecimiento, insensibilidad a factores anticrecimiento, aumento de la tasa de división celular, capacidad alterada para diferenciar, sin capacidad de inhibición de contacto, capacidad de invadir tejidos vecinos, capacidad para construir metástasis en sitios distantes, capacidad para promover el crecimiento de vasos sanguíneos (angiogénesis).
- 20

- La angiogénesis tumoral es la proliferación de una red de vasos sanguíneos que penetra en el tumor, suministra nutrientes y oxígeno y elimina productos de desecho. La angiogénesis tumoral en realidad comienza con células tumorales cancerosas que liberan moléculas que envían señales al tejido huésped normal circundante. Esta señalización activa ciertos genes en el tejido del huésped que, a su vez, producen proteínas para estimular el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos. Los tumores sólidos deben estimular la formación de nuevos vasos sanguíneos a fin de obtener los nutrientes y el oxígeno necesarios para su crecimiento, proporcionando de este modo una ruta por la cual los tumores pueden hacer metástasis a sitios distantes.
- 25

- La evidencia experimental ha sugerido que los tumores malignos pueden inducir angiogénesis mediante la elaboración de una variedad de factores, tales como el factor de crecimiento de fibroblastos ácido (aFGF), factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), derivado de plaquetas factor de crecimiento (PDGF), factor de crecimiento alfa transformante (TGF-alfa), factor de crecimiento de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) y muchos otros (Liotta et al., 1991, Cell 64:327-336; Hanahan et al., Cell 86:353-364).
- 30

- Hoy en día, muchas moléculas quimioterapéuticas que se dirigen a la angiogénesis están disponibles en el mercado. Los inhibidores de angiogénesis naturales bien conocidos son angiostatina, endostatina, interferones, factor plaquetario 4, fragmento de prolactina 16Kd, trombospondina, TIMP-1 (inhibidor tisular de metaloproteasa-1), TIMP-2 y TIMP-3. Estas moléculas se pueden usar como tratamientos quimioterapéuticos, así como otros fármacos tales como, por ejemplo, combrestatin A4, EMD 121974, TNP-470, escualamina, talidomida, interferón-alfa, anti-VEGF, anticuerpos. Sin embargo, su eficacia nunca es tratamientos suficientes y alternativos son deseables.
- 35

- Por lo tanto, existe la necesidad de agentes quimioterapéuticos alternativos para el tratamiento de tumores que tengan una eficacia aumentada, que sean menos invasivos o tóxicos, y que den como resultado una velocidad de recuperación aumentada.
- 40

- El documento WO03/080105, en nombre del solicitante, describe cinco genes implicados en la regulación de la angiogénesis. Entre estos genes, el "gen 168" (SEQ ID NO: 1 en esta especificación), codificante de la "proteína 168A" (SEQ ID NO: 2 en esta especificación), se ha descrito como implícito en la activación de la angiogénesis. En particular, el documento WO03/080105 describe que la proteína 168A se expresa en células endoteliales estimuladas con factores proangiogénicos, tales como, por ejemplo, TNF- α . El documento WO03/080105 también describe que la expresión, en células endoteliales humanas, de una secuencia antisentido del gen 168, esto es, la inhibición de la expresión del gen 168, inhibe la formación de tubos capilares.
- 45

- Los experimentos in silico revelaron además que la proteína 168A, que está constituida por 924 aminoácidos, puede tener un solo dominio transmembrana y cinco dominios similares a la inmunoglobulina.
- 50

Profundizando en sus investigaciones, los inventores produjeron formas truncadas de proteína 168A, que corresponden a diversos fragmentos de proteína 168A. Entre estos fragmentos, 168A-T2 corresponde a un fragmento del dominio extracelular de la proteína 168A, y se identifica mediante la SEQ ID NO:4 en esta especificación (108 aminoácidos).

En un primer experimento, los inventores encontraron que la proteína 168A-T2 puede inhibir la proliferación de células endoteliales humanas in vitro de una manera dependiente de la dosis.

Luego, en un segundo experimento, los inventores encontraron sorprendentemente que 168A-T2 puede tener una fuerte actividad para inhibir la formación de tubos capilares in vitro, de una manera dependiente de la dosis.

- 5 Otros experimentos realizados por los inventores sugirieron que 168A-T2 puede inducir la inhibición de la migración de células endoteliales in vitro, de una manera dependiente de la dosis.

Los resultados del estudio de dosis-respuesta revelaron además que la proteína 168A-T2 puede inhibir de manera dependiente de la dosis la proliferación de células endoteliales humanas, y esta inhibición podría alcanzar más del 80% con una concentración de 3.1 μ M. Esto tiende a demostrar que la proteína recombinante puede ser un compuesto anti-angiogénico potente, al menos 600 veces más potente que los péptidos identificados basados en mAb anti-VEGF y/o receptor de VEGF (KDR) (Binetruy-Tournaire R et al., Identification of a peptide blocking vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated angiogenesis, EMBO J. 2000; 19: 1525-1533).

15 La formación de tubo capilar, la proliferación de células endoteliales humanas y la migración de células endoteliales humanas son tres etapas esenciales de la angiogénesis. En consecuencia, el hecho de que 168A-T2 pueda inhibir la formación de tubos capilares in vitro, la proliferación y/o migración de células endoteliales humanas de una manera dependiente de la dosis, de este modo constituía una fuerte evidencia de la potente actividad antiangiogénica de las formas truncadas de la proteína 168A.

20 Todos estos resultados fueron absolutamente inesperados ya que la proteína 168A nativa se expresa preferiblemente en condiciones proangiogénicas, esto es, en presencia de $TNF\alpha$, y que la expresión de un antisentido del gen 168, esto es, la inhibición del gen 168, en células endoteliales humanas inhibe la formación de tubos capilares. Por lo tanto, fue realmente sorprendente que una forma truncada de proteína 168A, pueda tener actividad antiangiogénica.

Aun sorprendentemente, los inventores encontraron que la proteína 168A-T2 tenía una fuerte actividad antitumoral in vivo, y una fuerte actividad sinérgica en combinación con otro agente quimioterapéutico tal como, por ejemplo, cisplatino.

25 Los inventores encontraron que la sustancia de prueba 168A-T2 no era tóxica en ratones desnudos portadores de tumores a diferentes dosis ensayadas. Además, 168A-T2 exhibió una fuerte actividad antitumoral estadísticamente significativa contra tumores humanos tan pronto como dos días después del comienzo del tratamiento. Esta actividad antitumoral fue persistente durante el período de tratamiento. Este efecto antitumoral de 168A-T2 representa un enfoque terapéutico realista como monoterapia. Su eficacia también se potenciaba fuertemente cuando se combinaba con el fármaco citotóxico anticanceroso CDDP (cisplatino), que suprimía el crecimiento tumoral. El cisplatino solo, por otro lado, no erradicó el crecimiento tumoral.

Los datos sugieren fuertemente que 168A-T2 puede ser de utilidad como agente antitumoral primario o como una terapia sinérgica de complemento a agentes citotóxicos primarios para el tratamiento de cánceres.

35 Como se menciona anteriormente, ahora se establece que la proteína 168A se expresa en células endoteliales, y que su expresión aumenta cuando la angiogénesis es estimulada por factores proangiogénicos tales como $TNF\alpha$, como se describe en el documento WO03/080105. La proteína 168A es una proteína transmembrana, y podría estar implicada en la transducción de una señal proangiogénica. Sin querer limitarse a una teoría, los solicitantes sugieren que las formas truncadas de 168A pueden desempeñar su papel a través de un "mecanismo receptor soluble": las formas truncadas de 168A pueden permanecer solubles en la superficie de la célula y pueden ser reconocidas por el ligando de la proteína 168A nativa. Como resultado, puede haber una competencia en el reconocimiento del ligando entre las formas solubles de 168A (los fragmentos de la invención) y la proteína transmembrana nativa, y en consecuencia una disminución, de una manera dependiente de la dosis, de la transducción de la señal proangiogénica, lo que resulta en la inhibición de la angiogénesis y luego en la disminución del volumen del tumor.

45 La invención se refiere de este modo, en un primer aspecto, a un ácido nucleico que tiene la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO:3, dicho ácido nucleico que codifica un polipéptido o péptido que tiene actividad antiangiogénica y antitumoral.

La SEQ ID NO: 21 corresponde a la secuencia de ácido nucleico SEQ ID NO: 87 descrita en WO02/081731.

La SEQ ID NO: 23 corresponde a la secuencia de ácido nucleico SEQ ID NO: 28 descrita en WO03/080105.

50 En otro aspecto, la invención se refiere a un vector de expresión que comprende al menos una secuencia de ácido nucleico como se definió anteriormente.

Como se usa en este documento, "vector de expresión" significa cualquier construcción de plásmido o de ácido nucleico, que se usa para introducir y expresar una secuencia de ácido nucleico específica en una célula diana.

La invención se refiere adicionalmente, en un tercer aspecto, a un polipéptido activo que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4.

La SEQ ID NO: 22 corresponde a la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 87 descrita en WO02/081731.

5 Como se usa en este documento, "péptido" significa moléculas cortas formadas a partir del enlace, en un orden definido, de menos de 100 aminoácidos.

Como se usa en este documento, "polipéptido" significa moléculas formadas a partir del enlace, en un orden definido, de al menos 100 aminoácidos.

Como se usa en este documento, "polipéptido activo" significa polipéptidos que tienen una actividad biológica. En la presente invención, los polipéptidos tienen una actividad antiangiogénica y antitumoral.

10 Según la invención, el polipéptido como se describió anteriormente tiene una actividad antitumoral.

En una realización particular, el polipéptido activo según la invención se produce mediante el vector de expresión como se definió anteriormente.

En un cuarto aspecto, la presente invención se refiere a un medicamento que comprende al menos una secuencia de ácido nucleico, vector o polipéptido como se describió anteriormente.

15 En un quinto aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende al menos una secuencia de ácido nucleico, vector o polipéptido como se describió anteriormente, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

20 En un sexto aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende al menos una secuencia de ácido nucleico, vector o polipéptido como se describió anteriormente, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, para uso en un método de tratamiento de cáncer y/o tumores del cuerpo humano o animal.

25 En una realización particular, las composiciones farmacéuticas como se describió anteriormente comprenden además al menos otra sustancia activa seleccionada de sustancias antiangiogénicas o sustancias antitumorales. Estas sustancias pueden ser elegidas por el hombre en la técnica, con respecto al efecto que se logrará. Preferiblemente, estas sustancias se pueden seleccionar entre cisplatino, carboplatino, etopósido, ifosfamida, mitomicina, vinblastina, vinorelbina, gemcitabina, paclitaxel, docetaxel e irinotecán, etc.

En un séptimo aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende cantidades eficaces de:

- un polipéptido, un fragmento y/o un péptido como se describió anteriormente, y
- un complejo de platino seleccionado del grupo que consiste en cisplatino y carboplatino.

30 Los solicitantes encontraron sorprendentemente que la combinación de un polipéptido según la invención con un complejo de platino mostró actividad sinérgica.

Por "sinérgico", se entiende, dentro de la presente invención, que el efecto total de la combinación de principios activos es mayor que el efecto de cada principio activo tomado por separado.

35 El medicamento o composición útil en la práctica de esta invención se administra al mamífero por rutas convencionales conocidas. El medicamento o composición descrita en este documento se puede administrar por la misma ruta o por diferentes rutas. Por ejemplo, el medicamento o composición se puede administrar a pacientes por vía oral o parenteral (por vía intravenosa, subcutánea, intramuscular, intraespinal, intraperitoneal y similares).

40 Cuando se administra por vía parenteral, la composición se formula preferiblemente en una forma inyectable de dosificación unitaria (solución, suspensión, emulsión) con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Tales excipientes son por lo general no tóxicos y no terapéuticos. Ejemplos de tales excipientes son agua, vehículos acuosos tales como solución salina, solución de Ringer, solución de dextrosa y solución de Hank y vehículos no acuosos tales como aceites fijos (por ejemplo, maíz, semilla de algodón, cacahuete y sésamo), oleato de etilo y miristato de isopropilo. La solución salina estéril es un excipiente preferido. El excipiente puede contener cantidades menores de aditivos tales como sustancias que mejoran la solubilidad, la isotonicidad y la estabilidad química, por ejemplo, antioxidantes, soluciones reguladoras y conservantes. Cuando se administran por vía oral (o rectal), los compuestos se formularán usualmente en una forma de dosificación unitaria tal como un comprimido, cápsula, supositorio o sello. Tales formulaciones incluyen por lo general un portador o diluyente sólido, semisólido o líquido. Los diluyentes y excipientes de ejemplo son lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma arábica, fosfato de calcio, aceite mineral, manteca de cacao, aceite de teobroma, alginatos, tragacanto, gelatina, metilcelulosa, polioxietileno, sorbitán,

monolaurato, hidroxibenzoato de metilo, hidroxibenzoato de propilo, talco y estearato de magnesio. En realizaciones preferidas, la composición farmacéutica según la invención se administra por vía intravenosa.

5 Según la invención, la cantidad de polipéptido presente en el medicamento o composición es eficaz para tratar tumores susceptibles. Preferiblemente, el polipéptido está presente en una cantidad desde 0.01 a 90% en peso, preferiblemente desde 0.1% a 10% en peso, más preferiblemente de 1% a 5% en peso, en el medicamento o en la composición. Estas cantidades son rutinariamente adaptables por el experto en el arte, que puede elegir la mejor cantidad para administrar a un paciente para lograr la recuperación.

10 En un octavo aspecto, la invención se refiere al uso de al menos una secuencia de ácido nucleico, vector o polipéptido como se describió anteriormente, o del medicamento como se describió anteriormente, o de la composición farmacéutica como se describió anteriormente, para el tratamiento de cánceres y/o tumores

15 Según la invención, los tumores que se van a tratar son preferiblemente tumores sólidos. Más preferiblemente, los tumores que se van a tratar se seleccionan de sarcomas, carcinomas y linfomas. Ejemplos de tales tumores son cáncer de vejiga, melanoma, cáncer de mama, linfoma no Hodgkin, cáncer de cerebro, cáncer de hueso, cáncer de colon y recto, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de endometrio, cáncer de próstata, cáncer de riñón, cáncer de piel (no melanoma), cáncer de tiroides, cáncer de pulmón (cáncer de pulmón de células pequeñas y cáncer de pulmón de células no pequeñas).

20 En un noveno aspecto, la presente invención se refiere a un método de tratamiento que comprende administrar a un sujeto que necesita tratamiento al menos una secuencia de ácido nucleico, vector o polipéptido como se describió anteriormente, o el medicamento como se describió anteriormente, o la composición farmacéutica como se describió anteriormente, en una cantidad suficiente para inhibir el cáncer o el crecimiento tumoral.

Como se usa en este documento, "sujeto que necesita tratamiento" significa cualquier animal de sangre humana o caliente que padezca de cáncer o tumor.

En una realización particular, la invención se refiere al método de tratamiento como se describe anteriormente que comprende además administrar al menos otro fármaco antineoplásico o antitumoral.

25 En estos métodos, la administración comprende administración tópica, administración oral, administración intravenosa o administración intraperitoneal.

En un octavo aspecto, la presente invención se refiere a un método de tratamiento que comprende administrar a un sujeto que necesita tratamiento una cantidad efectiva de:

- un polipéptido, un fragmento y/o un péptido como se describió anteriormente, y

30 - un complejo de platino seleccionado del grupo que consiste en cisplatino y carboplatino, que es suficiente para inhibir el cáncer o crecimiento tumoral

Los solicitantes encontraron sorprendentemente que la administración tanto de un polipéptido según la invención como de un complejo de platino mostró un efecto sinérgico.

35 En una realización, dicho polipéptido o fragmentos del mismo y dicho complejo de platino se administran simultáneamente.

En otra realización, dicho polipéptido o fragmentos del mismo y dicho complejo de platino se administran secuencialmente. Preferiblemente, dicho polipéptido o fragmentos del mismo y dicho complejo de platino se administran por rutas separadas, esto es, por vía oral o parenteral (intravenosa, subcutánea, intramuscular, intraespinal, intraperitoneal y similares).

40 En una realización particular, dicho complejo de platino es cisplatino.

En otra realización particular, dicho complejo de platino es carboplatino.

La presente invención se describirá ahora adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes.

La figura 1 es un diagrama que representa el % de inhibición de la proliferación de células endoteliales in vitro con concentraciones crecientes de proteína 168A-T2.

45 Las figuras 2a, 2b, 2c y 2d son imágenes de la angiogénesis in vitro de células endoteliales en diferentes condiciones:

- Figura 2a: Control (Solución reguladora Urea 2 M),

- Figura 2b: 168A-T2 3.5 µg/mL (0.2 µM),
 - Figura 2c: 168A-T2 6.9 µg/mL (0.4 µM),
 - Figura 2d: 168A-T2 13.6 µg/mL (0.8 µM).
- 5 Las figuras 3a, 3b, 3c y 3d son imágenes del ensayo de lesiones en células endoteliales realizadas en diferentes condiciones:
- Figura 3a: Control (Solución reguladora Urea 2 M),
 - Figura 3b: 168A-T2 12 µg/mL (0.7 µM),
 - Figura 3c: 168A-T2 17 µg/mL (1 µM),
 - Figura 3d: 168A-T3 23 µg/mL (1.35 µM).
- 10 La figura 4 es un diagrama que representa el % de inhibición de la proliferación de células tumorales renales (Biz) in vitro con concentraciones crecientes de proteína 168A-T2.
- La figura 5 es un diagrama que representa el % de inhibición de la proliferación de células de tumor de pulmón (Calu-6) in vitro con concentraciones crecientes de proteína 168A-T2.
- 15 La figura 6 es un gráfico que representa el volumen del tumor medio (mm³) frente al tiempo (días) para diferentes grupos de ratones tratados según el ejemplo 8.
- La figura 7 es un gráfico que representa el volumen del tumor relativo (sin unidad) frente al tiempo (días) para diferentes grupos de ratones tratados según el ejemplo 8.
- La SEQ ID NO: 1 corresponde a la secuencia de ácido nucleico del gen 168.
- La SEQ ID NO: 2 corresponde a la secuencia de aminoácidos de la proteína 168A.
- 20 La SEQ ID NO:3 corresponde a la secuencia de ácido nucleico de 168A-T2.
- La SEQ ID NO:4 corresponde a la secuencia de aminoácidos de 168A-T2.
- La SEQ ID NO: 5 corresponde a la secuencia de ácido nucleico de 168A-T2 dentro del vector pET30.
- La SEQ ID NO: 6 corresponde a la secuencia de aminoácidos de 168A-T2 producida con el vector pET30.
- La SEQ ID NO: 7 corresponde a la secuencia de aminoácidos de un fragmento de 168A-T2.
- 25 La SEQ ID NO: 8 corresponde a la secuencia de aminoácidos de un fragmento de 168A-T2.
- La SEQ ID NO: 9 corresponde a la secuencia de aminoácidos de un fragmento de 168A-T2.
- La SEQ ID NO: 10 corresponde a la secuencia de aminoácidos de un fragmento de 168A-T2.
- La SEQ ID NO: 11 corresponde a la secuencia de aminoácidos de un fragmento de 168A-T2.
- La SEQ ID NO: 12 corresponde a la secuencia de aminoácidos de un fragmento de 168A-T2.
- 30 La SEQ ID NO: 13 corresponde a la secuencia de ácido nucleico de un fragmento de la SEQ ID NO: 7.
- La SEQ ID NO: 14 corresponde a la secuencia de ácido nucleico codificante de la SEQ ID NO: 8.
- La SEQ ID NO: 15 corresponde a la secuencia de ácido nucleico codificante de la SEQ ID NO: 9.
- La SEQ ID NO: 16 corresponde a la secuencia de ácido nucleico codificante de la SEQ ID NO: 10.
- La SEQ ID NO: 17 corresponde a la secuencia de ácido nucleico codificante de la SEQ ID NO: 11.
- 35 La SEQ ID NO: 18 corresponde a la secuencia de ácido nucleico codificante de la SEQ ID NO: 12.
- La SEQ ID NO: 19 corresponde a la secuencia de ácido nucleico del cebador CDS5.

La SEQ ID NO: 20 corresponde a la secuencia de ácido nucleico del cebador CDS4.

Ejemplo 1: Producción de proteína 168A-T2

Síntesis de la inserción 168A-T2:

5 Primero, el gen 168A se clonó en el sistema de vector fácil pGEM®-T (Promega®) según procedimientos conocidos (el vector obtenido se denominó "pGEM-T-168A").

En segundo lugar, la inserción T2 (SEQ ID NO:3), codificante de la parte adyacente a la membrana plasmática del dominio extracelular de la proteína 168A, se amplificó por PCR usando el plásmido "pGEM-T-168A" y los dos cebadores CDS5 (SEQ ID NO: 19) y CDS4 (SEQ ID NO: 20) (tabla 1).

Tabla 1

Cebador	SEQ ID NO	Secuencia
168A-cds-5	19	GACGACGACAAGATGGCCTTTGATGTGTCCTGGTTTG
168A-cds-4	20	GAGGAGAAGCCCGGTTTCAGGGATACTTGAAGGCGTTCAGCACA

10

En tercer lugar, la secuencia de ADN (SEQ ID NO:3) codificante de la proteína 168A-T2 se insertó en el vector pET-30 EK/LIC (Novagen®) según procedimientos conocidos (pET-30-168AT2). La secuencia de ácido nucleico que codifica 168A-T2 dentro del vector pET-30 se da en la SEQ ID NO: 5.

15

El vector purificado se introdujo luego en E. coli BL21 (DE3) pLys para la producción de proteínas. Las colonias se controlaron por la presencia tanto del vector como del inserto por PCR.

El tamaño de la proteína producida 168A-T2 fue de 18 kD, que correspondía al tamaño esperado, que comprendía el marcador His en el extremo N tal como se confirmó mediante secuenciación. La secuencia de aminoácidos de la proteína 168A-T2 tal como se produce se da en la SEQ ID NO: 6.

Extracción y purificación de la proteína 168A-T2

20

Como la proteína 168A-T2 se produjo dentro de la fracción insoluble de las bacterias, necesitó una extracción en condiciones de desnaturalización.

25

Después del cultivo, las bacterias se lisaron, se centrifugaron y se descartó el sobrenadante. La fracción insoluble obtenida se trató con Tris-HCl 20 mM, urea 8 M, imidazol 5 mM, NaCl 0.5 M, GSH 5 mM, pH 8.0. Después de este tratamiento, la suspensión se centrifugó y el sobrenadante se recogió, se filtró en membranas de 0.45 µm para descartar materiales insolubles. El extracto filtrado se usó luego para purificar la proteína 168A-T2 usando una columna His-Trap (Amersham®) conectada a un sistema de HPLC (Amersham).

La proteína purificada obtenida se diluyó en urea 4 M e imidazol 0.3 M. Para eliminar estos agentes de la preparación, la solución se sometió a diálisis a 4 °C.

30

Siguiendo estas etapas de diálisis, la proteína purificada se centrifugó a 4,000 x g, durante 15 minutos y se filtró en membranas de 0.45 µm para eliminar posibles precipitados. La preparación de proteína purificada se controló para el contenido de proteína según el método descrito por Bradford in 1976 (Anal. Biochem. 72:248-54) y por SDS - PAGE. Los geles se analizaron usando el software Gene Genius para cuantificar la pureza mediante análisis de imágenes.

35

Para aumentar la pureza de la proteína 168A-T2, se realizó una segunda etapa de purificación usando cromatografía líquida de intercambio iónico. La preparación purificada HisTrap se diluyó 3 veces con la solución reguladora Tris-HCl 20 mM, pH 8, urea 2 M (para disminuir la concentración de NaCl a 50 mM), y se cargó en una columna MonoS conectada a un sistema HPLC ejecutado por el software Unicorn (Amersham, GE, Saclay, Francia). La columna se lavó luego extensamente y se eluyó con un gradiente lineal de fuerza iónica (NaCl 0.05 M a 0.5 M en la solución reguladora Tris-HCl 20 mM, pH 8, urea 2 M). La preparación de proteína purificada se controló para el contenido de proteína tanto por Bradford como por SDS PAGE.

40

Ejemplo 2: Prueba de inhibición de la proliferación de células endoteliales por 168A-T2 in vitro

Se cultivaron células HUVEC hasta confluencia en medio EGM2-MV completo (Cambrex) a 37 °C y en atmósfera humidificada con CO₂ al 5%. Las células se recogieron luego mediante digestión con tripsina-EDTA (Versene, Eurobio). Después de 5 minutos, se detuvo la reacción enzimática y se añadieron 3 ml del medio de cultivo que contenía 5% de

5 FCS. Las células se centrifugaron luego a 220 g, durante 10 minutos a temperatura ambiente, se lavaron dos veces con 5 ml de medio de cultivo, se suspendieron en medio de cultivo completo, se contaron y se ajustaron a 50 000 células/mL. Se distribuyeron entonces cien μ l por pocillo en una microplaca de 96 pocillos de cultivo celular (5 000 células/pocillo) y se incubaron con diferentes concentraciones de la proteína purificada 168A-T2 en solución reguladora Tris-HCl 20 mM (pH 8), que contenía NaCl 150 mM y urea 2 M; esta solución reguladora se usó como control.

10 Después de 42 horas a 37 °C, se midió la proliferación celular usando el método de bromuro de tetrazolio azul de tiazolilo (MTT). En resumen, se disolvió MTT (Sigma) en PBS a 5 mg/ml, la solución se filtró (0.22 μ m) y se añadieron 10 μ l a cada pocillo de las microplacas de 96 pocillos. Después de 3 horas de incubación a 37 °C, atmósfera humidificada con CO₂ al 5%, las microplacas se centrifugaron a 220 x g, durante 10 minutos, el sobrenadante se descartó y los cristales se disolvieron mediante la adición de 100 μ l de DMSO a cada pocillo. La densidad óptica (OD) a 570 nm se midió luego usando un lector de microplacas μ Quant (Bio-Tek Instrument gmbh, Colmar, Francia) acoplado al software KC4 (Bio-Tek). La OD se corrigió restando valores de OD del pocillo de blanco (los valores de OD obtenidos de pocillos sin células) y se midió la inhibición de la proliferación celular en relación con el control (OD obtenida de los pocillos con HUVEC no tratada que representa la respuesta proliferativa máxima, esto es, 100%).

15 Como se muestra en la figura 1, la proteína 168A-T2 inhibió la proliferación de células endoteliales humanas de una manera dependiente de la dosis. Esta inhibición representó 80% a 54 μ g/mL (esto es, 3.1 μ M) de proteína 168A-T2.

Ejemplo 3: Inhibición de la angiogénesis in vitro por 168A-T2

Las proteínas purificadas 168A-T2 se probaron in vitro en la angiogénesis de HUVEC inducida por FGF2 y VEGF en Matrigel.

20 Se prepararon 24 placas de pocillos con 250 μ L de BD Matrigel™/pocillo y luego se incubaron durante 30 minutos en una incubadora. Después se prepararon células HUVEC como se describe en el ejemplo 2 y se sembraron 70 000 células (en 0.5 mL) por pocillo y se incubaron con diferentes concentraciones de la proteína purificada 168A-T2, en solución reguladora Tris-HCl 20 mM (pH 8), que contenía 150 NaCl mM y urea 2 M; esta solución reguladora fue usado como control:

- 25 - Figura 2a: Control (Solución reguladora Urea 2 M),
 - Figura 2b: 168A-T2 3.5 μ g/mL (0.2 μ M),
 - Figura 2c: 168A-T2 6.9 μ g/mL (0.4 μ M),
 - Figura 2d: 168A-T2 13.6 μ g/mL (0.8 μ M).

30 Como se muestra en las figuras 2b, 2c y 2d, la proteína 168A-T2 inhibió la angiogénesis in vitro de una manera dependiente de la dosis.

Ejemplo 4: Inhibición de la migración de células endoteliales humanas por 168A-T2

35 La migración de células se ensayó mediante el ensayo de lesiones descrito por Sato and Rifkin (J Cell Biol. 1988; 107:1199) con algunas modificaciones. HUVEC cultivadas en medio de cultivo EGM-2MV (Cambrex) se sembraron en placas de 24 pocillos a 80 000 células por pocillo en 500 μ l de medio de cultivo y se cultivaron hasta confluencia a 37 °C en una atmósfera humidificada que contenía CO₂ al 5%. Las células se desecharon con una punta de plástico en una sola línea. Después de lesionar, el medio de cultivo se cambió por medio fresco (control, figura 3a) o medio fresco suplementado con:

- 40 - Figura 3b: 168A-T2 12 μ g/mL (0.7 μ M),
 - Figura 3c: 168A-T2 17 μ g/mL (1 μ M),
 - Figura 3d: 168A-T3 23 μ g/mL (1.35 μ M).

Después de 18 horas de cultivo, las células se observaron y se fotografiaron bajo el microscopio invertido (Analysis, Olympus, Rungis, Francia).

Como se muestra en las figuras 3b, 3c y 3d, la proteína 168A-T2 inhibió la migración de células endoteliales humanas de una manera dependiente de la dosis.

45 Ejemplo 5: Prueba de inhibición de una proliferación de línea celular de cáncer de riñón mediante 168A-T2 in vitro

Se preparó una preparación de células BizX de 50000 células/mL en medio completo. En una placa de 96 pocillos, se distribuyeron 100 µL de la preparación celular en cada pocillo y luego se incubaron con diferentes concentraciones de 168A-T2 (cada concentración se probó por triplicado). Después de 48 horas de incubación a 37 °C, se añadieron 10 µL de MTT (5 mg/L en agua) en cada pocillo. Después de 3 horas de incubación a 37 °C, se eliminó el medio de cultivo y se añadieron 100 µL de DMSO para solubilizar cristales de MMT. La densidad óptica (DO) a 570 nm se midió entonces usando un lector de microplacas mQuant (Bio-Tek Instrument Colmar, Francia) acoplado al software KC4 (Bio-Tek). La OD se corrigió restando valores de OD en pocillos de blanco (los valores OD obtenidos desde los pocillos sin células) y se midió la inhibición de la proliferación celular en relación con el control (OD obtenida de pocillos con células tumorales de riñón no tratadas que representaban la respuesta proliferativa máxima, esto es, 100%).

Como se muestra en la figura 4, la proteína 168A-T2 inhibió hasta el 20% de la proliferación de una línea de cáncer de riñón (BizX).

Ejemplo 6: Prueba de inhibición de una proliferación de línea celular de cáncer de pulmón por 168A-T2 in vitro

Las células Calu6 se cultivaron y se trataron como se describe en el ejemplo 5.

Como se muestra en la figura 5, la proteína 168A-T2 inhibió hasta 40% de la proliferación de una línea de cáncer de pulmón (Calu6).

Ejemplo 7: Expresión de la proteína 168A en muestras tumorales

Se cribaron un número de muestras de tumores humanos diferentes para la expresión del gen 168A. Para cada muestra patológica, la periferia del tumor se separó del núcleo del tumor, y la expresión del gen 168A en estas dos áreas se comparó después de la extracción de ARNm seguido de RT-PCR.

Muestras de tumores renales

Se analizaron 19 biopsias patológicas de tumores renales. En 11 de 19 pacientes, la expresión de 168A fue mucho más alta en el núcleo que en la periferia del tumor. En 8 pacientes de 19 pacientes, la expresión de 168A fue mucho más alta en la periferia del tumor que en el núcleo.

Muestras de tumores pulmonares

Se analizaron 40 biopsias patológicas de tumores de pulmón humano. En 23 de 40 pacientes, la expresión de 168A fue mucho más alta en el núcleo que en la periferia del tumor.

Muestras de tumores de colon

Se analizaron 33 biopsias patológicas de tumores de colon humano. En 13 de 33 pacientes, la expresión de 168A fue mucho más alta en la periferia que en el núcleo del tumor.

Ejemplo 8: Prueba de 168A-T2 en el modelo de xenoinjerto de cáncer de pulmón de células no pequeñas humano (CALU-6) en ratones suizos desnudos in vivo

Preparación de células CALU-6

Se cultivaron células CALU-6 como células adherentes en medio EMEM completo (Ref. CM1MEM18-01, lote No. 462502, Eurobio, Francia) 10% de suero de ternera fetal (FCS; Ref. CVFSVF0001, lote No. S13021, Eurobio, Francia) en una atmósfera humidificada a 37 °C y CO₂ al 5%. Se amplificaron en matraces de 75 cm² para alcanzar 90x10⁶ células.

A DO, se recogieron células CALU-6 (carcinoma de pulmón humano) de matraces de 75 cm² eliminando el medio y añadiendo 3 ml de tripsina-EDTA (Ref. CEZTDA00-OU, lote No. 633920, Eurobio, Francia). Después de 5 min de incubación a 37 °C, las células se desprendieron del plástico y la reacción enzimática se detuvo añadiendo 3 ml de medio EMEM que contenía 10% de suero de ternera fetal. Las células se centrifugaron a 700 g, durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se resuspendieron en medio de cultivo EMEM libre de suero. Las células se contaron y se evaluó la viabilidad mediante exclusión con azul tripán (Ref. CSTCOL03-OU, lote No. 434511, Eurobio, Francia). El número de células CALU-6 viables fue > 99%. El número de células se ajustó entonces a 25x10⁶ células/ml en medio libre de suero.

Inducción del tumor

Se anestesiaron treinta ratones suizos desnudos femeninos sanos mediante inyección IP de Ketamina-Xilazina (80 mg/kg-12 mg/kg, Ref. K-113, Sigma, Francia). Las células CALU-6 5x10⁶ células/ratón en 200 µL de medio libre de

suero) se implantaron luego subcutáneamente en el flanco derecho de cada ratón. Los ratones se observaron durante 2 horas después de la implantación.

Programa de tratamiento

5 En D12 después de la implantación de las células CALU-6, los treinta ratones se distribuyeron aleatoriamente en cuatro grupos de 5 ratones. Los volúmenes tumorales habían alcanzado 54 a 296 mm³ y los volúmenes tumorales medios no fueron estadísticamente diferentes entre los grupos después de la aleatorización.

El programa de tratamiento, que comienza el D12 y termina el D28, se resume en la tabla 2.

- Los animales del grupo 1 se trataron con la solución del vehículo (Tris-HCl pH 7.5, urea 2 M, NaCl 150 mM, CaCl₂ 0.1 mM)

10 - Los animales del grupo 2 se trataron con una solución de cisplatino en suero fisiológico a una concentración de 0.5 mg/mL (CDDP, dicloruro de cis-diaminaplatino (II), Ref. P4394, lote No. 014K0993, Sigma, Francia, pureza 100%, PM 300)

- Los animales del grupo 3 se trataron con el vehículo suplementado con la sustancia de prueba 168A-T2 a una dosis de 15 mg/kg.

15 - Los animales del grupo 4 se trataron con el vehículo suplementado con la sustancia de prueba 168A-T2 a una dosis de 15 mg/kg, y recibieron además 5 mg/kg de CDDP. Las inyecciones en los grupos 1, 2, 3 y 4 se realizaron según los programas Q2DX8, esto es, 1 cantidad cada dos días, ocho veces.

20 Se observaron ratones durante 2 horas después de la inyección. Se usó ketamina/xilazina (80 mg/kg - 12 mg/kg, Ref. K-113, Sigma, Francia) para anestesiarse los animales antes del sacrificio por dislocación cervical. Para todos los animales, el tamaño del tumor se midió dos veces por semana con pinzas. El volumen del tumor (mm³) se midió según la fórmula: (longitud X ancho²)/2.

Estudios estadísticos

Se calcularon los datos descritos a continuación:

- Las curvas de crecimiento tumoral se extrajeron usando los volúmenes tumorales medios (MTV),

25 - El volumen relativo de tumor medio (MRTV) se calculó como la relación entre el MTV en el tiempo t y el volumen en el momento de la inyección (t = D12),

- La inhibición del crecimiento tumoral (T/C,%) se evaluó como la proporción de los volúmenes tumorales medianos de los grupos tratados frente al grupo de vehículos.

30 Se realizaron análisis estadísticos de volúmenes tumorales (TV), tiempo para alcanzar "TV", tiempo de duplicación tumoral (DT), volumen del tumor relativo (RTV) e inhibición del crecimiento tumoral (T/C) para todos los grupos. Los datos se expresan como la media ± SD. Los grupos de datos se distribuyeron normalmente. Se realizó un análisis univariado para evaluar las diferencias entre los grupos. La significación estadística se determinó usando la prueba t de Student. Un P <0.05 se consideró como estadísticamente significativo. El análisis estadístico se realizó usando XLSTAT (Addinsoft, Francia).

35 Peso corporal

Como se muestra en la tabla 3, el vehículo no tuvo impacto: el comportamiento del ratón y la ganancia de peso corporal fueron normales y ningún animal murió prematuramente. No se observó toxicidad durante el curso del tratamiento con la sustancia de prueba 168A-T2 a la dosis de 15 mg/kg, se observó una ligera ganancia de peso corporal (+ 2,45 g).

40 En contraste, se observó una toxicidad importante en los grupos 2, 4 tratados con CDDP (-2,70 g y -2,35 g de pérdida de peso corporal, respectivamente). La diferencia entre el grupo 1 versus 2 y 4 y el grupo 3 versus 2 y 4 fue estadísticamente significativa (p <0.0001) pero la diferencia entre el grupo 2 y 4 no fue estadísticamente significativa.

Tabla 2

Grupo	Animales n	Tratamiento	Ruta de administración	Dosis de tratamiento (mg/kg/adm)	Volumen de administración	Programa de tratamiento
1	5	Vehículo	IP	0	10 ml/kg	Q2DX8

2	5	Cisplatino	IP	5		Q2DX8
3	5	168A-T2	IP	15		Q2DX8
4	5	168A-T2+ Cisplatino	IP	15 5		Q2DX8

Tabla 3: Peso corporal medio (MBW) de los ratones con tumores CALU-6 tratados con el vehículo, CDDP a 5 mg/kg (programa Q2DX8, G2), 168A-T2 a 10.0 mg/kg (programa Q2DX8, G3), combinado 168A-T2 a 10.0 mg/kg y CDDP a 5 mg/kg (programa Q2DX8, G4) en D12 y D28.

Grupo	Sustancia de prueba	Dosis de tratamiento (mg/kg)	MBW at D12 (g)	MBW at D28 (g)	MBWC D12-D28 (g)
1	Vehículo	0	22.35 ± 1.17	24.40 ± 1.19	+2,36 (± 0.59)
2	Cisplatino	5.00	21.40 ± 0.85	18.69 ± 1.97	-2.70 (± 1.57)
3	168A-T2	15.00	21.74 ± 0.89	24.20 ± 1.37	+2.45 (± 0.65)
4	168A-T2+ Cisplatino	15.0 + 5.00	20.74 ± 1.41	18.39 ± 0.74	-2,35 (± 1.99)

5

Los resultados del volumen del tumor medio (MTV), el volumen del tumor relativo medio (MRTV) y los parámetros de crecimiento tumoral (T/C) se muestran en las figuras 6, 7 y en las tablas 4, 5 y 6.

La MTV (Tabla 4, Figura 6) se disminuyó en D28 en ratones del grupo 2 tratados con CDDP (742,44 mm³) en comparación con ratones del grupo de vehículos 1 (1233,44 mm³). El MTV en D28 también disminuyó en el grupo 3 tratado con la sustancia de prueba 168A-T2 a 15 mg/kg con 1 inyección por dos días (615,96 mm³). La disminución más importante de MTV se obtuvo para los animales del grupo 4 (317,17 mm³). La diferencia entre el grupo 1 y los 2 grupos tratados con la sustancia de prueba alcanza la significancia estadística ($p < 0,0001$ vs 4 - $p = 0,003$ vs 3). La diferencia entre los grupos 2 y 4 también fue significativa ($p = 0,001$). Por el contrario, no se observó diferencia estadística entre el grupo 2 (CDDP solo) y el grupo 3 (168A-T2 solo).

Tabla 4: Volumen del tumor medio (MTV) de animales portadores de células CALU-6 y tratados con vehículo (grupo 1), CDDP solo (grupo 2), 168A-T2 (10.0 mg/kg) (grupo 3) o combinado con 168A-T2 y CDDP (Grupo 4) según el tratamiento Q2DX8 programado.

MTV(mm ³)									
Grupo	D12	D14	D16	D18	D20	D22	D24	D26	D28
1	142,61	252,49	365,52	522,27	784,61	588,53	803,89	1044,02	1233,44
2	142,60	351,15	291,29	329,18	386,84	470,59	595,00	527,98	742,44
3	159,22	181,94	264,20	322,99	391,90	485,42	642,24	524,95	615,96
4	137,68	157,35	250,14	226,39	290,70	311,24	387,85	334,10	317,1

Estos resultados se confirmaron mediante el análisis de la MRTV (Tabla 5, Figura 7). La MRTV para animales del grupo 1 fue 8,24 en D28. Para los animales del grupo 2, esto es, tratados con CDDP, la MRTV en D28 era 5,98; para los animales del grupo 3, esto es, tratados con 168A-T2 (15 mg/kg), la MRTV en D28 fue 4,51; eventualmente, para animales del grupo 4, esto es, tratados tanto con CDDP como con 168A-T2, la MRTV fue 2,18.

Tabla 5: Volumen tumoral relativo medio (MRTV) de animales portadores de células CALU-6 y tratados con vehículo (grupo 1), CDDP solo (Grupo 2), 168A-T2 (10.0 mg/kg) (Grupo 3), o combinado con 168A-T2 y CDDP (Grupo 4) según el tratamiento programado Q2DX8.

MRTV									
Grupo	D12	D14	D16	D18	D20	D22	D24	D26	D28
1	1	1,83	3,17	2,51	3,68	4,16	5,68	7,49	8,24
2	1	3,11	2,39	2,66	3,08	3,70	4,84	4,11	5,98
3	1	1,15	1,93	2,08	2,60	3,47	4,83	4,14	4,51
4	1	1,09	1,80	1,70	2,10	2,28	2,72	2,33	2,18

- 5 Como se muestra en la tabla 5 y la figura 7, la MRTV alcanzó 2,18 en D28 para los animales del grupo 4, lo que confirmó la eficacia sinérgica de 168A-T2 con cisplatino. Además, el cisplatino usado solo (grupo 2) o el 168A-T2 usado solo (grupo 3) mostró una MRTV cercana en D28, lo que sugiere que 168A-T2 también es un potente agente antitumoral monoterapéutico.

Tabla 6: Inhibición del crecimiento basada en la proporción T/C

Proporción T/C (%)								
Día	D14	D16	D18	D20	D22	D24	D26	D28
G2	-70%	24%	-6%	17%	11%	15%	45%	27%
G3	37%	39%	17%	29%	16%	15%	45%	45%
G4	40%	43%	32%	43%	45%	52%	69%	74%

10

La proporción T/C (Tabla 6), que es un parámetro de la inhibición del crecimiento tumoral, reveló una ligera actividad antitumoral de la sustancia de prueba cuando se usó como monoterapia ya que redujo en un 27% el tamaño del tumor en comparación con el grupo 1 tratado con vehículo. Sin embargo, cuando se combinó con CDDP, la tasa de inhibición alcanzó una reducción del 74% del tamaño del tumor en relación con el grupo 1 tratado con vehículo.

- 15 Estos resultados demuestran directamente que 168A-T2 tiene una potente actividad antitumoral cuando se usa solo o en combinación con un agente citotóxico tal como CDDP.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> GENE SIGNAL INTERNATIONAL SA

<120> Fármaco, medicamento, composición antitumoral y uso de los mismos

- 20 <130> BTC080084QT

<160> 23

<70> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 6160

- 25 <212> ADN

<213> Homo sapiens

LISTA DE SECUENCIAS

<110> GENE SIGNAL INTERNATIONAL SA

<120> Fármaco, medicamento, composición antitumoral y uso de los mismos

<130> BTC080084QT

<160> 23

<70> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 6160

<212> ADN

<213> Homo sapiens

```

<400> 1
ct cgcgagga gagcggagca ggcgcgcggc ccaggcggag gagcgccgac tct ggagcag 60
ccggagct gg aagaggagga ggaggagagg cggcggggaa ggaggaggag ggggagagt c 120
gct cccgccg ggcgagcat g gggcgccct gg cct cgaggcc gct gct gct g gcgct cct gt 180
cgt tggct ct t tgcgaggg cgt gt ggt ga gagt cccac agcgaccct g gt t cgagt gg 240
t gggcact ga gct ggt cat c ccct gcaacg t cagt gact a t gat ggccc agcgagcaaa 300
act t t gact g gagct t ct ca t ct t t gggga gcagct t t gt ggagct t gca agcacct ggg 360
aggt ggggt t ccagcccag ct gt accagg agcggct gca gaggggag at cct gt t aa 420
ggcggact gc caacgacgcc gt ggagct cc acat aaagaa cgt ccagcct t cagaccaag 480
gccact acaa at gt t caacc ccagcacag at gccact gt ccagggaac t at gaggaca 540
cagt gcaggt t aaagt gct g gccgact ccc t gcagct ggg cccagcgcg cggccccgc 600
cgagcct gag cct cggggag ggggagccct t cgagct gcg ct gact gcc gcct ccgct 660
cgccgct gca cagcacct g gcgct gct gt gggaggt gca ccgcggccc gccaggcgga 720
gcgt cct cgc cct gacccac gagggcaggt t caccggg cct ggggt ac gacgagcgt 780
accacagt gg ggacgt gcgc ct cgacaccg t gggcagcga cgcct accgc ct ct cagt gt 840
cccgggct ct gt ct gccgac cagggt cct acaggt gt at cgt cagcgag t ggat cgccg 900
agcagggcaa ct ggcaggaa at ccaagaaa aggcgt gga agt t gccacc gt ggt gal cc 960
agccat cagt t ct gcgagca gct gt gccca agaat gt gt c t gt ggct gaa ggaaaggaac 1020
t ggacct gac ct gt aacat c acaacagacc gagccgat ga cgt ccggccc gaggt gacgt 1080
ggc cct t cag caggat gcct gacagcacc t acct ggct c ccgct gt t g gcgaggct t g 1140
accgt gal t c cct ggt gcac agct cgcct c at gt t gct t t gagi cal gt g gal gcacgt 1200
cct accat t t act ggt t cgg gal gt t agca aagaaaact c t ggct act at t act gccacg 1260
t gt cct gt g ggcacccgga cacaacagga gct ggcacaa agt ggcagag gccgt gt ct t 1320
ccccagct gg t gt ggggt gt g acct ggct ag aaccagact a ccaggt gt ac ct gaat gct t 1380
ccaaggt ccc cgggt t t gcg gal gaccca cagagct ggc at gccgggt g gt ggacacga 1440
agagt gggga ggcgaat gt c cgat t cacgg t t t cgt ggt a ct acaggat g aaccggcgca 1500
gcgacaat gt ggt gaccagc gagct gct t g cagt cal gga cggggact gg acgct aaaat 1560

```

ES 2 674 710 T3

atggagagag gagcaagcag cgggcccagg atggagactt tat t t t t t t ct aaggaacat a 1620
 cagacacgtt caat t t ccgg at ccaaagga ctacagagga agacagaggc aat t at t act 1680
 gtgttgtgtc tgcctggacc aaacagcggg acaacagctg ggtgaaaagc aaggatgtct 1740
 tctccaagcc tgttaacat a t t t t gggcat tagaagattc cgtgcttgtg gtgaaggcga 1800
 ggcagccaaa gcct t t c t t t gctgccggaa atacatttga gatgacttgc aaagtatctt 1860
 ccaagaat at taagtgcga cgtactctg t t ct cat cat ggctgagaag cctgtcggcg 1920
 acctctccag tccaatgaa acgaagtaca tcatctctct ggaccaggat tctgtggtga 1980
 agctggagaa ttggacagat gcatcacggg tggatggcgt tgt t t t agaa aaagtgcagg 2040
 aggatgagtt ccgctatcga atgtaccaga ctcaggtctc agacgcaggg ctgtaccgt 2100
 gcatggtgac agcctggtct cctgtcaggg gcagcct t t g gcgagaagca gcaaccagt c 2160
 tctccaatcc tat t gagat a gact t ccaaa cctcaggtcc tat at t t aat gct t ct gt gc 2220
 at t cagacac accatcagt a at t cggggag atctgatcaa at t gt t ct gt at cat cact g 2280
 t caggggagc agcactggat ccagatgaca tggcct t t ga tgtgtcctgg t t t gcgggtgc 2340
 actct t t t gg cctggacaag gctcctgtgc t cctgtcttc cctggatcgg aagggcatcg 2400
 tgaccacctc ccggaggggac t ggaagagcg acctcagcct ggagcgcggtg agtgtgctgg 2460
 aat t ct t gct gcaagtgc at ggctccgagg accaggactt tggcaactac t actgt t ccg 2520
 tgactccatg ggtgaagtca ccaacaggtt cctggcagaa ggaggcagag atccactcca 2580
 agcccg t t t t t at aactgtg aagatggatg t gctgaacgc ct t caagt at ccct t gct ga 2640
 t cggcggtcgg tctgtccacg gtcatcgggc t cctgtcctg tctcatcggg t actgcagct 2700
 cccactggtg t t gt aagaag gaggt t cagg agacacggcg cgagcgccgc aggtcatgt 2760
 cgatggagat ggactaggct ggccccgggag gggagt gaca gagggacgt t ctaggagcaa 2820
 t t ggggcaag aagaggacag t gat at t t t t aaacaaagt g t gt t aact a aaaaccagt c 2880
 ctctctaatc t caggtggga ct t ggcgctc tctct t t t ct gcatgtcaag t t ct gagcg 2940
 ggacatgt t t accagcacac ggctct t c t t cccacggcac t t t ct gat gt aacaatcgag 3000
 tgtgtgt t t t cccaactgca gct t t t t aat gg t t aacctt catctaat t t t t t t ccc 3060
 actggt t t at agatcctctg act t gt gt gt gt t t at agct t t t gt t t cgc ggggt t gt gg 3120
 t gagggaagg gtgatggcat gcggagt t ct t t at ct t cag t gagaatgtg cctgcccgcc 3180
 t gagagccag ct t ccgcgt t ggaggcacgt gt t cagagag ct gct gagcg ccacctct a 3240
 cccggctgac agacaacaca gacctgtgcc gaaggctaat t t gt ggct t t t acgacct a 3300
 cccaccccc t g t t t t cagg ggt t t agact acat t t gaaa t ccaaact t g gagt at at aa 3360
 ct t ct t at t g agcccaactg ct t t t t t t t t t t t t t t gct t ct ct gc ccct t t t cca 3420
 t t t ct t t t gt at t t gt t t t c t gt gagagca ct gaaatggc agccctggaa t ct acaat t t 3480
 ggctctccac t gaggacctt at ct t gccac ct t agcct t a agaatgaat a t gaagaaaaa 3540
 t acacagcca cctctgtcca gggcagt aag aagggt gca aggaagggga ggt ggggac 3600

ES 2 674 710 T3

aaggaaagga t cagat acct gct ccagt ag t t gt gaggcc act gt gt ct c aggggact cc 3660
aggaggagca gaagagggat cccacgaagt t att ct t acg cagct ggggc caggagggt c 3720
agagt ggt gc caggt gcaag t t aggt aaa gaagccacca ct att cct ct ct ct t gcca 3780
t t gt gggggg caaaggcat t ggt caccaag agt ct t gcag ggggaccac agat at gcca 3840
t gt cct t cac acgt gct t gg gct cct t aac ct gaaggcaa at t gct act t gcaagact ga 3900
ct gact t caa ggaat cagaa att acct aga agcaccat gt t t t t ct at g acct t t t cag 3960
t cct t caggt cat t t t aagg t cact gcag ggggt t agt g agaaagggt a t act t t gt gg 4020
t at gt t t t gc t t t cct aat a gggacat gaa ggaaaccag caat t t gct g t t at gt gaat 4080
ggcct gt aga gcagagt caa gagcgggt gt g ct t t gccga ct gct ccat caggaat agg 4140
agagt agaca gagat ct t cc acat cccagg ct t ct gct gc t gct t t aaaa gct ct gt cct 4200
t ggagcct cc cgct cct ga agt gt ct cgc cccct gcaca gact ggcct t t cggaagca 4260
t cccagt agg gt t t t ct gag gct cgct ggt gact cat gcc ct aat t gcaa t cct ct gct t 4320
t t at ct t gac t t t gaaggat ct aacact gc t ct ct ct t cc aaaggggaaa aaaagat t ca 4380
t t t gt t t t ga gcaat aaact aat acaaaat gat ggccat t cat gt gcagc t ct t t gt cac 4440
cat gggccgg at gagt t gt g ct cct cct gg ct caccat t t cccct gct c cccacagcc 4500
gggt t ct gcac t t at caccga gt cgcccc t g gaagcagat t cccat t gact t t t cccacc 4560
aaggggacca t gcacat ggt agaaacat t a gat t ct gcat t gacagt agc ct t t cct t gg 4620
cccgggcct g t ggt gggaag acgggcaaca agt at acccc accagggcct gact gact ag 4680
aggaagagga cgaggcct t g t t ggcact ag att t ggt at t t t ct gcat g t cat aacat a 4740
t cct aact gc t att t cagaa gaggcagct t gt aggt gat t gt acaagt ga gaat t aaaga 4800
gagaacagat att t aaacag gt gct gt att agt aacagcc agt gccct t t cagccct t gc 4860
at ct att t aaa aggagat t ca ggat t t t att ggcacaggcc ct t ct t agt a ggaagaaagg 4920
gt gct t agct t t ggacct ga ccgggt gt gt gt aaaacat ggact gact c acagcagaca 4980
ct cgat ggt g gt aaat gt ga t ggggt gct t a cact gt ac ct t t cct t t cat act gat g 5040
ct gcagt t ca gggct ggagt t gt t aaggca t t gacct cca cccacct gcc ccat gt ccac 5100
t gggct gcc aagct gcat g t cact gagg gct ggcagga aggggcgaga aat cccagg 5160
cat t gt acca aggacct agt t cct t ct agg gat at aaat t t ccaggaat g t gt att t t t a 5220
at gt ggt gag at gact ct t t t gt t gt acc aaat agggct cccacccca cccct gcgac 5280
aagt gct ct t ct agaacagg t t cct accag cagcact ggt gt gaat gaaa gagagacca 5340
gccgcgt ct c acacagggt gg aat t gact t ct t acaaaa aggaact t t a taaaagt t t g 5400
ggatt t t t t t t cct aat cat aaaaat agcc ccagaaagag cct aagct at gt t cagat ag 5460
aagcct cgaa att cct gt aa att gt t t act t t at gat gt t t acat acacg t t t cact t t g 5520
aaaaaaaat g caaat cgact t t t t aacaac t gt t gagat g t t t cat ggga cagt agaact 5580
ct gact cacc aact gggct a aat t t t aat t t aaaaat gt a t t t att t gag t gt ct t t ccc 5640
ccct cacc t caccat ct g aggggct ccc t gagat ct t g gt agaggagg cccct cct gc 5700

ES 2 674 710 T3

```

ccagaccttc gtttgtttcc ccggtggccc ttgcttcttg ctttgcagac tgcctgcagc 5760
catgattttg tcaactgacat ctgtgagcca aagactgagc ctttttggca ggaataalaa 5820
gcaatactac acaacttgct actttcagaa aacttttttt tagcttcacc gatgacaaca 5880
gaggaagaag ggaactggga tttgggtaag ttctctcca ctgtttgacc aaattctcag 5940
tgataaatat gtgtgcagat ccctagaaga gaaaacgctg actttctttt taagtgtggc 6000
acataaggat ctgcagaatt ttccgtagac aaagaaagga tcttgtgtat ttttgtccat 6060
atccaatgtt atatgaacta attgtatgtt ttatactgt gaccacaaat attatgcaat 6120
gcaccatttg ttttttatit cattaaagga agtttaattt 6160

```

<210> 2

<211> 924

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 2

```

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

```


ES 2 674 710 T3

Tyr Glu Asp Thr Val Gln Val Lys Val Leu Ala Asp Ser Leu His Val
 180 185 190
 Gly Pro Ser Ala Arg Pro Pro Pro Ser Leu Ser Leu Arg Glu Gly Glu
 195 200 205
 Pro Phe Glu Leu Arg Cys Thr Ala Ala Ser Ala Ser Pro Leu His Thr
 210 215 220
 His Leu Ala Leu Leu Trp Glu Val His Arg Gly Pro Ala Arg Arg Ser
 225 230 235 240
 Val Leu Ala Leu Thr His Glu Gly Arg Phe His Pro Gly Leu Gly Tyr
 245 250 255
 Glu Gln Arg Tyr His Ser Gly Asp Val Arg Leu Asp Thr Val Gly Ser
 260 265 270
 Asp Ala Tyr Arg Leu Ser Val Ser Arg Ala Leu Ser Ala Asp Gln Gly
 275 280 285
 Ser Tyr Arg Cys Ile Val Ser Glu Trp Ile Ala Glu Gln Gly Asn Trp
 290 295 300
 Gln Glu Ile Gln Glu Lys Ala Val Glu Val Ala Thr Val Val Ile Gln
 305 310 315 320
 Pro Ser Val Leu Arg Ala Ala Val Pro Lys Asn Val Ser Val Ala Glu
 325 330 335
 Gly Lys Glu Leu Asp Leu Thr Cys Asn Ile Thr Thr Asp Arg Ala Asp
 340 345 350
 Asp Val Arg Pro Glu Val Thr Trp Ser Phe Ser Arg Met Pro Asp Ser
 355 360 365
 Thr Leu Pro Gly Ser Arg Val Leu Ala Arg Leu Asp Arg Asp Ser Leu
 370 375 380
 Val His Ser Ser Pro His Val Ala Leu Ser His Val Asp Ala Arg Ser
 385 390 395 400
 Tyr His Leu Leu Val Arg Asp Val Ser Lys Glu Asn Ser Gly Tyr Tyr
 405 410 415
 Tyr Cys His Val Ser Leu Trp Ala Pro Gly His Asn Arg Ser Trp His
 420 425 430
 Lys Val Ala Glu Ala Val Ser Ser Pro Ala Gly Val Gly Val Thr Trp
 435 440 445
 Leu Glu Pro Asp Tyr Gln Val Tyr Leu Asn Ala Ser Lys Val Pro Gly

ES 2 674 710 T3

450		455		460											
Phe 465	Ala	Asp	Asp	Pro	Thr 470	Glu	Leu	Ala	Cys	Arg 475	Val	Val	Asp	Thr	Lys 480
Ser	Gly	Glu	Ala	Asn 485	Val	Arg	Phe	Thr	Val 490	Ser	Trp	Tyr	Tyr	Arg 495	Met
Asn	Arg	Arg	Ser 500	Asp	Asn	Val	Val	Thr 505	Ser	Glu	Leu	Leu	Ala 510	Val	Met
Asp	Gly	Asp 515	Trp	Thr	Leu	Lys	Tyr 520	Gly	Glu	Arg	Ser	Lys 525	Gln	Arg	Ala
Gln 530	Asp	Gly	Asp	Phe	Ile	Phe 535	Ser	Lys	Glu	His	Thr 540	Asp	Thr	Phe	Asn
Phe 545	Arg	Ile	Gln	Arg	Thr 550	Thr	Glu	Glu	Asp	Arg 555	Gly	Asn	Tyr	Tyr	Cys 560
Val	Val	Ser	Ala	Trp 565	Thr	Lys	Gln	Arg	Asn 570	Asn	Ser	Trp	Val	Lys 575	Ser
Lys	Asp	Val	Phe 580	Ser	Lys	Pro	Val	Asn 585	Ile	Phe	Trp	Ala	Leu 590	Glu	Asp
Ser	Val	Leu 595	Val	Val	Lys	Ala	Arg 600	Gln	Pro	Lys	Pro	Phe 605	Phe	Ala	Ala
Gly	Asn	Thr 610	Phe	Glu	Met	Thr 615	Cys	Lys	Val	Ser	Ser 620	Lys	Asn	Ile	Lys
Ser 625	Pro	Arg	Tyr	Ser	Val 630	Leu	Ile	Met	Ala	Glu 635	Lys	Pro	Val	Gly	Asp 640
Leu	Ser	Ser	Pro	Asn 645	Glu	Thr	Lys	Tyr	Ile 650	Ile	Ser	Leu	Asp	Gln 655	Asp
Ser	Val	Val	Lys 660	Leu	Glu	Asn	Trp	Thr 665	Asp	Ala	Ser	Arg	Val 670	Asp	Gly
Val	Val	Leu 675	Glu	Lys	Val	Gln	Glu 680	Asp	Glu	Phe	Arg	Tyr 685	Arg	Met	Tyr
Gln 690	Thr	Gln	Val	Ser	Asp	Ala 695	Gly	Leu	Tyr	Arg	Cys 700	Met	Val	Thr	Ala
Trp 705	Ser	Pro	Val	Arg	Gly 710	Ser	Leu	Trp	Arg	Glu 715	Ala	Ala	Thr	Ser	Leu 720
Ser	Asn	Pro	Ile	Glu 725	Ile	Asp	Phe	Gln	Thr 730	Ser	Gly	Pro	Ile	Phe 735	Asn

ES 2 674 710 T3

Ala Ser Val His Ser Asp Thr Pro Ser Val Ile Arg Gly Asp Leu Ile
740 745 750

Lys Leu Phe Cys Ile Ile Thr Val Glu Gly Ala Ala Leu Asp Pro Asp
755 760 765

Asp Met Ala Phe Asp Val Ser Trp Phe Ala Val His Ser Phe Gly Leu
770 775 780

Asp Lys Ala Pro Val Leu Leu Ser Ser Leu Asp Arg Lys Gly Ile Val
785 790 795 800

Thr Thr Ser Arg Arg Asp Trp Lys Ser Asp Leu Ser Leu Glu Arg Val
805 810 815

Ser Val Leu Glu Phe Leu Leu Gln Val His Gly Ser Glu Asp Gln Asp
820 825 830

Phe Gly Asn Tyr Tyr Cys Ser Val Thr Pro Trp Val Lys Ser Pro Thr
835 840 845

Gly Ser Trp Gln Lys Glu Ala Glu Ile His Ser Lys Pro Val Phe Ile
850 855 860

Thr Val Lys Met Asp Val Leu Asn Ala Phe Lys Tyr Pro Leu Leu Ile
865 870 875 880

Gly Val Gly Leu Ser Thr Val Ile Gly Leu Leu Ser Cys Leu Ile Gly
885 890 895

Tyr Cys Ser Ser His Trp Cys Cys Lys Lys Glu Val Gln Glu Thr Arg
900 905 910

Arg Glu Arg Arg Arg Leu Met Ser Met Glu Met Asp
915 920

<210> 3

<211> 327

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 3

```
atggcctttg atgtgtcctg gtltgcggtg cactcttttg gcctggacaa ggctcctgtg      60
ctcctgtctt ccctggatcg gaagggcatc gtgaccacct cccggaggga ctggaagagc      120
gacctcagcc tggagcgcgt gagtggctg gaattcttgc tgaagtgca tggctccgag      180
gaccaggact ttggcaacta ctactgttcc gtgactccat gggagaagtc accaacaggt      240
tcctggcaga aggaggcaga gatccactcc aagcccggtt ttataactgt gaagatggat      300
gtgctgaacg ccttcaagta tccctga                                           327
```

ES 2 674 710 T3

<210> 4
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4

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

<210> 5
 <211> 1049
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (960)..(960)
 <223> n i s a, c, g, o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (963)..(963)
 <223> n i s a, c, g, o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (977)..(978)
 <223> n i s a, c, g, o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (981)..(981)
 <223> n i s a, c, g, o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (994)..(996)
 <223> n i s a, c, g, o t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (998)..(998)

<223> n i s a, c, g, o t

<220>
<221> m i s c _ f e a t u r e
<222> (1 0 1 2) . . (1 0 1 3)
<223> n i s a, c, g, o t

<220>
<221> m i s c _ f e a t u r e
<222> (1 0 1 9) . . (1 0 1 9)
<223> n i s a, c, g, o t

<220>
<221> m i s c _ f e a t u r e
<222> (1 0 2 3) . . (1 0 2 3)
<223> n i s a, c, g, o t

<220>
<221> m i s c _ f e a t u r e
<222> (1 0 2 9) . . (1 0 2 9)
<223> n i s a, c, g, o t

<220>
<221> m i s c _ f e a t u r e
<222> (1 0 3 6) . . (1 0 3 6)
<223> n i s a, c, g, o r t

<220>
<221> m i s c _ f e a t u r e
<222> (1 0 4 7) . . (1 0 4 7)
<223> n i s a, c, g, o t

<400> 5
t t c c c c t c t a g a a t a a t t t t g t t t a a c t t t a a g a a g g a g a t a t a c a t a t g c a c c a t c a t 60
c a t c a t c a t t c t t c t g g t c t g g t g c c a c g c g g t t c t g g t a t g a a a g a a a c c g t g c t g c t 120
a a a t t c g a a c g c c a g c a c a t g g a c a g c c c a g a t c t g g g t a c c g a t g a c g a c g a c a a g a t g 180
g c c t t t g a t g t g t c c t g g t t t g c g g t g c a c t c t t t t g g c c t g g a c a a g g c t c c t g t g c t c 240
c t g t c t t c c c t g g a t c g g a a g g c a t c g t g a c c a c c t c c c g g a g g g a c t g g a a g a g c g a c 300
c t c a g c c t g g a g c g c t g a g t g t g c t g g a a t t c t t g c t g c a a g t g c a t g g c t c c g a g g a c 360
c a g g a c t t t g g c a a c t a c t a c t g t t c c g t g a c t c c a t g g g t g a a g t c a c c a a c a g g t t c c 420
t g g c a g a a g g a g c a g a g a t c c a c t c c a a g c c c g t t t t t a t a a c t g t g a a g a t g g a t g t g 480
c t g a a c g c c t t c a a g t a t c c c t g a a c c g g g c t t c t c c t c a a c c a t g g c g a t a t c g g a t c c 540
g a a t t c g a g c t c c g t c g a c a a g c t t g c g g c c g c a c t c g a g c a c c a c c a c c a c c a c c a c t g 600
a g a t c c g g c t g c t a a c a a a g c c c g a a a g g a a g c t g a g t t g g c t g c t g c c a c c g t g a g c a 660
a t a a c t a g c a t a a c c c c t t g g g c c t c t a a a c g g g t c t t g a g g g t t t t t t g c t g a a a g g 720
a g g a a c t a t a t c c g g a t t g g c g a a t g g g a c g c g c c c t g t a g c g g c g c a t t a a g c g c g g c g 780
g g t g t g g t g g t t a c g c g c a g c g t g a c c g c t a c a c t t g c c a g c g c c c t a g c g c c g c t c t t 840
t c g c t t t c t t c c t t c c t t t c t c g c c a c g t t c g c g g c t t t c c c g t c a a g c t c t a a a t c g 900
g g g c t c c c t t t a g g g t t c c g a t t t a g t g c t t a c g g c c c t c g a c c c c a a a a a c t t g a t t a n 960
g g n g a t g g t t c a c g t a n n g g n c a t c c c c t g a t a n n n g n t t t t c g c c t t t g a n n t g g a g n c 1020
c c n t t c t t n a t a g g n a c c t t g t t c c n a a 1049

ES 2 674 710 T3

<210> 6
 <211> 151
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 6

```
Met His His His His His His Ser Ser Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser
1      5      10      15

Gly Met Lys Glu Thr Ala Ala Ala Lys Phe Glu Arg Gln His Met Asp
20      25      30

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

Ser Trp Phe Ala Val His Ser Phe Gly Leu Asp Lys Ala Pro Val Leu
50      55      60

Leu Ser Ser Leu Asp Arg Lys Gly Ile Val Thr Thr Ser Arg Arg Asp
65      70      75      80

Trp Lys Ser Asp Leu Ser Leu Glu Arg Val Ser Val Leu Glu Phe Leu
85      90      95

Leu Gln Val His Gly Ser Glu Asp Gln Asp Phe Gly Asn Tyr Tyr Cys
100      105      110      115

Ser Val Thr Pro Trp Val Lys Ser Pro Thr Gly Ser Trp Gln Lys Glu
115      120      125

Ala Glu Ile His Ser Lys Pro Val Phe Ile Thr Val Lys Met Asp Val
130      135      140

Leu Asn Ala Phe Lys Tyr Pro
145      150
```

<210> 7
 <211> 90
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 7

```
Met Ala Phe Asp Val Ser Trp Phe Ala Val His Ser Phe Gly Leu Asp
1      5      10      15

Lys Ala Pro Val Leu Leu Ser Ser Leu Asp Arg Lys Gly Ile Val Thr
20      25      30

Thr Ser Arg Arg Asp Trp Lys Ser Asp Leu Ser Leu Glu Arg Val Ser
35      40      45

Val Leu Glu Phe Leu Leu Gln Val His Gly Ser Glu Asp Gln Asp Phe
50      55      60
```

ES 2 674 710 T3

Gly Asn Tyr Tyr Cys Ser Val Thr Pro Trp Val Lys Ser Pro Thr Gly
65 70 75 80

Ser Trp Gln Lys Glu Ala Glu Ile His Ser
85 90

<210> 8
<211> 77
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 8

Met Ala Phe Asp Val Ser Trp Phe Ala Val His Ser Phe Gly Leu Asp
1 5 10 15

Lys Ala Pro Val Leu Leu Ser Ser Leu Asp Arg Lys Gly Ile Val Thr
20 25 30

Thr Ser Arg Arg Asp Trp Lys Ser Asp Leu Ser Leu Glu Arg Val Ser
35 40 45

Val Leu Glu Phe Leu Leu Gln Val His Gly Ser Glu Asp Gln Asp Phe
50 55 60

Gly Asn Tyr Tyr Cys Ser Val Thr Pro Trp Val Lys Ser
65 70 75

<210> 9
<211> 66
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 9

Met Ala Phe Asp Val Ser Trp Phe Ala Val His Ser Phe Gly Leu Asp
1 5 10 15

Lys Ala Pro Val Leu Leu Ser Ser Leu Asp Arg Lys Gly Ile Val Thr
20 25 30

Thr Ser Arg Arg Asp Trp Lys Ser Asp Leu Ser Leu Glu Arg Val Ser
35 40 45

Val Leu Glu Phe Leu Leu Gln Val His Gly Ser Glu Asp Gln Asp Phe
50 55 60

Gly Asn
65

<210> 10
<211> 51
<212> PRT
<213> Homo sapiens

ES 2 674 710 T3

<400> 10

Met Ala Phe Asp Val Ser Trp Phe Ala Val His Ser Phe Gly Leu Asp
1 5 10 15

Lys Ala Pro Val Leu Leu Ser Ser Leu Asp Arg Lys Gly Ile Val Thr
20 25 30

Thr Ser Arg Arg Asp Trp Lys Ser Asp Leu Ser Leu Glu Arg Val Ser
35 40 45

Val Leu Glu
50

<210> 11

<211> 37

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Met Ala Phe Asp Val Ser Trp Phe Ala Val His Ser Phe Gly Leu Asp
1 5 10 15

Lys Ala Pro Val Leu Leu Ser Ser Leu Asp Arg Lys Gly Ile Val Thr
20 25 30

Thr Ser Arg Arg Asp
35

<210> 12

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Ala Phe Asp Val Ser Trp Phe Ala Val His Ser Phe Gly Leu Asp
1 5 10 15

Lys Ala Pro Val
20

<210> 13

<211> 270

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 13

atggcctttg atgtgtcctg gtttgcggtg cactcttttg gcctggacaa ggctcctgtg	60
ctcctgtctt ccctggatcg gaagggcatc gtgaccacct cccggaggga ctggaagagc	120
gacctcagcc tggagcgcgt gagtgtgctg gaattcttgc tgaagtga tggctccgag	180
gaccaggact ttggcaacta ctactgttcc gtgactccat gggagaagtc accaacaggt	240
tcttggcaga aggaggcaga gatccactcc	270

ES 2 674 710 T3

<210> 14
 <211> 231
 <212> ADN
 <213> Homo sapi ens

<400> 14
 atggcctttg atgtgtcctg gtttgcggtg cactcttttg gcctggacaa ggctcctgtg 60
 ct cctgtctt ccctggatcg gaagggcatc gtgaccacct cccggaggga ctggaagagc 120
 gacctcagcc tggagcgcgt gagggtgctg gaattcttgc tgaagtgca tggctccgag 180
 gaccaggact ttggcaacta ctactgttcc gtgactccat ggggaagtc a 231

<210> 15
 <211> 198
 <212> ADN
 <213> Homo sapi ens

<400> 15
 atggcctttg atgtgtcctg gtttgcggtg cactcttttg gcctggacaa ggctcctgtg 60
 ct cctgtctt ccctggatcg gaagggcatc gtgaccacct cccggaggga ctggaagagc 120
 gacctcagcc tggagcgcgt gagggtgctg gaattcttgc tgaagtgca tggctccgag 180
 gaccaggact ttggcaac 198

<210> 16
 <211> 153
 <212> ADN
 <213> Homo sapi ens

<400> 16
 atggcctttg atgtgtcctg gtttgcggtg cactcttttg gcctggacaa ggctcctgtg 60
 ct cctgtctt ccctggatcg gaagggcatc gtgaccacct cccggaggga ctggaagagc 120
 gacctcagcc tggagcgcgt gagggtgctg gaa 153

<210> 17
 <211> 111
 <212> ADN
 <213> Homo sapi ens

<400> 17
 atggcctttg atgtgtcctg gtttgcggtg cactcttttg gcctggacaa ggctcctgtg 60
 ct cctgtctt ccctggatcg gaagggcatc gtgaccacct cccggaggga c 111

<210> 18
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Homo sapi ens

<400> 18
 atggcctttg atgtgtcctg gtttgcggtg cactcttttg gcctggacaa ggctcctgtg 60

<210> 19
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Homo sapi ens

<400> 19

ES 2 674 710 T3

gacgacgaca agatggcctt t gatgtgtcc tggtttg 37

<210> 20
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Homo sapi ens

<400> 20
 gaggagaagc ccggttcagg gat acttgaa ggcgttcagc aca 43

<210> 21
 <211> 6172
 <212> ADN
 <213> homo sapi ens

<400> 21
 ct cgcgagga gagcggagca ggcgcgcggc ccaggcggag gagcgcgcac tctggagcag 60
 ccggagctgg aagaggagga ggaggagagg cggcggggaa ggaggaggag ggggagagt c 120
 gctcccgccg ggcgagcatg gggcgccctgg cctcgaggcc gctgctgctg gcgctcctgt 180
 cgttggctct ttgccgaggg cgtgtggtga gagtccccac agcgaccctg gttcgagtgg 240
 tgggcactga gctggtcatc cctgcaacg tcagt gacta t gatggcccc agcgagcaaa 300
 actttgactg gagcttctca tctttgggga gcagctttgt ggagcttgca agcacctggg 360
 aggtggggtt ccagccccag ctgtaccagg agcggctgca gaggggcgag atcctgttaa 420
 ggcggactgc caacgacgcc gtggagctcc acat aaagaa cgtccagcct tcagaccaag 480
 gccactacaa atgttcaacc ccagcacag atgccactgt ccagggaaac tataggaca 540
 cagtgcaggt taaagt gctg gccgactccc tgcagctggg ccccgagcgc cggccccgcg 600
 cgagcctgag cctgcgggag ggggagccct tcgagctgcg ctgcactgcc gcctccgctt 660
 cgccgctgca cagcacctg gcgctgctgt gggagggtgca ccgcggcccc gccaggcgga 720
 gcgtcctcgc cctgaccacg gagggcaggt tccaccggg cctggggtac gagcagcgt 780
 accacagtgg ggagctgcgc ctcgacaccg tgggcagcga cgcctaccgc ctctcagtgt 840
 cccgggctct gtctgccgac cagggtcct acaggtgtat cgtcagcgag tggatcgccg 900
 agcagggcaa ctggcaggaa atccaagaaa aggccgtgga agttgccacc gtggtgatcc 960
 agccgacagt tctgcgagca gctgtgccca agaattgtgtc tgtggctgaa ggaaaggaac 1020
 tggacctgac ctgt aacatc acaacagacc gagccgatga cgtccggccc gaggtgacgt 1080
 ggtccttcag caggatgcct gacagcaccc tacttggctc ccgcgtgttg gcgcggcttg 1140
 accgtgattc cctggtgcac agctcgccctc atgttgcctt gagtcatgtg gatgcacgt 1200
 cctaccattt actggttcgg gatgttagca aagaaaactc tggctactat tactgccacg 1260
 tgtccctgtg ggcaccggga cacaacagga gctggcacia agtggcagag gccgtgtctt 1320
 cccagctgg tgtgggtgtg acctggctag aaccagacta ccaggtgtac ctgaatgctt 1380
 ccaaggtccc cgggttttgcg gatgaccca cagagctggc atgccaggtg gtggacacga 1440
 agagtgggga ggcgaatgtc cgattcacgg ttctcgtggtat ctacaggatg aaccggcgca 1500
 gcgacaatgt ggtgaccagc gagctgcttg cagtcatgga cggggactgg acgctaaaat 1560

atggagagag gagcaagcag cgggcccagg atggagactt tattttttct aaggaacat a 1620
 cagacacgtt caatttccgg atccaaagga ctacagagga agacagaggg aattatttact 1680
 gtgttgtgtc tgcctggacc aaacagcggg acaacagctg ggtgaaaagc aaggatgtct 1740
 tctccaagcc tgttaacata ttttgggcat tagaagattc cgtgcttgtg gtgaaggcga 1800
 ggcagccaaa gcctttcttt gctgccggaa atacatttga gatgacttgc aaagtatctt 1860
 ccaagaatat taagtgcga cgctactctg ttctcatcat ggctgagaag cctgtcggcg 1920
 acctctccag tcccaatgaa acgaagtaca tcatctctct ggaccaggat tctgttgtga 1980
 agctggagaa ttggacagat gcatcacggg tggatggcgt tgttttagaa aaagtgcagg 2040
 aggatgagtt ccgctatcga atgtaccaga ctgaggtctc agacgcaggg ctgtaccgt 2100
 gcatggtgac agccttgtct cctgtcaggg gcagcctttg gcgagaagca gcaaccagt c 2160
 tctccaatcc tattgagata gacttccaaa cctcaggtcc tatattttaa gcttctgtgc 2220
 attcagacac accatcagta attcggggag atctgatcaa attgttctgt atcatcactg 2280
 tcgagggagc agcactggat ccagatgaca tggcctttga tgtgtcctgg ttfgcgggtgc 2340
 actcttttgg cctggacaag gctcctgtgc tctgtcttc cctggatcgg aagggcatcg 2400
 tgaccacctc ccggagggac tggagagcgg acctcagcct ggagcgcgtg agtgtgtgg 2460
 aattcttgct gcaagtgc atggcctcagg accaggactt tggcaactac tactgttccg 2520
 tgactccatg ggtgaagtca ccaacaggtt cctggcagaa ggaggcagag atccactcca 2580
 agcccgtttt tataaactgtg aagatggatg tgcgtgaacgc ctccaagtat cccttgcgtga 2640
 tcggcatcgg tctgtccacg gtcatcgggc tctgtcctg tctcatcggg tactgcagct 2700
 cccactggtg ttgtagaag gaggttcagg agacacggcg cgagcgccgc aggctcatgt 2760
 cgatggagat ggactaggct ggcccgggag gggagtgcga gagggacgtt ctaggagcaa 2820
 ttggggcaag aagaggacag tgaatttta aaacaaagtg tgttacct aaaaaccagt c 2880
 ctctctaatc tcaggtggga ctggcgctc tctcttttct gcatgtcaag ttctgagcgc 2940
 ggacatgttt accagcacac ggctcttctt cccacggcac ttctctgatgt aacaatcgag 3000
 tgtgtgtttt cccaactgca gctttttaat ggttaacctt catctaat ttcttctccc 3060
 actggtttat agatcctctg acttgtgtgt gtttatagct ttgtgttgcg ggggttgtgg 3120
 tgaggaaggg gtgatggcat gcggagtct ttatcttcag tgagaatgtg cctgcccgcc 3180
 tgagagccag ctccgcgtt ggaggcacgt gttagagag ctgctgagcg ccaccctcta 3240
 cccggctgac agacaacaca gacctgtgcc gaaggctaat ttgtggcttt tacgacccta 3300
 cccaccccc ttgtttcagg ggtttagact acatttgaaa tccaaacttg gagtataaa 3360
 cttttttttg agcccaactg cttttttttt tttttttttt gcttctctgc cccttttcca 3420
 tttcttttgt atttgttttc tgtgagagca ctgaaatggc agccctggaa tctacaattt 3480
 ggctctccac tgagcacctt atcttgccac cttagcctta agaataat tgaagaaaaa 3540
 tacacagcca cctctgtcca gggcagt aag aagggtgca aggaagggga ggtggggac 3600

ES 2 674 710 T3

aaggaaagga t cagat acct gct ccagt ag t t gt gaggcc act gt gt ct c aggggact cc 3660
aggaggagca gaagagggat cccacgaagt t at t ct t acg cagct ggggc caggagggg c 3720
agagt ggt gc caggt gcaag t t aggc t aaa gaagccacca ct at t cct ct ct ct t gccca 3780
t t gt gggggg caaaggcat t ggt caccaag agt ct t gcag ggggacccac agat at gcc 3840
t gt cct t cac acgt gct t gg gct cct t aac ct gaaggcaa at t gct act t gcaagact ga 3900
ct gact t caa ggaat cagaa at t acct aga agcaccat gt t t t t t ct at g acct t t t cag 3960
t cct t caggt cat t t t aagg t ccaact gcag ggggt t agt g agaaaggg t a t act t t gt gg 4020
t at gt t t t gc t t t cct aat a gggacat gaa ggaacccag caat t t gct g t t at gt gaat 4080
ggcct gt aga gcagagt caa gagcgggt gt g ct t t gcccg a ct gct cccat caggaat agg 4140
agagt agaca gagat ct t cc acat cccagg ct t ct gct gc t gct t t aaaa gct ct gt cct 4200
t ggagcct cc cgt cct ga agt gt ct cgc cccct gcaca gcaact ggcct t t cgggaagca 4260
t cccagt agg gt t t t ct gag gct cgt ggt gact cat gcc ct aat t gcaa t cct ct gct t 4320
t t at ct t gac t t t gaaggat ct aacact gc t ct ct ct t cc aaaggggaaa aaaagat t ca 4380
t t t gt t t t ga gcaat aaact aat acaaaat gat ggccat t cat gt gcagc t ct t t gt cac 4440
cat gggccgg at gagt t gt g ct cct cct gg ct caccat t t cccct gct c cccacagcc 4500
ggt t ct gcac t t at caccga gt cggccct g gaagcagat t cccat t gagt t t t cccacc 4560
aaggggacca t gcacat ggt agaaacat t a gat t ct gcat t gacagt agc ct t t cct t gg 4620
cccgggcct g t ggt gggaag acgggcaaca agt at acccc accagggcct gagt gact ag 4680
aggaagagga cgaggcct t g t t ggcact ag at t t ggt at t t t ct gcat g t cat aacat a 4740
t cct aact gc t at t t cagaa gaggcagct t gt aggt gat t gt acaagt ga gaat t aaaga 4800
gagaacaaat at t t aaacag gt gct gt at t agt aacagcc agt gccct t t cagccct t gc 4860
at ct at t aaa aggagat t ca ggal t t t at t ggcacaggcc ct t ct t agt a ggaagaaagg 4920
gt gct t agct t t ggacct ga ccgggt gt gt gt aaaacat ggact gact c acagcagaca 4980
ct cgat ggt g gt aaat gt ga t ggggt gct t a cacact gt ac ct t t t cct t t cat act gat g 5040
ct cgagt t ca gggct ggagt t gt t aaggca t t gacct cca cccacct gcc ccat gt ccac 5100
t gggct gcc aagct gcat g t cacct gagg gct ggcagga aggggcgaga aat cccaggg 5160
cat t gt acca aggacct agt t cct t ct agg gat at aaat t t ccaggaat g t gt at t t t a 5220
at gt ggt gag at gcaact ct t t t gt t gt acc aaat agggct cccacccca cccct gcgac 5280
aagt gct ct t ct agaacagg t t cct accag cagcact ggt gt gaat gaaa gagagacca 5340
gccgct ct c acacaggt gg aat t gcaact t ct t acaaaa aggaact t t a taaaagt t t g 5400
ggat t t t t t t t cct aat cat aaaaa agcc ccagaaagag cct aagct at gt t cagat ag 5460
aagcct cgaa at t cct gt aa at t gt t t act t t at gat gt t t acat acag t t t cact t t g 5520
aaaaaaat g caaat cgact t t t t aacaac t gt t gagat g t t t cat ggga cagt agaact 5580
ct gact cacc aact gggct a aat t t t aat t t aaaaat gt a t t t at t t gag t gt ct t t ccc 5640
ccct cacc t caccat ct g aggggct ccc t gagat ct g gt agaggagg cccct cct gc 5700

ES 2 674 710 T3

ccagaccttc gtttgtttcc ccggtggccc ttgcttcttg ctttgcagac tgcctgcagc 5760
catgattttg tcactgacat ctgtgagcca aagactgagc ctttttggca ggaataataa 5820
gcaatactac acaacttgc t actttcagaa aacttttttt tagcttcacc gatgacaaca 5880
gaggaagaag ggaactggga tttgggt aag ttctctcca ctgtttgacc aaattctcag 5940
tgataaatat gtgtgcagat ccctagaaga gaaaacgtg actttctttt taagtgtggc 6000
acataaggat ctgcagaatt ttccgtagac aaagaaagga tcttgtgtat ttttgtccat 6060
atccaatgtt atatgaacta attgtattgt ttatactgt gaccacaaat attatgcaat 6120
gcaccatttg ttttttattt catlaaagga agtttaattt aaaaaaaaaa aa 6172

<210> 22
<211> 863
<212> PRT
<213> homo sapiens

<400> 22

Met Gly Arg Leu Ala Ser Arg Pro Leu Leu Leu Ala Leu Leu Ser Leu
1 5 10 15

Ala Leu Oys Arg Gly Arg Val Val Arg Val Pro Asn Val Ser Asp Tyr
20 25 30

Asp Gly Pro Ser Glu Gln Asn Phe Asp Trp Ser Phe Ser Ser Leu Gly
35 40 45

Ser Ser Phe Val Glu Leu Ala Ser Thr Trp Glu Val Gly Phe Pro Ala
50 55 60

Gln Leu Tyr Gln Glu Arg Leu Gln Arg Gly Glu Ile Leu Leu Arg Arg
65 70 75 80

Thr Ala Asn Asp Ala Val Glu Leu His Ile Lys Asn Val Gln Pro Ser
85 90 95

Asp Gln Gly His Tyr Lys Oys Ser Thr Pro Ser Thr Asp Ala Thr Val
100 105 110

Gln Gly Asn Tyr Glu Asp Thr Val Gln Val Lys Val Leu Ala Asp Ser
115 120 125

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

Glu Gly Glu Pro Phe Glu Leu Arg Oys Thr Ala Ala Ser Ala Ser Pro
145 150 155 160

Leu His Thr His Leu Ala Leu Leu Trp Glu Val His Arg Gly Pro Ala
165 170 175

ES 2 674 710 T3

Arg Arg Ser Val 180 Leu Ala Leu Thr His 185 Glu Gly Arg Phe His 190 Pro Gly
 Leu Gly Tyr 195 Glu Gln Arg Tyr His 200 Ser Gly Asp Val 205 Arg Leu Asp Thr
 Val Gly 210 Ser Asp Ala Tyr Arg 215 Leu Ser Val Ser 220 Arg Ala Leu Ser Ala
 Asp 225 Gln Gly Ser Tyr Arg 230 Cys Ile Val Ser 235 Glu Trp Ile Ala Glu Gln 240
 Gly Asn Trp Gln 245 Glu Ile Gln Glu Lys 250 Ala Val Glu Val Ala Thr 255 Val
 Val Ile Gln 260 Pro Thr Val Leu Arg Ala 265 Ala Val Pro Lys Asn 270 Val Ser
 Val Ala Glu 275 Gly Lys Glu Leu Asp 280 Leu Thr Cys Asn 285 Ile Thr Thr Asp
 Arg Ala 290 Asp Asp Val Arg Pro 295 Glu Val Thr Trp Ser 300 Phe Ser Arg Met
 Pro 305 Asp Ser Thr Leu Pro 310 Gly Ser Arg Val Leu 315 Ala Arg Leu Asp Arg 320
 Asp Ser Leu Val His 325 Ser Ser Pro His Val 330 Ala Leu Ser His Val 335 Asp
 Ala Arg Ser Tyr 340 His Leu Leu Val Arg 345 Asp Val Ser Lys Glu 350 Asn Ser
 Gly Tyr Tyr 355 Tyr Cys His Val Ser 360 Leu Trp Ala Pro Gly 365 His Asn Arg
 Ser Trp 370 His Lys Val Ala Glu 375 Ala Val Ser Ser 380 Pro Ala Gly Val Gly
 Val 385 Thr Trp Leu Glu Pro 390 Asp Tyr Gln Val Tyr 395 Leu Asn Ala Ser Lys 400
 Val Pro Gly Phe Ala 405 Asp Asp Pro Thr Glu 410 Leu Ala Cys Gln Val 415 Val
 Asp Thr Lys Ser 420 Gly Glu Ala Asn Val 425 Arg Phe Thr Val Ser 430 Trp Tyr
 Tyr Arg Met 435 Asn Arg Arg Ser Asp 440 Asn Val Val Thr Ser 445 Glu Leu Leu
 Ala Val Met Asp Gly Asp Trp Thr Leu Lys Tyr Gly Glu Arg Ser Lys

ES 2 674 710 T3

450 455 460
 Gln Arg Ala Gln Asp Gly Asp Phe Ile Phe Ser Lys Glu His Thr Asp
 465 470 475 480
 Thr Phe Asn Phe Arg Ile Gln Arg Thr Thr Glu Glu Asp Arg Gly Asn
 485 490 495
 Tyr Tyr Cys Val Val Ser Ala Trp Thr Lys Gln Arg Asn Asn Ser Trp
 500 505 510
 Val Lys Ser Lys Asp Val Phe Ser Lys Pro Val Asn Ile Phe Trp Ala
 515 520 525
 Leu Glu Asp Ser Val Leu Val Val Lys Ala Arg Gln Pro Lys Pro Phe
 530 535 540
 Phe Ala Ala Gly Asn Thr Phe Glu Met Thr Cys Lys Val Ser Ser Lys
 545 550 555 560
 Asn Ile Lys Ser Pro Arg Tyr Ser Val Leu Ile Met Ala Glu Lys Pro
 565 570 575
 Val Gly Asp Leu Ser Ser Pro Asn Glu Thr Lys Tyr Ile Ile Ser Leu
 580 585 590
 Asp Gln Asp Ser Val Val Lys Leu Glu Asn Trp Thr Asp Ala Ser Arg
 595 600 605
 Val Asp Gly Val Val Leu Glu Lys Val Gln Glu Asp Glu Phe Arg Tyr
 610 615 620
 Arg Met Tyr Gln Thr Gln Val Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Met
 625 630 635 640
 Val Thr Ala Trp Ser Pro Val Arg Gly Ser Leu Trp Arg Glu Ala Ala
 645 650 655
 Thr Ser Leu Ser Asn Pro Ile Glu Ile Asp Phe Gln Thr Ser Gly Pro
 660 665 670
 Ile Phe Asn Ala Ser Val His Ser Asp Thr Pro Ser Val Ile Arg Gly
 675 680 685
 Asp Leu Ile Lys Leu Phe Cys Ile Ile Thr Val Glu Gly Ala Ala Leu
 690 695 700
 Asp Pro Asp Asp Met Ala Phe Asp Val Ser Trp Phe Ala Val His Ser
 705 710 715 720
 Phe Gly Leu Asp Lys Ala Pro Val Leu Leu Ser Ser Leu Asp Arg Lys
 725 730 735

Gly Ile Val Thr Thr Ser Arg Arg Asp Trp Lys Ser Asp Leu Ser Leu
740 745 750

Glu Arg Val Ser Val Leu Glu Phe Leu Leu Gln Val His Gly Ser Glu
755 760 765

Asp Gln Asp Phe Gly Asn Tyr Tyr Oys Ser Val Thr Pro Trp Val Lys
770 775 780

Ser Pro Thr Gly Ser Trp Gln Lys Glu Ala Glu Ile His Ser Lys Pro
785 790 795 800

Val Phe Ile Thr Val Lys Met Asp Val Leu Asn Ala Phe Lys Tyr Pro
805 810 815

Leu Leu Ile Gly Ile Gly Leu Ser Thr Val Ile Gly Leu Leu Ser Oys
820 825 830

Leu Ile Gly Tyr Oys Ser Ser His Trp Oys Oys Lys Lys Glu Val Gln
835 840 845

Glu Thr Arg Arg Glu Arg Arg Arg Leu Met Ser Met Glu Met Asp
850 855 860

<210> 23
<211> 2197
<212> ADN
<213> homo sapiens

<220>
<221> misc feature
<222> (1037)..(1037)
<223> nisa, c, g, o. t

<220>
<221> misc feature
<222> (1236)..(1236)
<223> nisa, c, g, o. t

<400> 23
gtgcatctcag acacaccatc agt aat t cgg ggagatctga tcaaat t gtt ctgtatcatc 60
actgtcgagg gaggcagcact ggatccagat gacatggcct ttgatgtgtc ctgggtttgcg 120
gtgcactctt ttggcctgga caaggctcct gtgctcctgt cttccctgga tcggaagggc 180
atcgtgacca cctcccgag ggactggaag agcgacctca gcctggagcg cgtgagtgtg 240
ctggaattct tgcgtcaagt gcatggctcc gaggaccagg actttggcaa ctactactgt 300
tccgtgactc catgggtgaa gtaccaaca ggttccctggc agaaggaggc agagatccac 360
tccaagcccg tttttataac tgtgaagatg gatgtgctga acgccttcaa gtatcccttg 420
ctgatcggcg tcggtctgtc cacggtcatc gggctcctgt cctgtctcat cgggtactgc 480
agctcccact ggtgttgt aa gaaggaggtt caggagacac ggcgcgagcg ccgcaggctc 540

atgtcgatgg agatggacta ggctggcccg ggaggggagt gacagagggga cgttctagga 600
 gcaattgggg caagaagagg acagtgat at tttaaaacaa agtgtgttac actaaaaacc 660
 agtccctctt aatctcaggt gggacttggc gctctctctt tctcgcatgt caagttctga 720
 gcgcggacat gtttaccagc acacggctct tcttcccacg gcactttctg atgt aacaat 780
 cgagtgtgtg ttttcccaac tgcagctttt taatggttaa ccttcatcta attttttttc 840
 tcccactggt ttatagatcc tctgacttgt gtgtgtttat agcttttgtt tcgcgggggtt 900
 gtggtgagga aggggtgatg gcatgcggag ttctttatct tcagt gagaa tgtgcctgcc 960
 cgcctgagag ccagcttccg cgttggaggc acgtgttcag agagctgctg agcgccaccc 1020
 tctacccggc tgacagncaa cacagacctg tggcgaaggc taatttgtgg cttttacgac 1080
 cctacccac cccctgtttt caggggttta gactacattt gaaatccaaa ctggagat 1140
 ataacttctt attgagccca actgcttttt tttttttttt ttttttgttt ctctgccctt 1200
 tttccatttc ttttgtattt gttttctgtg agagcnciga aatggcagcc ctggaatcta 1260
 caatttggct ctccactgag caccttatct tggccacctta gccttaagaa tgaat atgaa 1320
 gaaaaat aca cagccacctc tgtccagggc agtaagaagg gctgcaagga aggggaggat 1380
 ggggacaagg aaaggatcag atacctgctc cagt agttgt gaggccactg tgtctcaggg 1440
 gactccagga ggagcagaag agggatccca cgaagttatt cttaacgcagc tggggccagg 1500
 aggggtcagag tgggtgccagg tgcagttag gctaaagaag ccaccactat tcctctctct 1560
 tggccattgt gggggggcaaa ggcatitgtc accaagagtc ttgcaggggg acccacagat 1620
 atgcatgtc cttaacacgt gcttgggctc cttaacctga aggcaaat tgcctacttgcaa 1680
 gactgactga cttaaggaa tcagaaattt cctagaagca ccatgttttt tctatgacct 1740
 tttcagtcct tcaggtcatt ttaagggtcca ctgcaggggg ttagt gagaa agggat act 1800
 ttgtggtatg ttttgttttc ctataggga catgaaggaa acccagcaat ttgtgttat 1860
 gtgaatggcc tgt agagcag agtcaagagc ggtgtgcttt gcccgactgc tcccatcagg 1920
 aataggagag tagacagaga tcttccacat ccaggcttc tgtgtgtgt ttaaaagctc 1980
 tgtccttggg gcctccgct ccttgaagtgt tctcgcccc tgcacagcac tggcctttcg 2040
 gaagcatccc agt aggggttt tctgaggctc gctggtgact catgccctaa ttgcaatcct 2100
 ctgcttttat cttgactttg aaggatctaa cactgctctc tcttccaaag gggaaaaaaa 2160
 gattcatttg ttttgagcaa taaactaat acaaatg 2197

REIVINDICACIONES

1. Una secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO:3, en la que dicha secuencia de ácido nucleico codifica para el polipéptido de la SEQ ID NO:4 que tiene actividad antiangiogénica y antitumoral.
2. Un vector de expresión que comprende al menos una secuencia de ácido nucleico según la reivindicación 1.
- 5 3. Un polipéptido de la SEQ ID NO:4, en el que dicho polipéptido tiene actividad antiangiogénica y antitumoral.
4. Un polipéptido según la reivindicación 3, caracterizado porque se produce mediante el vector de expresión de la reivindicación 2.
- 10 5. Un medicamento que comprende al menos una secuencia de ácido nucleico según la reivindicación 1, o al menos un vector de expresión según la reivindicación 2, o al menos un polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 4.
6. Una composición farmacéutica que comprende al menos una secuencia de ácido nucleico según la reivindicación 1 o al menos un vector de expresión según la reivindicación 2 o al menos un polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 4 y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 15 7. Una composición farmacéutica según la reivindicación 6, que comprende además al menos una otra sustancia activa seleccionada entre sustancias antiangiogénicas o sustancias antitumorales.
8. Una composición farmacéutica que comprende cantidades eficaces de:
 - un polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 4, y
 - un complejo de platino seleccionado del grupo que consiste en cisplatino y carboplatino.
- 20 9. La composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, que está en una forma apropiada para administración tópica, sistémica, oral, subcutánea, transdérmica, intramuscular o intraperitoneal.
10. La composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en la que dicho polipéptido está presente en una cantidad desde 0.01 a 90% en peso, preferiblemente desde 0.1% a 10% en peso, más preferiblemente desde 1% a 5% en peso.
- 25 11. Un ácido nucleico de la reivindicación 1, o un vector de expresión de la reivindicación 2, o un polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 4, o un medicamento de la reivindicación 5, o una composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10, para uso en el tratamiento de cánceres y/o tumores.
12. El ácido nucleico, el vector de expresión, el polipéptido, el medicamento o la composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 11, en el que los tumores son tumores sólidos.
- 30 13. El ácido nucleico, el vector de expresión, el polipéptido, el medicamento o la composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 12, en el que los tumores sólidos se seleccionan de sarcomas, carcinomas y linfomas.

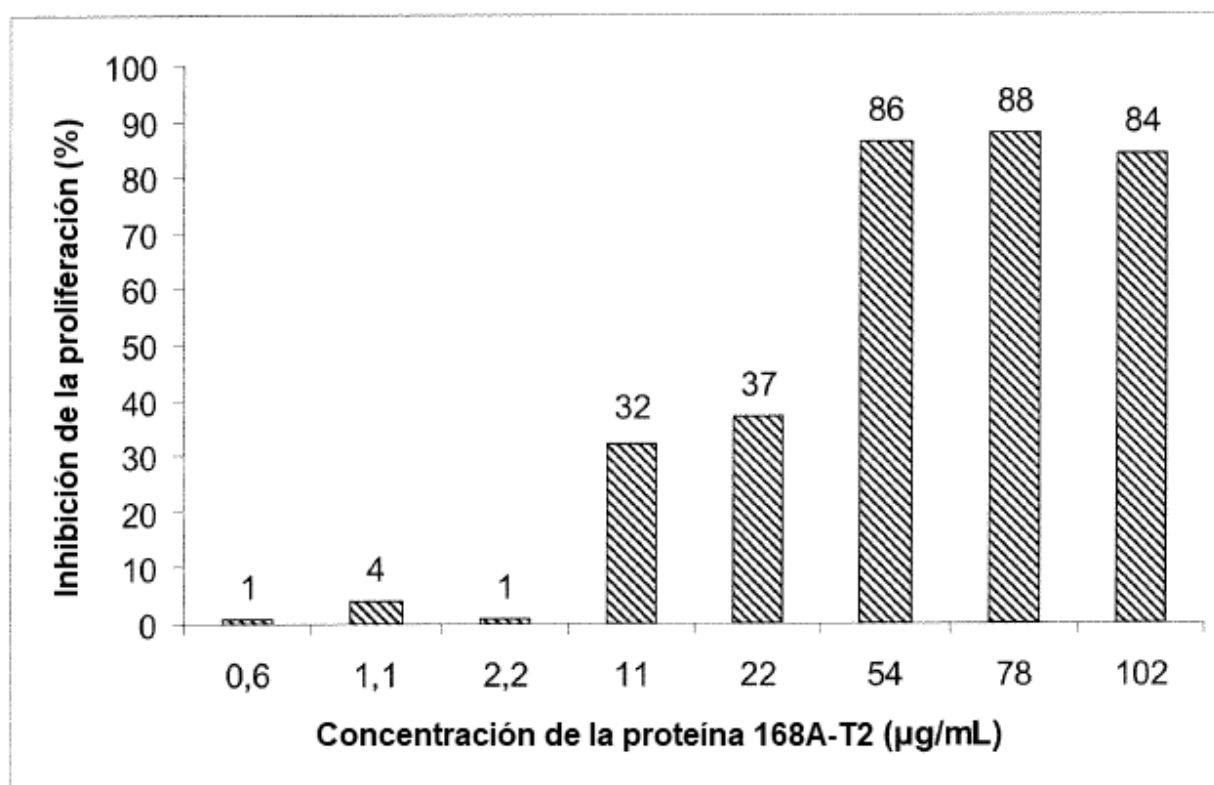


Figura 1

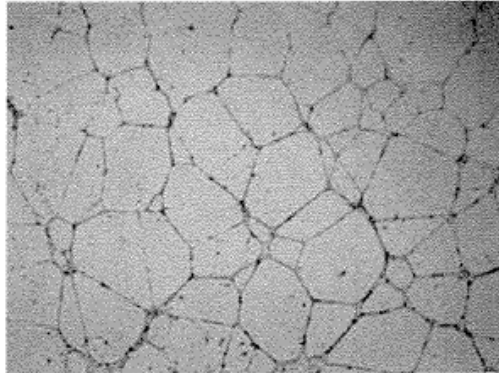


Figura 2A

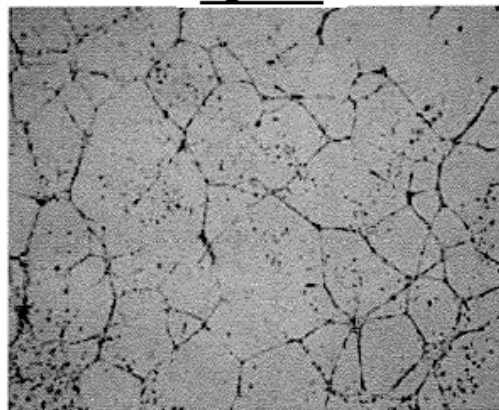


Figura 2B

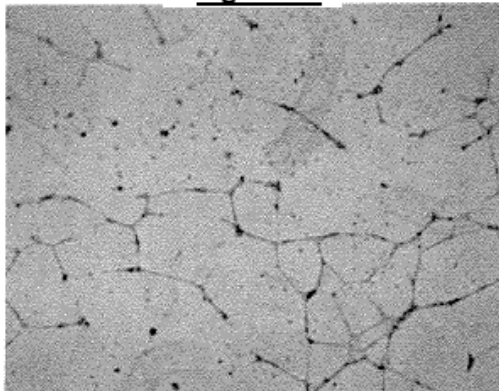


Figura 2C

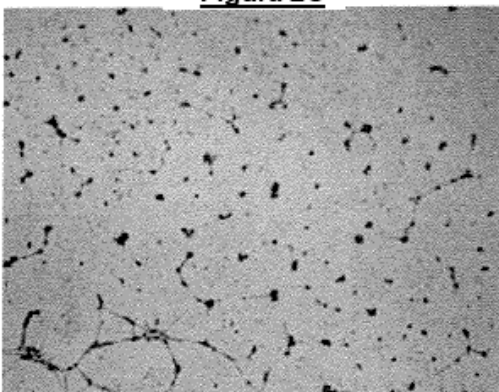


Figura 2D

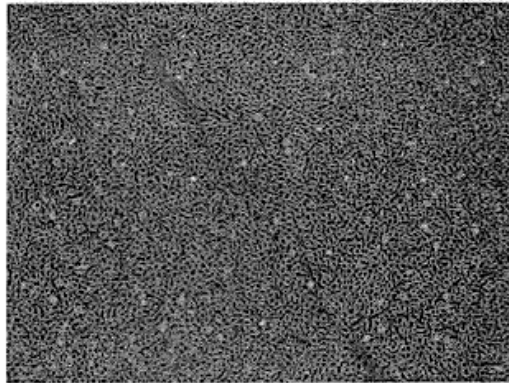


Figura 3A

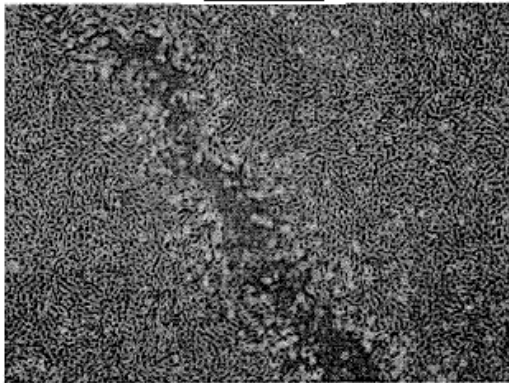


Figura 3B

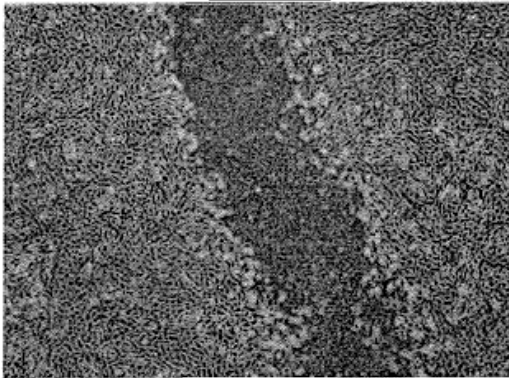


Figura 3C

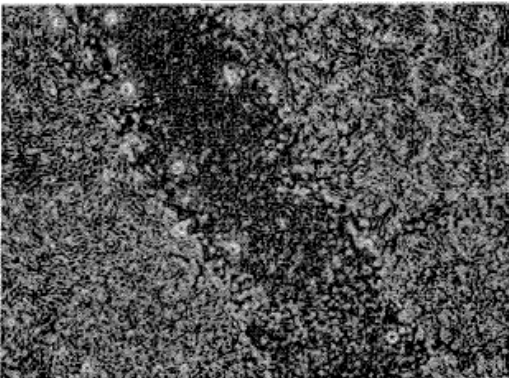


Figura 3D

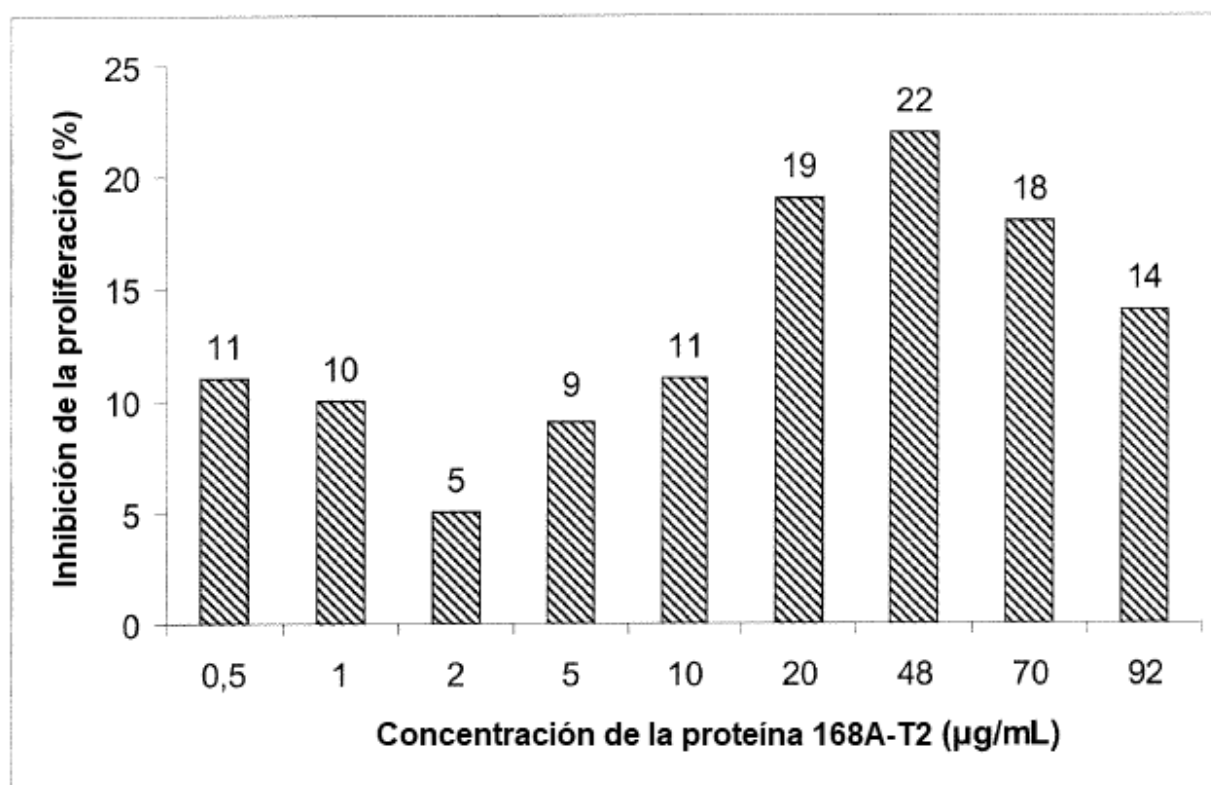


Figura 4

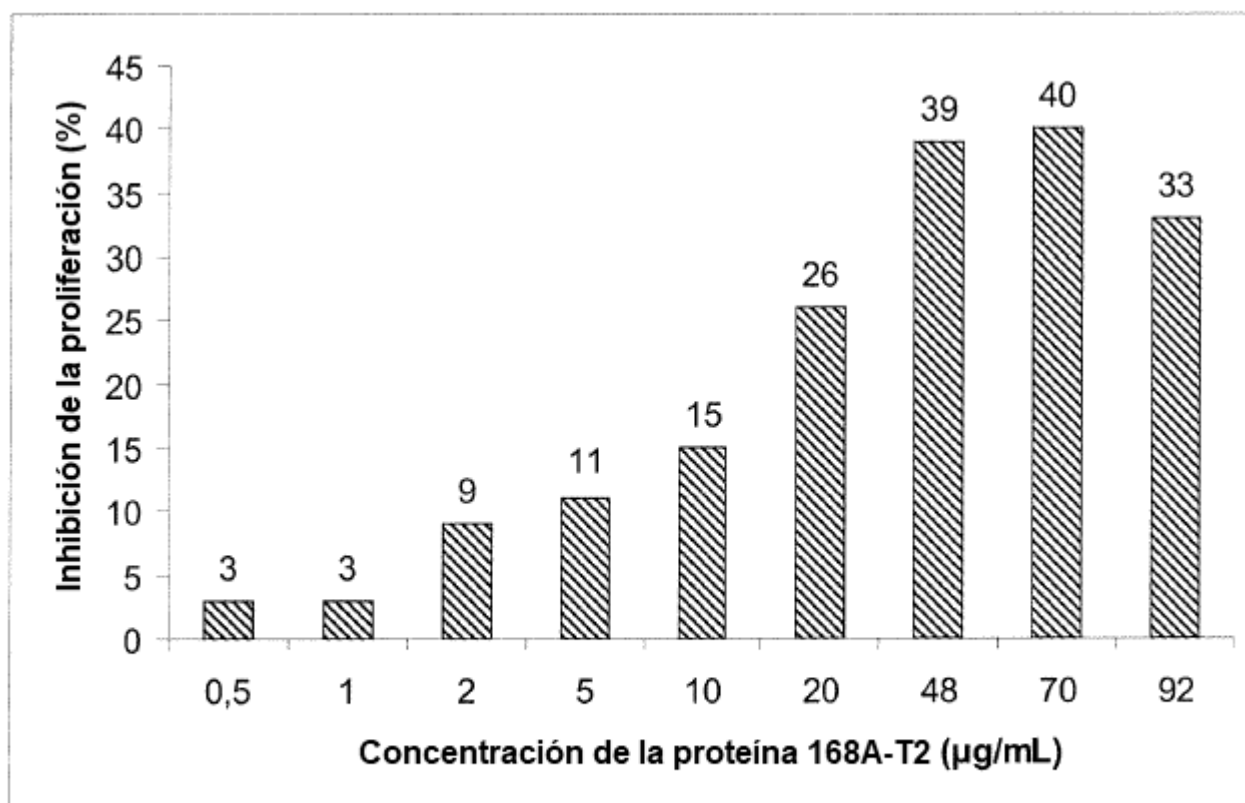


Figura 5

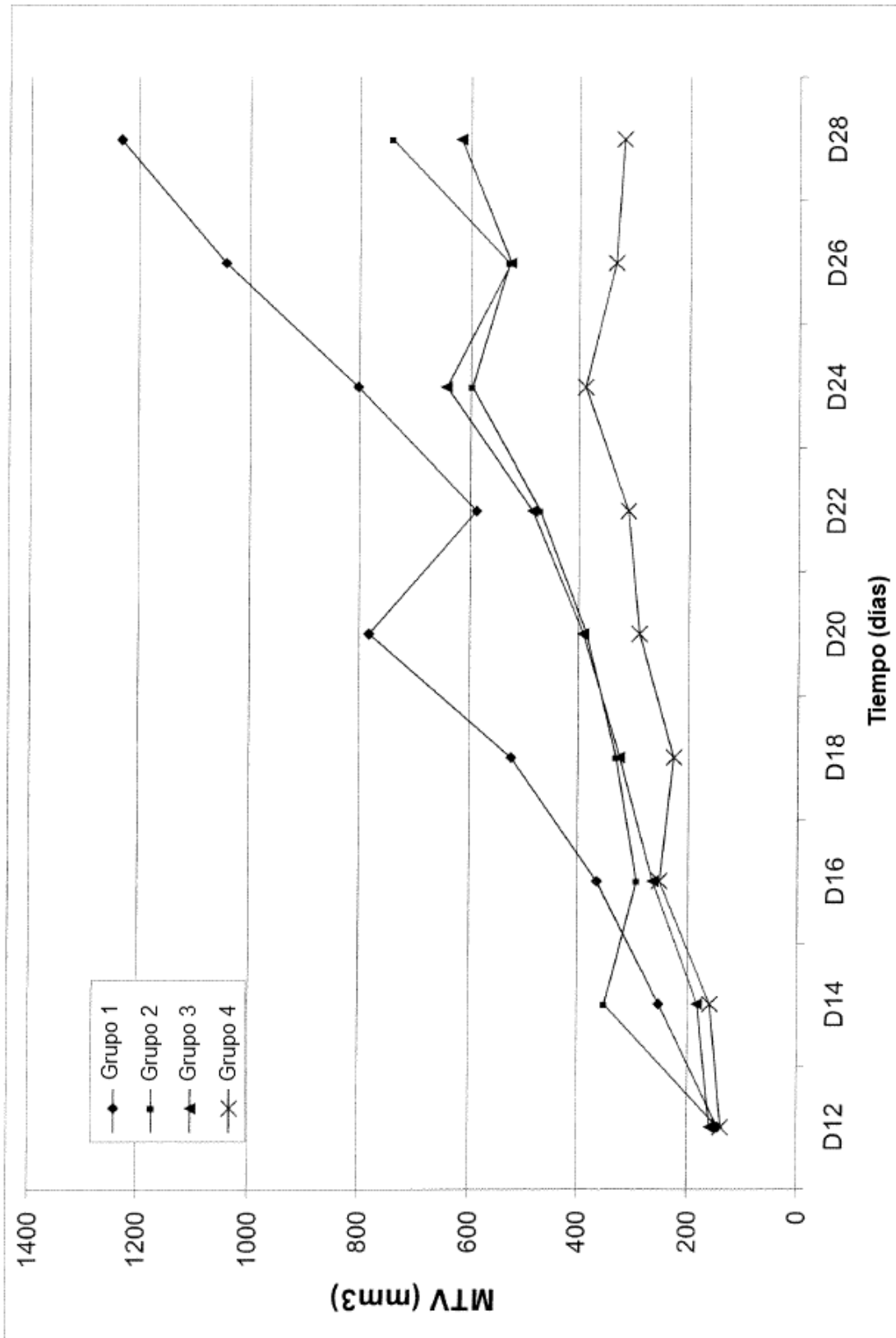


Figura 6

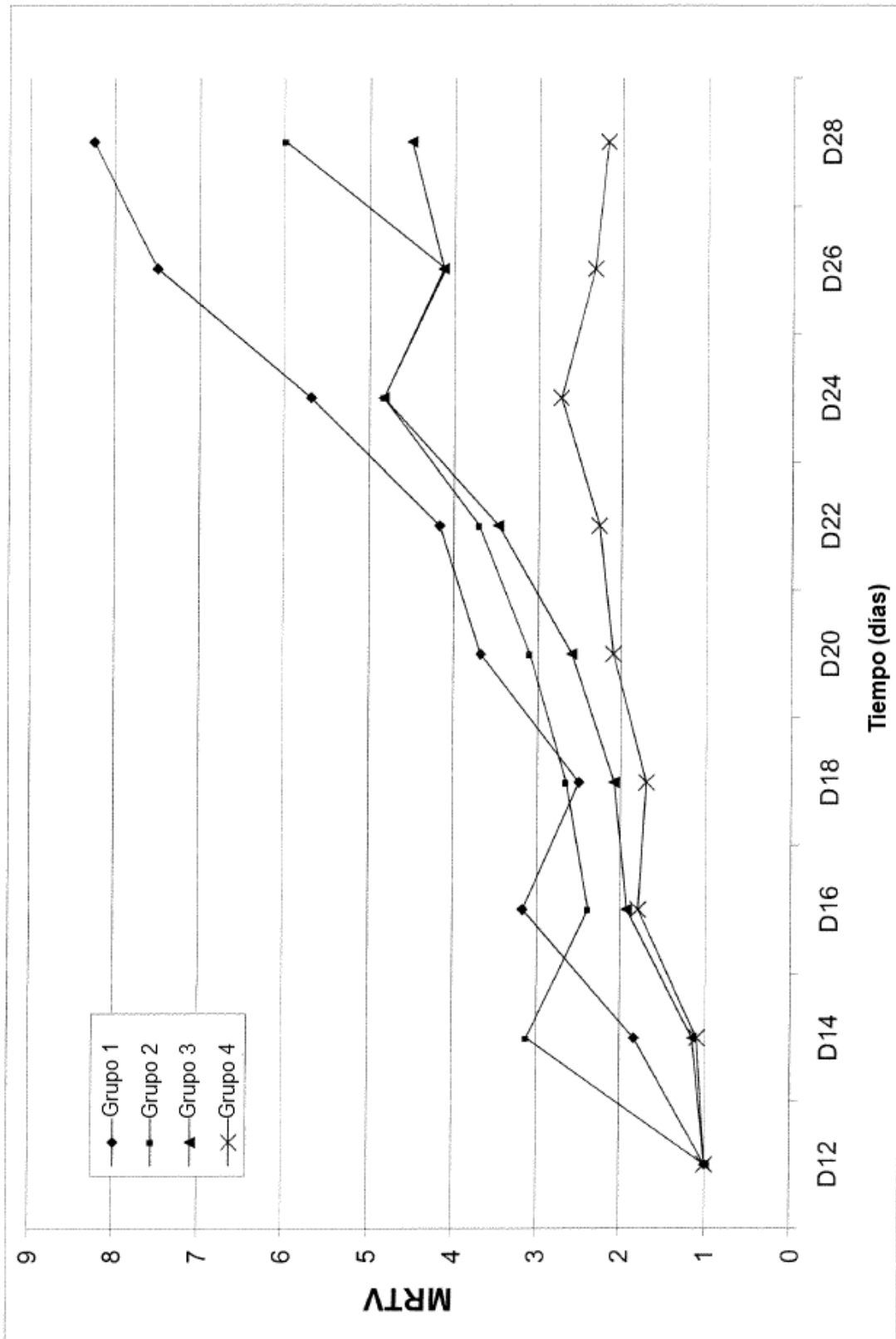


Figura 7