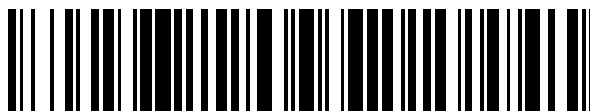


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 762 979**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.04.2016** **PCT/JP2016/063420**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.11.2016** **WO16175307**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.04.2016** **E 16786583 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.10.2019** **EP 3290051**

54 Título: **Composición farmacéutica para tratar y/o prevenir el cáncer**

30 Prioridad:

30.04.2015 JP 2015093640

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.05.2020

73 Titular/es:

TORAY INDUSTRIES, INC. (100.0%)
1-1, Nihonbashi-Muromachi 2-chome, Chuo-ku
Tokyo 103-8666, JP

72 Inventor/es:

KURIHARA AKIRA;
CHON HYONGI;
FUJITA TAKAYUKI y
OKANO FUMIYOSHI

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 762 979 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

Composición farmacéutica para tratar y/o prevenir el cáncer

5 Campo técnico

La presente invención se refiere al novedoso uso medicinal de un anticuerpo contra proteína CSPG5 o un fragmento de la misma, como, por ejemplo, agente terapéutico y/o profiláctico para el cáncer.

10 Antecedentes de la técnica

El cáncer es una enfermedad que ocupa la posición principal de causa de muerte. Las terapias actualmente empleadas principalmente se basan en una terapia quirúrgica en combinación con una radioterapia y una quimioterapia. A pesar del reciente desarrollo de nuevas técnicas quirúrgicas y el descubrimiento de nuevos fármacos anticancerígenos, en la actualidad, aún no se han mejorado los resultados de tratamiento de cánceres excepto en algunos cánceres. Con el avance de la biología molecular y la inmunología del cáncer, se han identificado anticuerpos que reaccionan específicamente con los cánceres, antígenos del cáncer reconocidos por los linfocitos T citotóxicos, genes que codifican los antígenos del cáncer y similares. Por tanto, se ha deseado el desarrollo de tratamientos específicos para cáncer que se dirijan a los antígenos del cáncer.

En la terapia para el cáncer, es deseable que los péptidos (incluyendo los polipéptidos) a reconocer como antígenos estén raramente presentes en las células normales y específicamente presentes en las células cancerosas para reducir los efectos secundarios. En 1991, Boon y col. del "Ludwig Laboratory" en Bélgica aislaron antígeno de melanoma humano MAGE1, reconocido por los linfocitos T CD8 positivos, por el método de clonación de la expresión de ADNc usando una línea celular tumoral autóloga y linfocitos T reactivos al tumor (Bibliografía no Patente 1). Posteriormente, se publicó el método SEREX (identificación serológica de antígenos por clonación de expresión recombinante), el cual es un método para identificar un antígeno del cáncer reconocido por un anticuerpo producido en respuesta a cáncer autólogo en el cuerpo de un paciente, usando un método de clonación de expresión génica (Bibliografía de Patente 1, Bibliografía no Patente 2). Por este método se han aislado varios antígenos del cáncer, los cuales raramente se expresan en células normales y específicamente se expresan en células cancerosas, (Bibliografía no Patente 3). Además, en ensayos clínicos se llevan a cabo una terapia celular, la cual usa células inmunitarias dirigidas a una parte de la secuencia de aminoácidos de dicho antígeno del cáncer y reaccionan específicamente con el antígeno del cáncer, y una inmunoterapia específica a cáncer tal como una vacuna que contiene un antígeno del cáncer.

Mientras tanto, se han conocido en el mundo diversos tipos de medicinas anticuerpo para tratar el cáncer, dirigidas a una proteína antígeno específica sobre las células cancerosas. La mayoría de las proteínas antígeno diana proporcionan ciertos niveles de efectos medicinales como agente terapéutico específico a cáncer y atraen la atención; sin embargo, se expresan también sobre una pluralidad de celdas normales. Debido a esto, los efectos secundarios son seriamente preocupantes puesto que no solamente las células cancerosas sino también las células normales se dañan como resultado de la administración de los anticuerpos. Por consiguiente, se espera que se pueda producir una terapia con un medicamento anticuerpo que tenga pocos efectos secundarios, si se puede identificar un antígeno, el cual se expresa específicamente solamente sobre las superficies de la célula cancerosa y no se expresa sobre las células normales, y se puede usar un anticuerpo dirigido al antígeno como medicamento.

Listado de referencias**Bibliografía de patente**

Bibliografía de patente 1: Patente EE.UU. N.º 5698396

Bibliografía no patente

Bibliografía no patente 1: Bruggen P. y col., *Science*, 254: 1.643-1.647 (1991)
 Bibliografía no patente 2: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92: 11.810-11.813 (1995)
 Bibliografía no patente 3: *Int. J. Cancer*, 72: 965-971 (1997)

Compendio de la invención**60 Problema técnico**

Un objetivo de la presente invención es identificar una proteína antígeno del cáncer específicamente expresada sobre la superficie de las células cancerosas y proporcionar el uso de un anticuerpo dirigido a la proteína antígeno de cáncer como agente terapéutico y/o profiláctico para el cáncer.

Solución al problema

Los presentes inventores aislaron un antígeno específicamente expresado en el cáncer por el método SEREX usando la genoteca de ADNc derivada de un tejido testicular canino y el suero de un perro portador de cáncer de mama y, a continuación, obtuvieron ADNc que codificaba proteína CSPG5. La proteína CSPG5 se puede unir a anticuerpos presentes en los sueros derivados de diversos organismos vivos portadores de cáncer. Los presentes inventores también encontraron que la proteína CSPG5 se expresa específicamente en las células de cáncer de mama, cáncer de pulmón, tumor cerebral, leucemia, linfoma maligno, adenocarcinoma, mastocitoma, carcinoma de células escamosas, melanoma o neuroblastoma; y que una parte de la proteína CSPG5 se expresa específicamente sobre la superficie de estas células cancerosas. La proteína CSPG5 (Proteoglicano 5 Condroitín Sulfato) es proteína transmembrana tipo I y una de las proteínas de la familia de la neurogulina. También se informa que la proteína CSPG5 se une a la proteína ErbB3 para servir como un factor de crecimiento; y que la expresión de la proteína CSPG5 aumenta en cáncer de ovarios que tiene una mutación de la proteína BRCA1 (Kinugasa, Y., y col., 2004, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 321: 1.045; Press, J. Z., y col., 2010, *Neoplasia*, 12 (12): 993-1.002). Además se sabe que la proteína CSPG5 se expresa altamente en los tejidos del sistema nervioso, tales como las células ganglionares retinales, las células de purkinge y el hipocampo, y sirve como un factor de proliferación/diferenciación de las células nerviosas implicadas en el alargamiento del proceso axónico del nervio (Yasuda, Y. y col., 1998, *Neurosci. Res.*, 32: 313; Aono, S., y col., 2006, *J. Neurosci. Res.*, 83: 110; Nakanishi, K., y col., 2006, *J. Biol. Chem.*, 281: 24.970). Sin embargo, no hay informes de que la proteína CSPG5 tenga una inmunidad inductora de la actividad contra las células cancerosas y, por tanto, sea útil para tratar y prevenir el cáncer.

Asimismo, los inventores prepararon moléculas de la proteína CSPG5 que consistían en secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 y 16 basándose en el gen de CSPG5 canino obtenido y sus genes homólogos de ser humano, gato y ratón y anticuerpos contra estas moléculas de proteína CSPG5. Luego, encontraron que un anticuerpo contra la porción de cada una de estas moléculas de proteína CSPG5 expresadas sobre las superficies de células cancerosas individuales, en otras palabras, su región extracelular, daña la célula cancerosa que expresa la proteína CSPG5. Basándose en el descubrimiento, se efectuó la presente invención.

Por consiguiente, la presente invención tiene las siguientes características.

- (1) Una composición farmacéutica para su uso en un método para tratar y/o prevenir el cáncer, que comprende un anticuerpo o un fragmento del mismo que tiene reactividad inmunológica con la proteína CSPG5 o un fragmento de la misma que consiste en al menos 7 o más restos de aminoácidos consecutivos, como principio activo.
- (2) La composición farmacéutica según (1), en la que la proteína CSPG5 consiste en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID NO: 8, 4, 6, 10 y 12 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de aminoácidos del 80 % o más con la secuencia de aminoácidos.
- (3) La composición farmacéutica según (1) o (2), en la que el cáncer es leucemia o linfoma maligno.
- (4) La composición farmacéutica según una cualquiera de (1) a (3), en la que el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal o un anticuerpo policlonal.
- (5) La composición farmacéutica según una cualquiera de (1) a (4), en la que el anticuerpo es un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo monocatenario o un anticuerpo biespecífico.

Efectos ventajosos de la invención

El anticuerpo contra la proteína CSPG5 usado en la presente invención daña las células cancerosas. Por consiguiente, el anticuerpo contra la proteína CSPG5 es útil para el tratamiento y/o la prevención del cáncer.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra los patrones de expresión del gen de CSPG5 identificado en tejidos tumorales caninos o líneas celulares cancerosas. En la figura, el número de referencia 1 muestra los patrones de expresión del gen de CSPG5 canino en tejidos caninos individuales y líneas celulares; y el número de referencia 2 muestra los patrones de expresión del gen de GAPDH canino en tejidos caninos individuales y líneas celulares.

La Figura 2 muestra los patrones de expresión del gen de CSPG5 identificado en tejidos tumorales humanos o líneas celulares cancerosas.

La Figura 3 muestra los patrones de expresión del gen de CSPG5 identificado en tejidos tumorales de ratón o líneas celulares cancerosas. El número de referencia 3 muestra los patrones de expresión del gen de CSPG5 de ratón en tejidos de ratón individuales y líneas celulares; el número de referencia 4 muestra los patrones de expresión del gen GAPDH de ratón en tejidos de ratón individuales y líneas celulares.

La Figura 4 muestra la actividad citotóxica de un anticuerpo policlonal contra la proteína CSPG5 (anticuerpo policlonal anti-CSPG5) o una línea celular de leucemia (K562) y células de linfoma maligno (L-1236) que expresan el gen de CSPG5. En la figura, el número de referencia 5 muestra la actividad citotóxica contra las células K562 cuando se añade un anticuerpo policlonal control; el número de referencia 6 muestra la actividad citotóxica contra las células K562 cuando se añade un anticuerpo policlonal anti-CSPG5; el número de referencia 7 muestra la actividad citotóxica contra las células L-1236 cuando se añade el anticuerpo policlonal control; y el

número de referencia 8 muestra la actividad citotóxica contra la célula L-1236 cuando se añade el anticuerpo policlonal anti-CSPG5.

La Figura 5 muestra la actividad citotóxica de un anticuerpo monoclonal contra la proteína CSPG5 (anticuerpo monoclonal anti-CSPG5) o una línea celular de leucemia (K562) y células de linfoma maligno (L-1236) que expresan el gen de CSPG5. En la figura, el número de referencia 9 muestra la actividad citotóxica contra las células K562 cuando se añade un anticuerpo monoclonal control; el número de referencia 10 muestra la actividad citotóxica contra las células K562 cuando se añade un anticuerpo monoclonal anti-CSPG5; el número de referencia 11 muestra la actividad citotóxica contra las células L-1236 cuando se añade el anticuerpo monoclonal control; y el número de referencia 12 muestra la actividad citotóxica contra la célula L-1236 cuando se añade el anticuerpo monoclonal anti-CSPG5.

Descripción de realizaciones

La actividad antitumoral de un anticuerpo contra un polipéptido que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 o 16, usada en la presente invención, se puede evaluar comprobando, la supresión *in vivo* del crecimiento tumoral en un animal portador de cáncer o comprobando, si el anticuerpo ejerce o no actividad citotóxica *in vitro* contra las células tumorales que expresan el polipéptido por las células inmunitarias o un complemento, como se describe posteriormente.

La secuencia de nucleótidos de un polipéptido que codifica la proteína que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 o 16 se representa por la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, respectivamente.

La secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 2 en el listado de secuencias divulgado en la presente invención es una secuencia de aminoácidos de la proteína CSPG5 aislada como un polipéptido que se une a un anticuerpo específicamente presente en el suero derivado de un perro portador de cáncer por el método SEREX usando una genoteca de ADNc derivada de un tejido testicular canino y el suero de un perro portador de cáncer de mama; las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID NO: 4, 6, 8, 10 y 12 se aislaron como homólogos humanos del polipéptido; la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 14 se aísla como un homólogo de gato del polipéptido; y la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 16 se aísla como un homólogo de ratón del polipéptido (véase, el Ejemplo 1 posteriormente descrito).

Se ha sabido a partir de la secuencia de aminoácidos que la proteína CSPG5 es proteína transmembrana tipo I, y que la región extracelular prevista a partir de su secuencia se expresa sobre la superficie de las células nerviosas. Debido a la presente solicitud, se confirmó que la región extracelular de la proteína CSPG5 se expresa realmente (presente) sobre la superficie de diversos tipos de células cancerosas. En la presente invención, preferentemente se usa un anticuerpo que se une a la región extracelular de la proteína CSPG5 sobre una célula cancerosa o que se une a un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos del 80 % o más, preferentemente del 85 % o más, más preferentemente del 90 % o más, más preferentemente del 95 % o más, del 97 % o más, del 98 % o más o del 99 % o más con la secuencia de aminoácidos de la región extracelular.

El anticuerpo contra la proteína CSPG5 usado en la presente invención puede ser de cualquier tipo de anticuerpo siempre que pueda ejercer una actividad antitumoral. Ejemplos del anticuerpo incluyen un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo sintético, un anticuerpo multi-específico, un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo monocatenario (scFV) y un fragmento de anticuerpo (por ejemplo, Fab, F(ab')₂, Fv). Estos anticuerpos y fragmentos de los mismos pueden prepararse por métodos conocidos por los expertos en la técnica. En la presente invención, es deseable un anticuerpo capaz de unirse específicamente a la proteína CSPG5 y es preferible un anticuerpo monoclonal; sin embargo, se puede usar un anticuerpo policlonal siempre y cuando se puedan producir de manera estable anticuerpos homogéneos. Cuando el sujeto es un ser humano, es deseable un anticuerpo humano o un anticuerpo humanizado para evitar o suprimir una reacción de rechazo.

La frase "que se une específicamente a proteína CSPG5" usada en el presente documento significa que se une específicamente a la proteína CSPG5 y que básicamente no se une a proteínas excepto la proteína CSPG5.

El sujeto destino del tratamiento y/o la prevención del cáncer por la presente invención, es un mamífero tal como seres humanos, animales de compañía, animales domésticos y animales para uso competitivo, preferentemente un ser humano.

A continuación se describe la preparación de un antígeno, la preparación de un anticuerpo y una composición farmacéutica para su uso según la presente invención se describe.

<Preparación del antígeno para preparar el anticuerpo>

La proteína o un fragmento de la misma usados como antígeno sensibilizante para obtener un anticuerpo contra la proteína CSPG5 (anticuerpo anti-CSPG5) en la presente invención se pueden derivar de, por ejemplo, seres

humanos, perros, gatos, ratones, ratas, vacas, caballos y pollos, y la especie animal de la cual se deriva la proteína o un fragmento de la misma no se limitan a los mismos. La proteína o un fragmento de la misma se seleccionan preferentemente en consideración a la compatibilidad con una célula parental a usar en la fusión celular. En general, es preferible la proteína derivada de un mamífero y particularmente es preferible la proteína derivada de un ser humano. Por ejemplo, si la proteína CSPG5 es proteína CSPG5 humana, se pueden usar la proteína CSPG5 humana, un polipéptido parcial de la misma, una célula que expresa la proteína CSPG5 humana, y similares.

Las secuencias de aminoácidos y las secuencias de nucleótidos de la proteína CSPG5 y sus homólogos se pueden obtener usando, por ejemplo, GenBank (NCBI de los Estados Unidos) y usando un algoritmo tal como BLAST y FASTA (Karlin and Altschul, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 5.873-5.877, 1993; Altschul y col., *Nucleic Acids Res.* 25: 3.389-3.402, 1997).

Por ejemplo, si se usa la proteína CSPG5 humana, como una base, se usan como diana una secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO: 3, 5, 7, 9 u 11) que codifica la proteína CSPG5 humana y un ácido nucleico que tiene una identidad de nucleótido del 70 % al 100 %, preferentemente del 80 % al 100 %, más preferentemente del 90 % al 100 %, más preferentemente del 95 % al 100 % (por ejemplo del 97 % al 100 %, del 98 % al 100 %, del 99 % al 100 % o del 99,5 % al 100 %) con la secuencia de nucleótidos. Asimismo, se usan como diana la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 4, 6, 8, 10 o 12) de la proteína CSPG5 humana y un polipéptido que tiene una identidad de aminoácidos del 70 % al 100 %, preferentemente del 80 % al 100 %, más preferentemente del 90 % al 100 % o más preferentemente del 95 % al 100 % (por ejemplo, del 97 % al 100 %, del 98 % al 100 %, del 99 % al 100 % o del 99,5 % al 100 %) con la secuencia de aminoácidos. El término "identidad de nucleótidos" usada en el presente documento se refiere al porcentaje (%) del número de nucleótidos idénticos en relación con el número total de nucleótidos cuando dos secuencias de nucleótidos se alinean de modo que tienen un grado máximo de similitud introduciendo apropiadamente el(los) hueco(s). De manera similar, el término "identidad de aminoácidos" se refiere al porcentaje (%) del número de aminoácidos idénticos en relación con el número total de aminoácidos cuando dos secuencias de aminoácidos se alinean de modo que tienen un grado máximo de similitud introduciendo apropiadamente el(los) hueco(s).

El fragmento de la proteína CSPG5 se especifica que tiene una longitud igual a o mayor que la longitud de aminoácidos de un epítipo (determinante antigénico) y menor que la longitud completa de la proteína. El epítipo es un fragmento de polipéptido que es una unidad mínima reconocida por un anticuerpo en un mamífero, preferentemente un ser humano y tiene antigenicidad o inmunogenicidad, e incluye secuencias de aminoácidos que tienen una longitud de aproximadamente 7 a 12 aminoácidos, por ejemplo, 8 a 11 aminoácidos.

La proteína CSPG5 humana y un polipéptido que contiene un péptido parcial de la misma se pueden sintetizar, por ejemplo, por un método de síntesis química tal como el método Fmoc (método de fluorenilmetiloxycarbonilo) y método tBoc (método de t-butiloxycarbonilo) ("Biochemical Experiment Course 1, Chemistry of Protein IV, Chemical Modification and Synthesis of Peptide", editado por la "Japan Biochemical Society", Tokyo Kagaku Dojin (Japón), 1981) o sintetizar de acuerdo con un método rutinario usando un sintetizador de péptido comercialmente disponible. Como alternativa, se puede obtener un polipéptido deseado mediante técnica de ingeniería genética conocida en la técnica (por ejemplo, Green, M. R. and Sambrook, J., 2012, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual" 4º Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, Ausubel y col., "Short Protocols in Molecular Biology", tercera edición, "A compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology" (1995), John Wiley & Sons); más específicamente preparando un polinucleótido que codifica el polipéptido, integrando el polinucleótido en un vector de expresión, introduciendo el vector en una célula hospedadora y dejando que la célula hospedadora produzca un polipéptido.

El polinucleótido que codifica el polipéptido se puede preparar fácilmente mediante un método rutinario usando una técnica de ingeniería genética conocida en la técnica o un sintetizador de ácido nucleico comercialmente disponible. Por ejemplo, el ADN que tiene la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 3 se puede preparar llevando a cabo PCR usando una genoteca de ADN de cromosoma humano o una genoteca de ADNc humano como un molde y un par de cebadores diseñados para amplificar la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 3. Las condiciones de reacción de la PCR se pueden definir apropiadamente; por ejemplo, las condiciones de reacción incluyen una condición en la que se usa una ADN polimerasa resistente al calor (por ejemplo, Taq polimerasa) y un tampón de PCR que contiene Mg^{2+} , un ciclo que consiste en una reacción de desnaturalización a 94 °C durante 30 segundos, una reacción de emparejamiento a 55 °C durante 30 segundos a 1 minuto y una reacción de elongación a 72 °C durante 2 minutos, por ejemplo, se repite 30 veces y, a continuación, llevando a cabo una reacción a 72 °C durante 7 minutos; sin embargo, las condiciones de reacción no se limitan particularmente a las mismas. El método y la condiciones de PCR se describen, por ejemplo, en Ausubel y col., "Short Protocols in Molecular Biology", tercera edición, "A compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology" (1995), John Wiley & Sons (particularmente el capítulo 15).

Un ADN deseado se puede aislar preparando una sonda apropiada y cebadores basados en la información de la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15 en el listado de secuencias de la presente solicitud y sometiendo a cribado una genoteca de ADNc de un ser humano etc. por la sonda y los cebadores. La genoteca de ADNc se prepara preferentemente a partir de la célula, el órgano o el tejido que expresa

una proteína que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 o 16. Ejemplos de dicha célula o tejido incluyen, pero sin limitación, células o tejidos derivados de cánceres o tumores tales como de testículos o leucemia, cáncer de mama, linfoma, tumor cerebral, cáncer de pulmón, cáncer de colon, mastocitoma, melanoma y neuroblastoma. Las operaciones anteriormente mencionadas, tal como preparación de la sonda o los cebadores, la construcción de una genoteca de ADNc, el cribado de una genoteca de ADNc y la clonación de un gen de interés, son conocidos por los expertos en la técnica y se pueden llevar a cabo de acuerdo con el método descrito, por ejemplo, en Green, M. R. and Sambrook (anteriormente descrito), Ausbel y col. (anteriormente descrito). A partir del ADN así obtenido, se puede obtener el ADN que codifica la proteína CSPG5 y un péptido parcial de la misma.

Como célula hospedadora, se puede usar cualquier tipo de célula siempre y cuando se pueda expresar el anterior polipéptido. Ejemplos de células procariotas incluyen *Escherichia coli*, y ejemplos de células eucariotas incluyen, pero sin limitación, células de levadura incluyendo levadura de cerveza y levadura de fisión, células de insecto tales como células de gusano de seda, células de huevo de *Xenopus* y células mamíferas tales como células de riñón de mono COS1, células de ovario de hamster chino CHO, línea celular de riñón fetal humano HEK293 y una línea celular de piel fetal de ratón NIH3T3.

Cuando se usa una célula procariota como célula hospedadora, se usa como vector de expresión un vector de expresión que tiene un origen de replicación en una célula procariota, un promotor, un sitio de unión a ribosoma, un sitio de multi clonación, un terminador, un gen de resistencia a fármaco, un gen de complemento auxotrófico, y similares. Ejemplos del vector de expresión para *Escherichia coli* pueden incluir el sistema pUC, pBluescriptII, el sistema de expresión pET y el sistema de expresión pGEX. El polipéptido codificado por ADN se puede expresar en la célula hospedadora procariota, integrando ADN que codifica el polipéptido en dicho vector de expresión; transformando una célula hospedadora procariota con el vector; y cultivando el transformante resultante. En este momento, el polipéptido se puede expresar como una parte de una proteína de fusión con otra proteína.

Cuando se usa una célula eucariota como célula hospedadora, se usa como vector de expresión un vector de expresión para una célula eucariota que tiene un promotor, una región de cote y empalme, un sitio adicional poli (A), y similares. Ejemplos de dicho vector de expresión pueden incluir pKA1, pCDM8, pSVK3, pMSG, pSVL, pBK-CMV, pBK-RSV, vector de EBV, pRS, pcDNA3.1 y pYES2. El polipéptido codificado por el ADN se puede expresar en una célula hospedadora eucariota, de manera similar a lo anterior, integrando el ADN que codifica el polipéptido anterior en dicho vector de expresión, transformando la célula hospedadora eucariota con el vector, y cultivando el transformante resultante. El polipéptido anterior se puede expresar como una parte de una proteína de fusión acoplada con una etiqueta tal como una etiqueta His (por ejemplo, (His)₆ a (His)₁₀), una etiqueta FLAG, una etiqueta myc, una etiqueta HA y un GFP, cuando pIND/V5-His, pFLAG-CMV-2, pEGFP-N1, pEGFP-C1 o similares se usan como vector de expresión.

La introducción de un vector de expresión en una célula hospedadora se puede llevar a cabo usando un método bien conocido en la técnica, tal como un método de electroporación, un método de fosfato de calcio, un método de liposomas, un método de DEAE dextrano, microinyección, infección viral, lipofección y unión a un péptido penetrante de la membrana celular.

Para el aislamiento/purificación de un polipéptido deseado a partir de una célula hospedadora, se pueden usar en combinación operaciones de separación conocidas en la técnica. Ejemplos de las operaciones de separación incluyen, pero sin limitación, un tratamiento con un desnaturizante tal como urea o un tensioactivo, sonicación, digestión enzimática, precipitación salina y por fraccionamiento por disolvente, diálisis, centrifugación, ultrafiltración, filtración en gel, SDS-PAGE, electroforesis por punto isoelectrico, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía hidrófoba, cromatografía de afinidad y cromatografía en fase inversa.

<Estructura del anticuerpo>

Un anticuerpo es una glicoproteína hetero-multímeros que normalmente contiene al menos dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. Cuatro tipos de inmunoglobulinas excepto IgM cada uno son una glicoproteína heterotetrámero de aproximadamente 150 kDa principalmente constituida de dos cadenas ligeras (L) idénticas y dos cadenas pesadas (H) idénticas. Generalmente, cada una de las cadenas ligeras están unidas a una cadena pesada por un enlace covalente disulfuro sencillo; mientras que el número de enlaces disulfuro entre las cadenas pesadas varía dependiendo de los isotipos de inmunoglobulinas. Cada una de las cadenas pesadas y las cadenas ligeras tiene también un enlace disulfuro intra-hebra. Cada una de las cadenas pesadas tiene un dominio variable (región VH) en un extremo, seguido de varias regiones constantes. Cada una de las cadenas ligeras tiene un dominio variable (región VL) en un extremo y una región constante sencilla en el otro extremo. El dominio variable de la cadena ligera se alinea con el domino variable de la cadena pesada. La región constante de una cadena ligera se alinea con la primera región constante seguido del dominio variable de la cadena pesada. En el dominio variable del anticuerpo, hay tres regiones específicas denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), las cuales son partes variables y se basan en que el anticuerpo tiene especificidad de unión. En la región variable, una porción relativamente conservada se denomina una región marco (FR). Los dominios variables de la cadena pesada y la cadena ligera completos contienen cada uno 4 FR (FR1, FR2, FR3 y FR4 secuencialmente desde el lado terminal N)

conectados por tres CDR. Las tres CDR en una cadena pesada se denominan CDRH1, CDRH2 y CDRH3 secuencialmente desde el lado terminal N y las CDR en una cadena ligera se denominan CDRL1, CDRL2 y CDRL3. CDRH3 es la más importante para la especificidad de unión de un anticuerpo a un antígeno. Las CDR de cada cadena se mantienen juntas en proximidad estrecha una con otra por las regiones FR y contribuyen a la formación de un sitio de unión a antígeno del anticuerpo en sintonía con las CDR de la otra cadena. La región constante no contribuye directamente a la unión del anticuerpo a un antígeno; sin embargo, la región constante tiene diversas funciones efectoras, tales como implicación en la citotoxicidad mediada por célula dependiente de anticuerpo (CCDA), fagocitosis por unión al receptor Fcγ, tasa semivida/aclaramiento por un receptor Fc neonatal (FcRn), y citotoxicidad dependiente de complemento (CDC) por componente C1q de una cascada de complemento.

<Preparación del anticuerpo>

El anticuerpo anti-CSPG5 para su uso en la presente invención se refiere a un anticuerpo que tiene reactividad inmunológica con una proteína CSPG5 de longitud completa o un fragmento de la misma.

El término "reactividad inmunológica" usado en el presente documento se refiere a una propiedad de un anticuerpo que se une a antígeno CSPG5, *in vivo*. A través de dicha unión, se ejerce una acción para dañar (por ejemplo, matar, suprimir o inducir regresión de) un tumor. Más específicamente, el tipo de un anticuerpo usado en la presente invención no está limitado siempre y cuando se pueda unir a la proteína CSPG5 para dañar un tumor tal como cáncer de mama, cáncer de pulmón, tumor cerebral, leucemia, linfoma maligno, adenocarcinoma, mastocitoma, carcinoma de células escamosas, melanoma o neuroblastoma.

Ejemplos del anticuerpo incluyen un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo recombinante genético y un fragmento de anticuerpo (por ejemplo, Fab y F(ab')₂), como se ha mencionado anteriormente. Asimismo, el anticuerpo puede ser cualquier clase de una molécula de inmunoglobulina tal como IgG, IgE, IgM, IgA, IgD y IgY o cualquier subclase de las mismas tal como IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 y IgA2.

El anticuerpo se puede modificar más con acetilación, formilación, amidación, fosforilación, pegilación(PEG) o similares así como glicosilación.

A continuación, se describen ejemplos de preparación de diversos anticuerpos.

(1) Anticuerpo monoclonal

Ejemplos del anticuerpo monoclonal incluyen un anticuerpo monoclonal humano y un anticuerpo monoclonal animal (no humano) (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal de ratón, un anticuerpo monoclonal de rata, un anticuerpo monoclonal de conejo y un anticuerpo monoclonal de pollo).

El anticuerpo, en el caso de un anticuerpo monoclonal, se puede preparar llevando a cabo inmunización de acuerdo con un método de inmunización general usando un antígeno deseado (proteína CSPG5 en el presente documento) o una célula que expresa el antígeno deseado como un antígeno sensibilizante, fusionando la célula inmunitaria así obtenida con una célula parental conocida en la técnica de acuerdo con una fusión celular general y sometiendo a cribado una célula productora de anticuerpo monoclonal (hibridoma) por un método de cribado general.

Primero, un animal se inmuniza con un antígeno sensibilizante de acuerdo con un método conocido en la técnica. Como método general, un antígeno sensibilizante se inyecta por vía intraperitoneal o subcutánea a un mamífero, por ejemplo, un ratón. Más específicamente, un antígeno sensibilizante, es decir, proteína CSPG5, se diluye o suspende a una cantidad apropiada de PBS (Solución salina tamponada con fosfato), solución salina fisiológica, o similares, y si se desea, se añade a la misma un adyuvante general, por ejemplo, adyuvante completo de Freund, en una cantidad apropiada y se emulsiona. Posteriormente, la emulsión se administra a un mamífero, por ejemplo, un ratón, varias veces a intervalos de 4 a 21 días. Se puede usar un vehículo apropiado en el momento de la inmunización con un antígeno sensibilizante. Como alternativa, la línea celular de leucemia K562 que expresa el gen de CSPG5 o similares se puede administrar a un animal (a inmunizar) para inmunizar el animal.

Después de que se inmunice un mamífero como se ha descrito anteriormente y se confirme un aumento del nivel del anticuerpo deseado en el suero, se recogen las células inmunitarias del mamífero y se someten a fusión celular para preparar un hibridoma que produzca un anticuerpo monoclonal. Como células inmunitarias preferibles para preparar un hibridoma, particularmente se mencionan esplenocitos.

Las células de mieloma de mamífero se usan como otras células parentales a fusionarse con las células inmunitarias. Como células de mieloma, diversas líneas celulares conocidas en la técnica tales como P3U1 (P3-X63Ag8U1), P3 (P3x63Ag8.653) (*J. Immunol.* (1979) 123, 1.548-1.550), P3x63Ag8U.1 (*Current Topics in Microbiology and Immunology* (1978) 81, 1-7), NS-1 (Kohler, G. and Milstein, C. *Eur. J. Immunol.* (1976) 6, 511-519), MPC-11 (Margulies, D. H. y col., *Cell* (1976) 8, 405-415), SP2/0 (Shulman, M. y col., *Nature* (1978) 276, 269-270), FO (deSt. Groth, S. F. y col., *J. Immunol. Methods* (1980) 35, 1-21), S194 (Trowbridge, I. S. *J. Exp. Med.* (1978) 148, 313-323), R210 (Galfre, G. y col., *Nature* (1979) 277, 131-133) se usan adecuadamente.

La fusión celular entre las células inmunitarias y las células de mieloma se puede llevar a cabo básicamente de acuerdo con un método conocido en la técnica, por ejemplo, un método de Kohler y Milstein y col., (Kohler, G. and Milstein, C. *Methods Enzymol.* (1981), 73, 3-46).

Más específicamente, la fusión celular se lleva a cabo en presencia de, por ejemplo, un acelerador de fusión celular, en una solución de cultivo de nutrición general. Como acelerador de fusión, por ejemplo, se usa polietilenglicol (PEG) o virus de Sendai (HVJ) y, si se desea, se puede añadir un agente auxiliar tal como dimetilsulfóxido para mejorar la eficacia de fusión.

La relación de las células inmunitarias y las células de mieloma a usar se puede determinar arbitrariamente. Por ejemplo, las células inmunitarias se pueden usar en una relación de 1 a 10 veces en comparación con las células de mieloma. Como solución de cultivo a usar en la fusión celular, por ejemplo, se pueden usar la solución de cultivo RPMI 1640 o la solución de cultivo MEM para la proliferación de la línea celular inmunitaria, y otras soluciones de cultivo normalmente usadas en el cultivo de estas células. Además, se puede usar un suplemento de suero tal como el suero fetal de ternera (FCS) en combinación con la solución de cultivo.

La fusión celular se lleva a cabo mezclando suficientemente cantidades predeterminadas de las células inmunitarias y las células de mieloma en la solución de cultivo y añadiendo una solución de PEG (por ejemplo, peso molecular promedio: aproximadamente 1.000 a 6.000) previamente calentada a aproximadamente 37 °C normalmente en una concentración de 30 a 60 % (p/v) seguido de agitación para formar hibridomas deseados. Posteriormente, una operación que consiste en añadir intermitentemente una solución de cultivo apropiada, centrifugar la mezcla y separar el sobrenadante, se repite para separar un agente de fusión celular desfavorable para el crecimiento del hibridoma y similares.

El hibridoma así obtenido se selecciona cultivando en una solución de cultivo de selección general tal como la solución de cultivo HAT (solución de cultivo que contiene hipoxantina, aminopterina y timidina). El cultivo en la solución de cultivo HAT se continua durante un periodo de tiempo (normalmente, diversos días a varias semanas) suficiente para que las células (células no fusionadas) distintas de un hibridoma deseado mueran. Posteriormente, se lleva a cabo un método de dilución limitante general y se llevan a cabo cribado de un hibridoma que produce un anticuerpo deseado y clonación sencilla.

Así como la obtención del anterior hibridoma mediante inmunización de un animal excepto un ser humano con un antígeno, también se puede obtener un hibridoma que produce un anticuerpo humano que tiene una actividad deseada (por ejemplo, actividad citostática) sensibilizando linfocitos humanos tales como linfocitos humanos infectados con virus de EB, con una proteína, célula que expresa la proteína o lisado de la misma *in vitro* y fusionando los linfocitos sensibilizados con células de mieloma derivadas de ser humano, por ejemplo U266 (número de registro TIB 196), que tiene un potencial de división permanente.

El hibridoma así preparado que produce un anticuerpo monoclonal se puede subcultivar en una solución de cultivo general y se almacena en nitrógeno líquido durante un largo periodo.

(2) Anticuerpo policlonal

El anticuerpo, en el caso de un anticuerpo policlonal, se puede preparar inmunizando un animal pequeño tal como un ratón, un ratón productor de anticuerpo humano o un conejo, con proteína CSPG5 natural, la proteína CSPG5 recombinante expresada en la forma de una proteína de fusión con GST y similares en un microorganismo tal como *Escherichia coli* o un péptido parcial de la misma para obtener el suero; y purificando el anticuerpo, por ejemplo, por precipitación con sulfato de amonio, columna de proteína A, proteína G, cromatografía de intercambio iónico DEAE, una columna de afinidad acoplada con proteína CSPG5 y un péptido sintético. En los ejemplos posteriormente descritos, se prepara un anticuerpo policlonal de ratón contra la región extracelular (fuera de la célula cancerosa) de la secuencia de aminoácidos de la proteína CSPG5 y se confirma que tiene el efecto antitumoral.

Como ratón productor de anticuerpo humano usado en el presente documento, por ejemplo, se conocen el ratón KM (Kirin Pharma/Medarex) y el ratón Xeno (Amgen) (por ejemplo, las Publicaciones Internacionales N.º WO02/43478 y 02/092812). Cuando se inmuniza dicho ratón con la proteína CSPG5 o un fragmento de la misma, se puede obtener un anticuerpo policlonal humano completo a partir de la sangre.

Un antígeno se puede preparar, por ejemplo, de acuerdo con un método que usa una célula animal (Publicación de Patente JP (Kohyo) N.º 2007-530068A) o un método que usa baculovirus (por ejemplo, Publicación Internacional N.º 98/46777). Cuando la inmunogenicidad de un antígeno es baja, el antígeno se puede unir a una macromolécula tal como albúmina que tiene inmunogenicidad y se somete a inmunización.

(3) Anticuerpo recombinante

El anticuerpo, en el caso de un anticuerpo recombinante genético, se puede preparar, de acuerdo con una

tecnología de recombinación genética, clonando un gen del anticuerpo a partir de un hibridoma, incorporando el gen en un vector apropiado, e introduciendo el vector en un hospedador para producir un anticuerpo recombinante (véase, por ejemplo, Carl, A. K. Borrebaeck, James, W. Larrick, "THERAPEUTIC MONOCLONAL ANTIBODIES", publicado en el Reino Unido por MACMILLAN PUBLISHERS LTD, 1990). Más específicamente, el ADNc de una región variable (región V) del anticuerpo se sintetiza a partir de ARNm de un hibridoma usando una transcriptasa inversa. Cuando se obtiene ADN que codifica una región V de un anticuerpo deseado, se une a ADN que codifica una región constante (región C) del anticuerpo deseado, y el ADN resultante se integra en un vector de expresión. Como alternativa, Se puede integrar ADN que codifica la región V del anticuerpo en un vector de expresión que contiene ADN de la región C del anticuerpo. Dicho ADN se puede integrar para expresarse bajo el control de una región reguladora de expresión, por ejemplo, un potenciador y un promotor. Posteriormente, una célula hospedadora se transforma con el vector de expresión y se deja que exprese el anticuerpo recombinante genético.

Ejemplos del anticuerpo recombinante genético incluyen un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo de monocatenario y anticuerpo multicatenario tal como un anticuerpo biespecífico.

El "anticuerpo quimérico" es un anticuerpo formado de secuencias derivadas de diferentes animales en combinación, por ejemplo, un anticuerpo constituido de una región variable de una cadena pesada y una cadena ligera de un anticuerpo de ratón y una región constante de una cadena pesada y una cadena ligera de un anticuerpo humano. Un anticuerpo quimérico se puede preparar de acuerdo con un método conocido en la técnica, por ejemplo, ligando el ADN que codifica una región V del anticuerpo y el ADN que codifica una región C del anticuerpo humano, incorporando el ligado en un vector de expresión, e introduciendo el vector de expresión en un hospedador para dejar que el hospedador produzca el anticuerpo. Como ejemplo, el ADN que codifica un anticuerpo quimérico humano/de ratón se puede preparar ligando un ADN que codifica una región variable de una cadena ligera o una cadena pesada de un anticuerpo derivado de un animal no humano (por ejemplo, ratón) a ADN que codifica una región constante de una cadena ligera o una cadena pesada de un anticuerpo derivado de un anticuerpo humano.

El "anticuerpo humanizado" es un anticuerpo modificado también denominado anticuerpo humano reformado. El anticuerpo humanizado se construye injertando una CDR de anticuerpo derivada de un animal inmunizado en una región determinante de la complementariedad de un anticuerpo humano. En la técnica también se conoce una técnica de recombinación genética general para preparar el anticuerpo humanizado. Específicamente, el anticuerpo humanizado se obtiene clonando un ADN que codifica un anticuerpo monoclonal; usando el resultante como un molde para preparar una ADN que codifica una región variable de la cadena ligera y una región variable de la cadena pesada por un método RT-PCR, o similares; determinando las secuencias de las regiones variables de la cadena ligera y la cadena pesada o las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 basándose en el sistema de numeración EU de Kabat (Kabat y col., "Sequences of proteins of Immunological Interest", 5º Ed. Public Health Service, National Institute of Health, Bethesda, Md. (1991)); posteriormente, sintetizando una secuencia de ADN, la cual está diseñada de modo que las CDR del anticuerpo de ratón y las regiones marco (región marco; FR) del anticuerpo humano se pueden ligar, por un método PCR que usa varios oligonucleótidos preparados diseñados para tener una porción coincidente en los extremos; ligando el ADN resultante al ADN que codifica una región constante del anticuerpo humano y, a continuación, integrándolo en un vector de expresión; e introduciendo el vector de expresión en un hospedador y, a continuación, dejando que el hospedador produzca un anticuerpo humanizado (véase, Publicación de Patente Europea N.º 239400, Publicación Internacional N.º WO96/02576). Las FR del anticuerpo humano a ligarse por las CDR se seleccionan de modo que las CDR (regiones determinantes de la complementariedad) forman un sitio de unión a antígeno satisfactorio. Si es necesario, los aminoácidos de la región marco en la región variable del anticuerpo se pueden sustituir de modo que las regiones determinantes de la complementariedad de un anticuerpo humano reformado formen un sitio de unión a antígeno apropiado (Sato K., y col., *Cancer Research*, 1993, 53: 851-856.). Además, las regiones marco se pueden sustituir con aquellas derivadas de diversos anticuerpos humanos (Publicación Internacional N.º WO99/51743).

Las regiones marco de un anticuerpo humano a ligarse por las CDR se seleccionan de modo que las CDR (regiones determinantes de la complementariedad) formen un sitio de unión a antígeno satisfactorio. Si es necesario, los aminoácidos de las regiones marco de la región variable de un anticuerpo se pueden sustituir de modo que las regiones determinantes de la complementariedad de un anticuerpo humano reformado formen un sitio de unión a antígeno apropiado (Sato K. y col., *Cancer Research* 1993, 53: 851-856).

Un aminoácido en la región variable (por ejemplo, FR) y la región constante se pueden, por ejemplo, sustituir con otro aminoácido, después de que se formen un anticuerpo quimérico y un anticuerpo humanizado.

La sustitución de aminoácidos incluye sustitución de aminoácidos de, por ejemplo, menos de 15, menos de 10, 8 o menos, 7 o menos, 6 o menos, 5 o menos, 4 o menos, 3 o menos o 2 o menos, preferentemente 1 a 5 aminoácidos, y más preferentemente 1 o 2 aminoácidos. El anticuerpo que tiene una sustitución debería ser funcionalmente equivalente al anticuerpo que no tiene sustitución. Deseablemente, la sustitución es una sustitución conservativa de aminoácidos, la cual es una sustitución entre aminoácidos que tienen propiedades análogas en vista de la carga, la cadena lateral, la polaridad y la aromaticidad, y similares. Los aminoácidos que tienen propiedad análoga se pueden clasificar como, por ejemplo, aminoácidos básicos (arginina, lisina, histidina), aminoácidos ácidos (ácido aspártico, ácido glutámico), aminoácidos polares no cargados (glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, cisteína,

tirosina), aminoácidos no polares (leucina, isoleucina, alanina, valina, prolina, fenilalanina, triptófano, metionina), aminoácidos ramificados (treonina, valina, isoleucina) y aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina, triptófano, histidina).

5 Los anticuerpos modificados incluyen, por ejemplo, anticuerpos unidos a diversos tipos de moléculas tales como polietilenglicol (PEG). En el anticuerpo modificado de la presente invención, el material a unirse al anticuerpo no está limitado. Dicho anticuerpo modificado se puede obtener modificando químicamente el anticuerpo obtenido. Los métodos de modificación química ya se han establecido en este campo.

10 El término "funcionalmente equivalente" usado en el presente documento significa que el anticuerpo de interés tiene la misma actividad biológica o bioquímica que el anticuerpo de la presente invención, más específicamente significa que el anticuerpo de interés tiene una acción de daño de tumor, y básicamente no se da una reacción de rechazo cuando se aplica el anticuerpo a un ser humano. Dichas actividades incluyen, por ejemplo, actividad citostáticas o actividad de unión.

15 Un método para introducir una mutación en el polipéptido es conocido como un método bien conocido por los expertos en la técnica para preparar un polipéptido que es funcionalmente equivalente a un polipéptido predeterminado. Los expertos en la técnica pueden emplear una mutagénesis específica a sitio (Hashimoto-Gotoh, T. y col., (1995) *Gene*, 152, 271-275; Zoller, M. J. and Smith, M. (1983) *Methods Enzymol.* 100, 468-500; Kramer, W. y col., (1984) *Nucleic Acids Res.* 12, 9.441-9.456; Kramer, W. and Fritz, H. J., (1987) *Methods Enzymol.* 154, 350-367; Kunkel, T. A., (1985) *Proc Natl Acad Sci USA*, 82, 488-492; Kunkel (1988) *Methods Enzymol.*, 85, 2.763-2.766) para introducir apropiadamente una mutación en el anticuerpo para su uso en la presente invención, preparando de ese modo un anticuerpo funcionalmente equivalente al anticuerpo.

25 Un anticuerpo que reconoce un epítipo de la proteína CSPG5 que el anticuerpo anti-CSPG5 reconoce se puede obtener por un método conocido por los expertos en la técnica. Por ejemplo, el anticuerpo se prepara determinando el epítipo de la proteína CSPG5 reconocida por el anticuerpo anti-CSPG5 por un método general (por ejemplo, mapeo de epítipo) y preparando el anticuerpo usando un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos contenida en el epítipo como inmunógeno. Además de este método, el anticuerpo se puede obtener por un método, por ejemplo, determinando los epítipos de los anticuerpos preparados por un método general y seleccionando un anticuerpo que tiene el mismo epítipo que en el anticuerpo anti-CSPG5.

30 La constante de afinidad (constante de unión) K_a (Kon/Koff) del anticuerpo anti-CSPG5 para su uso en la presente invención para la proteína CSPG5 sobre una superficie de célula cancerosa es de al menos 10^7 M^{-1} , al menos 10^8 M^{-1} , al menos $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$, al menos 10^9 M^{-1} , al menos $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$, al menos 10^{10} M^{-1} , al menos $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$, al menos 10^{11} M^{-1} , al menos $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$, al menos 10^{12} M^{-1} o al menos 10^{13} M^{-1} . Cuando se aumenta la afinidad de unión, se puede obtener una actividad antitumoral más fuerte. Por consiguiente, si se puede obtener un anticuerpo anti-CSPG5 que tenga una afinidad de unión para la proteína CSPG5, se puede esperar un efector antitumoral más fuerte, el anticuerpo se puede aplicar a una composición farmacéutica para tratar y/o prevenir el cáncer.

40 El "anticuerpo monocatenario" es un anticuerpo obtenido ligando linealmente una región variable de la cadena pesada y una región variable de la cadena ligera por un enlazador. El ADN que codifica un anticuerpo monocatenario se puede preparar ligando ADN que codifica una región variable de la cadena pesada, ADN que codifica un enlazador y ADN que codifica la región variable de la cadena ligera. La región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera usadas en el presente documento son aquellas preferentemente derivadas de un anticuerpo humano o aquellas derivadas de un anticuerpo humano, en las que las CDR solas se reemplazan por aquellas de un anticuerpo derivado de un animal no humano (por ejemplo, ratón, rata, pollo). Un enlazador consiste en 12 a 19 aminoácidos, e incluye, por ejemplo, (G4S)₃ que consiste en 15 aminoácidos (G. B. Kim y col., *Protein Engineering Design and Selection*, 2007, 20 (9): 425-432).

50 En el caso del "anticuerpo biespecífico (diacuerpo)", el cual es un anticuerpo capaz de unirse específicamente a dos epítipos diferentes, se puede preparar el ADN que codifica el anticuerpo biespecífico ligando, por ejemplo, el ADN que codifica la región variable de la cadena pesada A, el ADN que codifica la región variable de la cadena ligera B, el ADN que codifica la región variable de la cadena pesada B y el ADN que codifica la región variable de la cadena ligera A secuencialmente en este orden (siempre que el ADN que codifica la región variable de la cadena ligera B y el ADN que codifica la región variable de la cadena pesada B estén conectados por el ADN que codifica un enlazador como se ha mencionado anteriormente). Las regiones variables de la cadena pesada y las regiones variables de la cadena ligera preferentemente se derivan cada una de un anticuerpo humano o se derivan de un anticuerpo humano, en las que las CDR solas se reemplazan por aquellas de un anticuerpo derivado de un animal no humano (por ejemplo, ratón, rata, pollo).

60 Un anticuerpo recombinante se puede preparar integrando el ADN recombinante preparado como se ha descrito anteriormente en un único o una pluralidad de vectores apropiados, introduciendo el(los) vector(es) en una célula hospedadora (por ejemplo, células de mamífero, células de levadura, células de insecto) y dejando que la célula hospedadora (co)expresen el ADN recombinante (P. J. Delves., "ANTIBODY PRODUCTION ESSENTIAL TECHNIQUES", 1997 WILEY, P. Shepherd and C. Dean., "Monoclonal Antibodies", 2000 OXFORD UNIVERSITY

PRESS; J. W. Goding., "Monoclonal Antibodies: principles and practice"., 1993 ACADEMIC PRESS).

El anticuerpo como se ha mencionado anteriormente preferentemente tiene una actividad citotóxica y puede producir un efecto antitumoral debido a la actividad citotóxica.

El anticuerpo para su uso en la presente invención se puede conjugar con otro agente antitumoral. El anticuerpo y el agente antitumoral se pueden conjugar por un espaciador que tiene un grupo reactivo a un grupo amino, un grupo carboxilo, un grupo hidroxilo, un grupo tiol, y similares (ejemplos del grupo reactivo incluyen un grupo succinimidilo, un grupo formilo, un grupo 2-piridilditio, un grupo maleimidilo, un grupo alcóxicarbonilo y un grupo hidroxilo).

Ejemplos del agente antitumoral incluyen los siguientes agentes antitumorales conocidos por el público por la bibliografía, etc., tales como paclitaxel, doxorubicina, daunorubicina, ciclofosfamida, metotrexato, 5-fluorouracilo, tiotepa, busulfán, improsulfán, piposulfán, benzodopa, carbocuna, meturedopa, uredopa, altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietileniofosforamida, trimetilolomelamina, bulatacina, butalacina, camptotecina, briostatina, calistatina, criptoficina 1, criptoficina 8, dolastatina, duocarmicina, eleuterobina, pancratistatina, sarcodictina, espongistatina, clorambucilo, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo, carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina, calicheamicina, dinemicina, clodronato, esperamicina, aclacinomicina, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicina, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carcinofilina, cromomicina, dactinomicina, detorbicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, adriamicina, epirubicina, esolubicina, idarubicina, marcelomicina, mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamina, olivomicina, pepromicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina, denopterina, pteropterina, trimetrexato, fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamipurina, tioguanina, ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos, tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitostanol, mepitostano, testolactona, aminoglutetimida, mitotano, trilostano, ácido frolínico, aceglatona, glucósido de aldofosfamida, ácido aminolevulínico, eniluracilo, amsacrina, bestrabucilo, bisantreno, edatraxato, defofamina, demecolcina, diazicuona, elfornitina, acetato de eliptinio, epotilona, etoglúcido, lentinano, lonidamina, maitansina, ansamitocina, mitoguazona, mitoxantrona, mopidanmol, nitraerina, pentostatina, fenamet, pirarrubicina, losoxantrona, ácido podofilínico, 2-etilhidrazida, procarbazona, razoxano, rizoxina, esquizofilano, espirogermanio, ácido tenuazónico, triazicuona, roridina A, anguidina, uretano, vindesina, dacarbazina, manomustina, mitobronitol, mitolactol, pipobromano, gacitosina, docetaxel, clorambucilo, gemcitabina, 6-tioguanina, mercaptopurina, cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, vinblastina, etopósido, ifosfamida, mitoxantrona, vincristina, vinorelbina, novantrona, tenipósido, edatrexato, daunomicina, aminopterina, xeloda, ibandronato, irinotecán, un inhibidor de topoisomerasa, difluorometilornitina (DMFO), ácido retinoico, capecitabina y sales o derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Un isótopo radiactivo conocido por el público por la bibliografía, etc., tal como ^{211}At , ^{131}I , ^{125}I , ^{90}Y , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{153}Sm , ^{212}Bi , ^{32}P , ^{175}Lu y ^{176}Lu , se pueden unir al anticuerpo para su uso en la presente invención. Como isótopo radioactivo, preferentemente, un isótopo radioactivo es eficaz para tratar y diagnosticar un tumor.

El anticuerpo para su uso en la presente invención es un anticuerpo que tiene reactividad inmunológica con la proteína CSPG5 o un anticuerpo que específicamente reconoce la proteína CSPG5. El anticuerpo debería ser un anticuerpo que tiene una estructura de modo que no se produce reacción o poca en el animal objetivo al cual se administra el anticuerpo. Ejemplos de dicho anticuerpo en el caso en el que un animal objetivo es, un ser humano etc., incluyen un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado y un anticuerpo quimérico (por ejemplo, un anticuerpo quimérico humano-ratón).

Se prepara un hibridoma capaz de producir un anticuerpo humano o anticuerpo no humano (por ejemplo, anticuerpo de ratón) contra la proteína CSPG5 humana. Se recupera un anticuerpo monoclonal producido por el hibridoma y se determina si es o no un anticuerpo deseado basándose en la propiedad de unión inmunológica a la proteína CSPG5 humana y la actividad citotóxica como indicador. De esta manera, se identifica y selecciona un hibridoma productor de anticuerpo monoclonal deseado. Posteriormente, como se ha descrito anteriormente, el ADN que codifica las regiones variables de la cadena pesada y la cadena ligera de un anticuerpo deseado se prepara a partir del hibridoma y se determina la secuencia de nucleótidos del mismo. La información de la secuencia de nucleótidos del ADN se usa para preparar otro anticuerpo.

La presente divulgación proporciona además ADN que codifica el anticuerpo para su uso en la presente invención como se ha descrito anteriormente, el ADN que codifica la cadena pesada o la cadena ligera del anticuerpo anteriormente descrito, o el ADN que codifica una región variable de la cadena pesada o la cadena ligera del anticuerpo anteriormente descrito.

Las CDR codificadas por estas moléculas de ADN son regiones que determinan la especificidad del anticuerpo. La secuencia de nucleótidos que codifica la región (más específicamente, la región constante y la región marco) distinta de las CDR del anticuerpo puede ser una secuencia de nucleótidos derivada de otro anticuerpo. El "otro anticuerpo" usado en el presente documento puede incluir un anticuerpo derivado de un organismo distinto de un ser humano;

sin embargo, un anticuerpo derivado de un ser humano es preferible para reducir los efectos secundarios. Más específicamente, en el anterior ADN, las regiones que codifican las regiones marco individuales de la cadena pesada y la cadena ligera y las regiones que codifican sus regiones constantes individuales preferentemente contienen secuencias de nucleótidos que codifican las correspondientes secuencias de aminoácidos derivadas de un anticuerpo humano.

El ADN de un anticuerpo que sirve como principio activo de la presente invención, se puede obtener, por ejemplo, por el método anterior o el siguiente método. Primero, el ARN total se prepara a partir de un hibridoma relacionado con el anticuerpo de la presente invención por un kit de extracción de ARN comercialmente disponible y, a continuación, el ADNc se sintetiza con una transcriptasa inversa usando cebadores aleatorios, etc. Posteriormente, el ADNc que codifica el anticuerpo se amplifica por un método PCR usando oligonucleótidos de las secuencias conservadas en las regiones variables del gen de la cadena pesada y el gen de la cadena ligera de un anticuerpo de ratón conocido, como cebadores. La secuencia codificante de la región constante se puede obtener amplificando una secuencia conocida por un método PCR. La secuencia de nucleótidos del ADN se puede determinar por un método rutinario, por ejemplo, integrando ADN en un plásmido de secuenciación o un fago, etc.

Se considera que el efecto antitumoral del anticuerpo anti-CSPG5 a usar en la presente invención sobre las células cancerosas que expresan la proteína CSPG5 se produce por el mecanismo de citotoxicidad mediada por célula dependiente de anticuerpo (CCDA) por células efectoras y citotoxicidad dependiente de complemento (CDC).

Por consiguiente, la actividad del anticuerpo anti-CSPG5 usado en la presente invención se puede evaluar midiendo la actividad CCDA o la actividad CDC contra las células cancerosas que expresan la proteína CSPG5 *in vitro*, como se describe específicamente en los Ejemplos.

El anticuerpo anti-CSPG5 se considera que es útil para tratar o prevenir el cáncer, puesto que el anticuerpo usado en la presente invención se une a la región extracelular de la proteína CSPG5 presente sobre la superficie de la célula cancerosa y ejerce una acción antitumoral basándose en la(s) actividad(es) anteriormente mencionada(s). Más específicamente, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que contiene un anticuerpo anti-CSPG5 como principio activo para su uso en el tratamiento y/o la prevención del cáncer. Cuando el anticuerpo anti-CSPG5 se usa para la administración a un cuerpo humano (tratamiento de anticuerpo), el anticuerpo anti-CSPG5 preferentemente se prepara como un anticuerpo humano o un anticuerpo humanizado para reducir la inmunogenicidad.

<Unión a células que expresan antígeno>

La capacidad de un anticuerpo de unirse a la proteína CSPG5 se puede especificar, por ejemplo, por un ensayo de unión tal como ELISA, transferencia Western, inmunofluorescencia y análisis de citometría de flujo, como se describe en los Ejemplos.

<Tinción inmunohistoquímica>

Con respecto al anticuerpo que reconoce la proteína CSPG5, su reactividad con la proteína CSPG5 se puede comprobar usando tejidos y lonchas de los mismos de acuerdo con el método de tinción inmunohistoquímica conocido por los expertos en la técnica. Por ejemplo, un tejido obtenido de un paciente durante una operación quirúrgica; o un tejido obtenido de un animal habiendo injertado un tejido heterólogo mediante la administración de células que expresan la proteína CSPG5 de manera natural o después de transfección; loncha de tejido congelado fijada con paraformaldehído o acetona; o loncha de tejido incrustado en parafina fijada con paraformaldehído.

Un anticuerpo que tiene una reactividad con la proteína CSPG5 se puede teñir con diversos métodos para tinción inmunohistoquímica. Por ejemplo, la visualización se puede realizar haciendo reaccionar un anticuerpo de cabra anti-ratón conjugado con peroxidasa de rábano picante y un anticuerpo de cabra anti-conejo conjugado con peroxidasa de rábano picante.

<Composición farmacéutica>

Una diana de la composición farmacéutica para su uso en un método para tratar y/o prevenir cáncer según la presente invención es la proteína CSPG5 o un fragmento de la misma que consiste en al menos 7 o más restos de aminoácidos consecutivos.

Los términos "tumor" y "cáncer" usados en el presente documento se refieren a neoplasmas malignos y se usan de manera intercambiable.

En la presente invención, un cáncer diana es un cáncer que expresa el gen de CSPG5, preferentemente, en particular, cánceres que expresan genes que codifican las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 y 16 o polipéptidos que contienen secuencias parciales de las secuencias de aminoácidos que consisten en al menos 7 aminoácidos consecutivos, más preferentemente, cánceres excepto el cáncer de

ovarios, más preferentemente, cáncer de mama, cáncer de pulmón, tumor cerebral, leucemia, linfoma maligno, mastocitoma, melanoma o neuroblastoma, más preferentemente, leucemia o linfoma maligno.

Ejemplos de estos cánceres específicos incluyen, pero sin limitación, adenocarcinoma de mama, adenocarcinoma de mama complejo, tumor mixto maligno en la glándula mamaria, adenocarcinoma papilar ductal, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de células escamosas, cáncer de célula pequeña, cáncer de célula grande, glioma el cual es un tumor de tejido neuroepitelial, ependimoma, neurocitoma, tumor neuroectodérmico de feto, neurinoma, neurofibroma, meningioma, leucemia linfocítica crónica, linfoma de Hodgkin, linfoma de tracto gastrointestinal, linfoma gastrointestinal, linfoma de célula pequeña a mediana, cáncer cecal, cáncer de colon ascendente, cáncer de colon descendente, cáncer de colon transversal, cáncer de colon sigmoide y cáncer rectal.

Un animal del interés para el cual se usa la composición farmacéutica según la presente invención es un animal; por ejemplo, primates, animales de compañía, animales domésticos y animales para uso competitivo, en particular preferentemente, seres humanos, perros y gatos.

Cuando se usa el anticuerpo para su uso según la presente invención como una composición farmacéutica, el anticuerpo se puede formular por un método conocido por los expertos en la técnica. Por ejemplo, se puede usar vía parenteral en la forma de una solución estéril o suspensión para inyección cuando el anticuerpo se mezcla con agua o un líquido farmacéuticamente aceptable. También se contempla que el anticuerpo se mezcle apropiadamente con un vehículo o medio farmacéuticamente aceptable; por ejemplo, agua estéril, solución salina fisiológica, un aceite vegetal, un agente emulsionante, un agente de suspensión, un tensioactivo, un estabilizante, un agente aromatizante, un excipiente, un vehículo, un agente antiséptico y/o un ligante, en una dosis unitaria requerida para compuestos farmacéuticos generalmente aceptados para preparar agentes medicinales. La cantidad de principio activo en estos agentes medicinales se especifica de modo que se pueda obtener apropiadamente la dosis dentro de un intervalo predeterminado.

La composición estéril para la inyección se puede formular usando un vehículo tal como agua destilada para inyección de acuerdo con una manera rutinaria para la preparación de agentes medicinales.

Ejemplos de una solución acuosa para inyección incluyen solución salina fisiológica y soluciones isotónicas que contienen glucosa u otro(s) adyuvante(s); por ejemplo, D-sorbitol, D-manosa, D-manitol y cloruro de sodio, y se puede usar en combinación con un agente solubilizante apropiado tal como un alcohol, por ejemplo, etanol, un polialcohol tal como propilenglicol y polietilenglicol, y un tensioactivo no iónico tal como polisorbato⁸⁰(TM) y HCO-60.

Ejemplos de una solución oleosa incluyen aceite de sésamo y aceite de soja. Un agente solubilizante tal como benzoato de bencilo y alcohol bencilico se puede usar en combinación. Además, se pueden mezclar en combinación un tampón tal como tampón fosfato y un tampón de acetato de sodio, un agente balsámico tal como hidrocloreto de procaina, un estabilizador tal como alcohol bencilico y fenol, y/o un antioxidante. La solución de inyección preparada normalmente se almacena en ampollas apropiadas.

Ejemplos del método de administración incluyen administración oral o administración parenteral, preferentemente administración parenteral, en particular, inyección, administración nasal, administración transpulmonar y administración transdérmica. Ejemplos de la inyección incluyen inyección intravenosa, inyección intramuscular, inyección intraperitoneal e inyección subcutánea para la administración sistémica o administración local.

El método de administración se puede seleccionar apropiadamente basándose en la edad, el peso, el sexo y el síntoma del paciente. Como dosis de una composición farmacéutica que contiene un anticuerpo o un polinucleótido que codifica un anticuerpo se puede seleccionar del intervalo de, por ejemplo, 0,0001 mg a 1000 mg por vez por peso corporal de 1 kg, o del intervalo de, por ejemplo, 0,001 a 100.000 mg/cuerpo por paciente. Sin embargo, la dosis no está limitada por estos valores numéricos. La dosis y el método de administración puede variar dependiendo del peso corporal, la edad, el sexo, el síntoma del paciente, y similares y se puede seleccionar apropiadamente por los expertos en la técnica.

Ejemplos

A continuación, la presente invención se describe de manera más específica por medio de los Ejemplos; sin embargo, el alcance de la presente invención no está limitado por estos ejemplos.

<Ejemplo 1: identificación de nueva proteína antígeno del cáncer por el método SEREX>

(1) Preparación de la genoteca de ADNc

El ARN se extrajo del tejido testicular de un perro sano de acuerdo con el método de Guanidinio ácido-fenol-cloroformo y, a continuación, se purificó ARN poli A usando el kit de purificación de ARNm de Oligotex-dT30 (fabricado por Takara Shuzo Co., Ltd.) de acuerdo con el protocolo adjunto al kit.

Se sintetizó la fagoteca de ADNc de testículos de perro usando el ARNm (5 µg) anteriormente obtenido. La fagoteca de ADNc se preparó usando el kit de síntesis de ADNc, el kit de síntesis de ADNc de ZAP o el kit de clonación GigapackIII Gold de ADNc de ZAP (fabricado por Agilent Technologies) de acuerdo con el protocolo adjunto al kit. El tamaño de la fagoteca de ADNc preparada era de $7,73 \times 10^5$ ufp/ml.

5

(2) Cribado de la genoteca de ADNc con suero

Se llevó a cabo inmuno-cribado usando la fagoteca de ADNc de testículos de perro anteriormente preparada. Más específicamente, el hospedador *Escherichia coli* (XL1-Blue MRF') se infectó con fagos para obtener 2.210 clones en una placa de agarosa NZY de ϕ 90 × 15 mm y se llevó a cabo el cultivo a 42 °C durante 3 a 4 horas para formar placas. La placa se cubrió con membrana de nitrocelulosa (Hybond C Extra: fabricada por GE Healthcare Bio-Scienece) se impregnó con IPTG (iso-propil-β-D-tiogalactosidasa) a 37 °C durante 4 horas para inducir la expresión de proteína y la proteína se transfirió a la membrana. Posteriormente, se tomó la membrana, se sumergió en TBS (Tris-HCl 10 mM, NaCl 150 mM pH 7,5) que contenía 0,5 % de leche desnatada en polvo y se agitó a 4 °C durante una noche para suprimir una reacción no específica. El filtro se dejó reaccionar con el suero diluido 500 veces de un perro enfermo a temperatura ambiente durante 2 a 3 horas.

Como suero de perro enfermo anteriormente mencionado, se usó el suero extraído de un perro con cáncer de mama. El suero se almacenó a -80 °C y se calentó previamente justo antes de usarse. El pretratamiento se llevó a cabo de acuerdo con el siguiente método. Primero, el hospedador *Escherichia coli* (XL1-Blue MRF') se infectó con fagos λ ZAP Express que no tenían insertados genes extraños y se cultivaron sobre un medio de placa NZY a 37 °C durante una noche. Luego, se añadió un tampón (NaHCO₃ 0,2 M pH 8,3) que contenía NaCl 0,5 M a la placa, y se dejó reposar a 4 °C durante 15 horas. Posteriormente, se recuperó el sobrenadante como un líquido de extracción de *Escherichia coli/phage*. Posteriormente, el líquido de extracción de *Escherichia coli/phage* recuperado se pasó a través de una columna NHS (fabricada por GE Healthcare Bio-Science) para permitir que las proteínas derivadas de *Escherichia coli/phage* se inmovilicen en la columna. El suero de perro enfermo se pasó a través de la columna con proteína inmovilizada para reaccionar para separar el anticuerpo adsorbido a *Escherichia coli* y el fago (proteína) del suero. La fracción de suero pasada a través de la columna se diluyó 500 veces con TBS que contenía 0,5 % de leche desnatada en polvo y se usó como muestra para el inmuno-cribado.

El suero así tratado y la proteína de fusión anterior se sometieron a transferencia sobre una membrana y la membrana se lavó cuatro veces con TBS-T (Tween al 0,05 % (marca registrada) 20/TBS), a continuación, se dejó reaccionar con anti-IgG de perro de cabra (anti-IgG-h de perro de cabra + I HRP conjugado; fabricado por BETHYL Laboratories) como un anticuerpo secundario, el cual se diluyó 5.000 veces con TBS que contenía 0,5 % de leche desnatada en polvo, a temperatura ambiente durante una hora. La detección se realizó mediante una reacción cromogénica enzimática usando solución de reacción NBT/BCIP (fabricada por Roche). Se recogieron las colonias correspondientes a sitios positivos de reacción cromogénica de la placa de agarosa NZY de ϕ 90 × 15 mm y se disolvieron en 500 µl de solución tampón SM (NaCl 100 mM, MgClSO₄ 10 mM, Tris-HCl 50 mM, gelatina al 0,01%, pH 7,5). El cribado secundario y el terciario se llevaron a cabo repitiendo el anterior método hasta que se unificaron las colonias positivas a la reacción cromogénica. A través del cribado de los 9.110 clones de fago que reaccionaban con IgG en el suero, se aisló un clon positivo sencillo.

(3) Búsqueda de homología del gen de antígeno aislado

Para someter el clon positivo sencillo aislado por el método anterior al análisis de secuencia de nucleótidos, se llevó a cabo una operación para transferir un vector fago a un vector plasmídico. Más específicamente, se mezclaron una solución (200 µl) que contenía el hospedador *Escherichia coli* (XL1-Blue MRF') preparada para mostrar una absorbancia a DO₆₀₀ de 1,0, una solución fago purificada (100 µl) y 1 µl adicionales de fago auxiliar ExAssit (fabricado por Agilent Technologies) y se dejaron reaccionar a 37 °C durante 15 minutos. Se añadió 3 ml de medio LB y el cultivo se llevó a cabo a 37 °C durante 2,5 a 3 horas. Inmediatamente después del cultivo, el medio se mantuvo caliente en un baño de agua de 70 °C durante 20 minutos, y se centrifugó a 4 °C y 1.000 x g, durante 15 minutos. Se recuperó el sobrenadante como una solución de fagémido. Posteriormente, se mezclaron una solución (200 µl) que contenía un hospedador fagémido *Escherichia coli* (SOLR) preparada para tener una absorbancia a DO₆₀₀ de 1,0 y una solución de fago purificada (10 µl) y se dejaron reaccionar a 37 °C durante 15 minutos. La solución resultante (50 µl) se sembró sobre un medio de agar LB que contenía ampicilina (concentración final: 50 µg/ml) y se cultivó a 37 °C durante la noche. Se recogió una colonia de SOLR transformada sencilla, se cultivó en un medio LB que contenía ampicilina (concentración final: 50 µg/ml a 37 °C y posteriormente, se purificó por el kit QIAGEN plasmid Miniprep (fabricado por QIAGEN) para obtener un ADN plásmido que tenía un inserto deseado.

El plásmido purificado se sometió a secuenciación "primer walking" usando cebador T3 representado por la SEQ ID NO: 17 y cebador T7 representado por la SEQ ID NO: 18 para analizar la secuencia de longitud completa del inserto. Por la secuenciación se obtuvo la secuencia génica representada por la SEQ ID NO: 1. Usando la secuencia de nucleótidos y la secuencia de aminoácidos del gen, se llevó a cabo la búsqueda de identidad de secuencia (búsqueda de la secuencia idéntica con genes conocidos) mediante un programa de búsqueda de identidad de secuencia, búsqueda BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Como resultado, se encontró que el gen anteriormente obtenido era el gen de CSPG5. En el gen de CSPG5 humano, el cual es un factor homólogo humano

con un gen de CSPG5 canino, una identidad de secuencia de nucleótidos era del 87 % y en proteína CSPG5 humana, una identidad de secuencia de aminoácidos era del 87 %. En el gen de CSPG5 de gato, una identidad de secuencia de nucleótidos era del 92 %. En proteína CSPG5 de gato, una identidad de secuencia de aminoácidos era del 91 %. En el factor homólogo de ratón, es decir, gen de CSPG5 de ratón, una identidad de secuencia de nucleótidos era del 84 %. En la proteína CSPG5 de ratón, una identidad de secuencia de aminoácidos era del 85 %. Las secuencias de nucleótidos del gen de CSPG5 humano se representan por la SEQ ID NO: 3, 5, 7, 9 y 11. Las secuencias de aminoácidos de la proteína CSPG5 humana se representan por la SEQ ID NO: 4, 6, 8, 10 y 12. La secuencia de nucleótidos del gen de CSPG5 de gato se representa por la SEQ ID NO: 13. La secuencia de aminoácidos de la proteína CSPG5 de gato se representa por la SEQ ID NO: 14. La secuencia de nucleótidos del gen de CSPG5 de ratón se representa por la SEQ ID NO: 15. La secuencia de aminoácidos de la proteína CSPG5 de ratón se representa por la SEQ ID NO: 16.

(4) Análisis de la expresión génica en tejidos

La expresión del gen obtenido por el anterior método en tejidos normales y tejidos cancerosos de un perro, ser humano y ratón y líneas celulares de un cáncer se comprueba por un método RT-PCR (Transcriptasa inversa-PCR). La reacción de transcripción inversa se llevó a cabo como sigue. Primero, se extrajo el ARN total de los tejidos individuales (50 a 100 mg) y las líneas celulares individuales (5 a 10 x 10⁶ células) mediante el uso de reactivo TRIZOL (fabricado por Thermo Fisher Scientific) de acuerdo con el protocolo adjunto. Usando el ARN total, se sintetizó ADNc usando el sistema de Síntesis de Primera Hebra Superscript para RT-PCR (fabricado por Thermo Fisher Scientific) de acuerdo con el protocolo adjunto. Como ADNc de los tejidos normales humanos (cerebro, hipocampo, testículos, colon, placenta), se usaron ADNc del acervo génico (fabricado por Thermo Fisher Scientific), ADNc QUICK-Clone (fabricado por Clontech Laboratories, Inc.) y genoteca de ADNc de inserto grande (fabricada por Clontech Laboratories, Inc.). La reacción de PCR se llevó a cabo usando los cebadores específicos a gen obtenidos (los cebadores caninos se representan por las SEQ ID NO: 19 y 20, los cebadores humanos se representan por las SEQ ID NO: 21 y 22, los cebadores de ratón se representan por las SEQ ID NO: 23 y 24) como sigue. Primero, los reactivos y el tampón adjunto se añadieron a 0,25 µl de la muestra preparada por la reacción de la transcripción inversa para obtener una mezcla que tenía una cantidad total de 25 µl que contenía los anteriores cebadores (2 µM para cada uno), dNTPs (0,2 mM para cada uno) y una 0,65 U ExTaq polimerasa (fabricada por Takara Shuzo Co., Ltd.). La mezcla de reacción se sometió a un Ciclador térmico (fabricado por BIO-RAD) en el que un ciclo que consistía en una reacción a 94 °C durante 30 segundos, una reacción a 55 °C durante 30 segundos y una reacción a 72 °C durante un minuto, se repitió 30 veces. Para comparación, se usaron simultáneamente un cebador específico a GAPDH (los cebadores GAPDH caninos y humanos se representan por las SEQ ID NO: 25 y 26, los cebadores GAPDH de ratón se representan por las SEQ ID NO: 27 y 28). Como resultado, como se muestra en la Figura 1, el gen CSPG5 canino no se expresó en casi todos los tejidos caninos normales, pero fuertemente se expresó en el tejido tumoral canino. De manera similar al gen de CSPG5 canino, raramente se confirmó la expresión de los genes de CSPG5 humano y de ratón en los tejidos de ratón y humanos normales; sin embargo, se detectó su expresión en células cancerosas, por ejemplo, cáncer de mama, cáncer de pulmón, tumor cerebral, cáncer de ovarios, leucemia, células de linfoma maligno (Figuras 2 y 3).

<Ejemplo 2: preparación de proteína CSPG5 humana>

(1) Clonación del ADNc de longitud completa que codifica la CSPG5 humana y el ADNc que codifica la región extracelular de la CSPG5 humana

Un ADNc de longitud completa que codifica el gen de CSPG5 humano se obtuvo clonando de acuerdo con el siguiente método basándose en el gen representado por la SEQ ID NO: 7 obtenida en el Ejemplo 1. La PCR se llevó a cabo como sigue: Los reactivos y el tampón adjunto se mezclaron para obtener una cantidad total de 50 µl de mezcla que contenía la molécula de ADNc (1 µl), la cual era una de las extraídas de los diversos tejidos y células (preparadas en el Ejemplo 1) y cuya expresión se confirmó por el método RT-PCR, dos tipos de cebadores (0,4 µM para cada uno) que tenían secuencias de escisión por enzima de restricción KpnI y EcoRI (representadas por las SEQ ID NO: 29 y 30), dNTP 0,2 mM y 1,25 U PrimeSTAR HS polimerasa (fabricada por Takara Shuzo Co., Ltd.); y el resultante se sometió a un Ciclador Térmico (fabricado por BIO-RAD), en el que se repitió 30 veces un ciclo (PCR) que consistía en una reacción a 98 °C durante 10 segundos y una reacción a 68 °C durante 2,5 minutos. Por casualidad, los anteriores dos tipos de cebadores se usaron para amplificar una región que codificaba una secuencia de aminoácidos de longitud completa representada por la SEQ ID NO: 7. Después de la PCR, el ADN amplificado se sometió a electroforesis sobre un gel de agarosa al 1 % y un fragmento de ADN de aproximadamente 1,7 kpb se purificó mediante el uso del kit de Extracción de Gel QIAquick (fabricado por QIAGEN). El producto amplificado obtenido por la anterior reacción de PCR se insertó en pcDNA3.1 (Thermo Fisher Scientific) (más adelante referido como CSPG5/pcDNA3.1) y se confirmó que era una secuencia de ADNc codificante el gen de CSPG5 humano por secuenciación usando un secuenciador de ADN. La secuencia representada por la SEQ ID NO: 7 representa la secuencia de nucleótidos del gen de CSPG5 humano y la secuencia representada por la SEQ ID NO: 8 representa la secuencia de aminoácidos de la proteína CSPG5 humana.

Una reacción de PCR se llevó a cabo basándose en la SEQ ID NO: 7 como sigue. Los reactivos y el tampón adjunto se mezclaron para obtener una cantidad total de 50 µl de mezcla que contenía dos tipos de cebadores (0,4 µM para

cada uno) (representados por las SEQ ID NO: 29 y 30) que contenían secuencias de escisión por enzima de restricción KpnI y EcoRI, dNTP 0,2 mM y 1,25 U PrimeSTAR HS polimerasa (fabricada por Takara Shuzo Co., Ltd-), y el resultante se sometió a un Ciclador Térmico (fabricado por BIO-RAD) en el que se repitió 30 veces el ciclo que consistía en una reacción a 98 °C durante 10 segundos y una reacción a 68 °C durante 2,5 minutos. Por casualidad, se usaron los dos tipos anteriores de cebadores para amplificar una región que codificaba la secuencia de aminoácidos de la región extracelular de la proteína CSPG5 representada por la SEQ ID NO: 7. Después de la PCR, el ADN amplificado se sometió a electroforesis sobre un gel de agarosa al 1 % y un fragmento de ADN de aproximadamente 1,3 kpb se purificó mediante el uso del kit de Extracción de Gel QIAquick (fabricado por QIAGEN). El producto amplificado obtenido por la anterior reacción de PCR se ligó a pcDNA3.1 al cual se insertaba ADNc codificante de una proteína IgG2a Fc de ratón para obtener un vector de expresión (más adelante referido como pcDNA-hCSPG5 ECD-IgG2aFc) codificante de una región extracelular de CSPG5 humana/una proteína de fusión IgG2a Fc de ratón (más adelante referida como hCSPG5 ECD-mIgG2aFc) y se confirmó que era una secuencia de ADNc codificante de hCSPG5 ECD-mIgG2aFc por secuenciación usando un secuenciador de ADN. La secuencia representada por la SEQ ID NO: 32 representa la secuencia de nucleótidos que codifica hCSPG5 ECD-mIgG2aFc y la secuencia representada por la SEQ ID NO: 33 representa la secuencia de aminoácidos de hCSPG5 ECD-mIgG2aFc.

(2) Preparación de hCSPG5 ECD-mIgG2aFc

Como antígeno de inmunización para preparar un anticuerpo contra la proteína CSPG5, se preparó hCSPG5 ECD-mIgG2aFc.

Un vector de expresión, pcDNA-hCSPG5 ECD-mIgG2aFc se introdujo en una línea celular de riñón fetal humano, célula HEK293, por un método de lipofección. hCSPG5 ECD-mIgG2aFc se purificó del sobrenadante del cultivo 7 días después de la introducción. El sobrenadante del cultivo se aplicó a una columna Hi Trap proteinG HP (GE Healthcare BioScience), se lavó con un tampón de unión (fosfato de sodio 20 mM (pH 7,0)), y se eluyó con un tampón de elución (glicina 0,1 M-HCl (pH 2,7)). El líquido eluido se colocó en un tubo que contenía un tampón de neutralización (Tris-HCl 1 M (pH 9,0)) y se neutralizó inmediatamente. Luego, el líquido eluido obtenido por el método anterior se sometió a ultrafiltración usando NANOSEP 10K OMEGA (fabricado por PALL) y reemplazo con una solución tampón de fosfato fisiológico (fabricado por NISSUI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) y, a continuación, se filtró de manera aséptica por HT Tuffryn Acrodisc de 0,22 µm (fabricado por PALL) y se usó en los siguientes experimentos.

<Ejemplo 3: Preparación del anticuerpo policlonal que se une a la región extracelular CSPG5>

(1) Preparación del anticuerpo policlonal contra CSPG5

Para obtener un anticuerpo que se une a la región extracelular de CSPG5, se mezclaron 0,1 mg de hCSPG5 ECD-mIgG2aFc preparado como se ha descrito anteriormente como antígeno y una cantidad equivalente de adyuvante completo de Freund (CFA) y la mezcla resultante se administró por vía subcutánea a un ratón 4 veces cada dos semanas. Posteriormente, se extrajo sangre para obtener un antisero que contenía un anticuerpo policlonal. El antisero se purificó por el vehículo Proteína G (fabricado por GE Healthcare BioScience) para obtener un anticuerpo policlonal contra hCSPG5 ECD-mIgG2aFc. El suero de un ratón al que no se administró el antígeno se purificó mediante el uso del vehículo Proteína G de la misma manera que anteriormente y se usó como un anticuerpo control.

(2) Establecimiento de células que constantemente expresan CSPG5 humana de longitud completa

Se introdujo CSPG5/pcDNA3.1 preparado como se ha descrito anteriormente en células CHO-K1 (ATCC) por un método de lipofección. El cribado se llevó a cabo por 500 µg/ml de G418 (Nacalai) para establecer una línea celular CHO que exprese constantemente CSPG5 (CHO-CSPG5) humana de longitud completa. Se introdujo un vector de expresión que no tenía ADNc codificante de CSPG5 insertado en el mismo (más adelante referido como emp/pcDNA3.1) y se sometió a cribado de la misma manera que anteriormente para obtener células para ser usadas como células control (más adelante referidas como CHO-emp).

De manera similar, se introdujo CSPG5/pcDNA3.1 a la línea celular de leucemia murina EL4 (ATCC) por un método de lipofección. El cribado se llevó a cabo por 500 µg/ml de G418 (Nacalai) para establecer una línea celular EL4 que exprese constantemente el gen de CSPG5 (EL4-CSPG5) humano de longitud completa. Se introdujo un vector de expresión que no tenía ADNc codificante del gen de CSPG5 insertado en el mismo (más adelante referido como emp/pcDNA3.1) y se sometió a cribado de la misma manera que anteriormente para obtener células para ser usadas como células control (más adelante referidas como EL4-emp).

(3) Análisis de la expresión de la proteína antígeno sobre la superficie celular

Se examinó si el anticuerpo policlonal preparado en la etapa (1) reacciona específicamente con la proteína CSPG5 expresada sobre la superficie de la célula establecida en la etapa (2). Las células CHO-CSPG5 y las células CHO-

emp (10^6 células para cada una) se colocaron por separado en los tubos de microcentrífuga de 1,5 ml de volumen y se centrifugaron. A cada uno de los tubos, se añadió el anticuerpo policlonal (2 μ g (5 μ l)) contra proteína CSPG5 preparado en la anterior etapa (1). La mezcla se suspendió más con PBS (95 μ l) que contenía un suero fetal bovino al 0,1 % y se dejó reposar sobre hielo durante una hora. Después de lavar con PBS, la mezcla se suspendió con 5 μ l de un anticuerpo de cabra anti-IgG de ratón marcado con FITC (fabricado por Santacruz) y 95 μ l de PBS que contenía un suero fetal bovino (FBS) al 0,1 % y se dejó reposar sobre hielo durante una hora. Después de lavar con PBS, se midió la intensidad de fluorescencia por FACS Calibur (fabricado por BD). Por otro lado, el anticuerpo control preparado en la etapa anterior (1) se sometió a la misma operación que anteriormente en el lugar del anticuerpo policlonal contra la proteína CSPG5 y se usó como control. Como resultado, las células CHO-CSPG5 a las que se añadió el anticuerpo anti-CSPG5 humana presentaron aumento de la intensidad de fluorescencia de aproximadamente 221 % en comparación con el control. Se aplicó la misma operación a células CHO-emp. Como resultado, la célula CHO-emp a la que se añadió anticuerpo anti-CSPG5 humana presentó la misma intensidad de fluorescencia que el control. A partir de estos resultados se demostró que el anticuerpo anti-CSPG5 humana se une específicamente a la proteína CSPG5 expresada sobre la superficie de una membrana celular.

La tasa de aumento de la intensidad de fluorescencia se expresó por una tasa de aumento de la intensidad de fluorescencia media (valor IFM) de cada célula y se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

tasa de aumento de la intensidad de fluorescencia media (tasa de aumento de intensidad de fluorescencia) (%) =

((valor IFM de las células a las que se hace reaccionar un anticuerpo anti-CSPG5 humana)-(valor IFM control)) ÷ (valor IFM control) x 100

A continuación, se examinó si se expresaba o no la proteína CSPG5 sobre la superficie celular con respecto a dos tipos de líneas celulares de leucemia (K562 THP-1) y dos tipos de líneas celulares de linfoma maligno (L-1236, P3HR-1) sobre las cuales se confirmó que el gen de CSPG5 se expresaba altamente. Las líneas celulares humanas individuales (10^6 células) sobre las cuales se confirmó en lo anterior se colocaron por separado en tubos de microcentrífuga de 1,5 ml de volumen y se centrifugaron. A cada uno de los tubos, se añadió el anticuerpo policlonal (2 μ g (5 μ l)) contra proteína CSPG5 preparado en la anterior etapa (1). La mezcla se suspendió más con PBS (95 μ l) que contenía un suero fetal bovino al 0,1 % y se dejó reposar sobre hielo durante una hora. Después de lavar con PBS, la mezcla se suspendió con 5 μ l de un anticuerpo de cabra anti-IgG de ratón marcado con FITC (fabricado por Santacruz) y 95 μ l de PBS que contenía un suero fetal bovino (FBS) al 0,1 % y se dejó reposar sobre hielo durante una hora. Después de lavar con PBS, se midió la intensidad de fluorescencia por FACS Calibur (fabricado por BD). Por otro lado, el anticuerpo control preparado en la etapa anterior (1) se sometió a la misma operación que anteriormente en el lugar del anticuerpo policlonal contra la proteína CSPG5 y se usó como control. Como resultado, la célula a la que se añadió el anticuerpo anti-CSPG5 humana presentó aumento de la intensidad de fluorescencia del 30 % o más en comparación con el control. Más específicamente, K562 presentó 184 % de aumento de intensidad de fluorescencia, THP-1 51 % de aumento, L-1236 115 % de aumento, y P3HR-1 82 % de aumento. A partir de estos resultados se confirmó que la proteína CSPG5 se expresa sobre la superficie de la membrana celular de las líneas celulares cancerosas humanas.

<Ejemplo 4: Efecto antitumoral (actividad CCDA) del anticuerpo policlonal contra proteína CSPG5 o células cancerosas>

A continuación, se examinó si un anticuerpo policlonal contra la proteína CSPG5 puede dañar las células tumorales que expresan la proteína CSPG5. La evaluación se realizó usando el anticuerpo policlonal contra la CSPG5 humana preparado en el Ejemplo 3. La línea celular de leucemia humana K562 y la línea celular de linfoma maligno L-1236 (10^6 células para cada una) sobre las cuales se confirmó la expresión de la proteína CSPG5, se recogieron por separado en un tubo de centrífuga de 50 ml de volumen. Al tubo, se añadió 100 μ Ci de cromo 51 y el tubo se incubó a 37 °C durante dos horas. Posteriormente, las células se lavaron tres veces con medio RPMI 1640 que contenía un suero fetal bovino al 10 % y se añadió a los pocillos de una placa de 96 pocillos (con un fondo en forma de V) en una relación de 10^3 células por pocillo. A esto, se añadió el anticuerpo policlonal anterior contra la proteína CSPG5 humana en una relación de 1 μ g por pocillo y linfocitos adicionales separados de la sangre periférica de un conejo en una relación de 2×10^5 células por pocillo. La placa se cultivó a 37 °C en una condición de CO₂ al 5 % durante 4 horas. Después de cultivar, se midió la cantidad de cromo (Cr) 51 liberada de las células tumorales dañadas en el sobrenadante del cultivo y se calculó la actividad CCDA de un anticuerpo policlonal contra la proteína CSPG5 humana sobre cada una de las células cancerosas. Como resultado, se confirmó que las actividades CCDA sobre las células K562 y L-1236 son del 23,2 % y 18,7 %, respectivamente (véase, Figura 4). Por otro lado, la actividad no se confirmó virtualmente (véase, Figura 4) cuando se condujo la misma operación usando el anticuerpo control (Ejemplo 3) preparado a partir de la sangre periférica de un ratón no inmunizado con el antígeno y usando una muestra a la cual no se añadió anticuerpo. Por consiguiente, claramente se demostró que las células tumorales que expresan la proteína CSPG5 pueden ser dañadas por un anticuerpo contra la proteína CSPG5 basándose en la actividad CCDA.

La actividad citotóxica se obtuvo mezclando el anticuerpo contra la proteína CSPG5 usado en la presente invención,

linfocitos de conejo y las líneas celulares (10^3 células) dentro de las cuales se incorporó cromo 51, cultivando la mezcla resultante durante 4 horas, midiendo la cantidad de cromo 51 liberada en el medio después del cultivo, y estimando la actividad citotóxica sobre cada una de las líneas celulares de leucemia usando la siguiente fórmula*.

- 5 *Fórmula: Actividad citotóxica (%) = (la cantidad de cromo 51 liberada de K562 y L-1236 cuando se añadieron un anticuerpo contra la proteína CSPG5 y linfocitos de conejo) ÷ (la cantidad de cromo 51 liberada de las células diana a las cuales se añadió ácido clorhídrico 1N) x 100.

<Ejemplo 5: Preparación de anticuerpo monoclonal contra proteína CSPG5>

- 10 La proteína antígeno (hCSPG5 ECD-mlgG2aFc) (100 µg) representada por la SEQ ID NO: 33 y preparada en el Ejemplo 2 se mezcló con la cantidad equivalente de adyuvante MPL + TDM (fabricado por Sigma). La mezcla se usó como una solución de antígeno por ratón. La solución de antígeno se administró por vía intraperitoneal a ratones Balb/c de 6 semanas de edad (producidos por Japan SLC, Inc.) y se administró más 4 veces por semana para
15 completar la inmunización. Los bazo se extirparon tres días después de la última inmunización y se molieron aplastando cada uno de los bazo entre dos portaobjetos de vidrio esterilizados, se lavaron con PBS (-) (fabricada por Nissui) y se centrifugaron a 1.500 rpm durante 10 minutos y, a continuación, se separó el sobrenadante. Esta operación se repitió tres veces para obtener células de bazo. Las células de bazo obtenidas y las células de mieloma de ratón SP2/0 (adquiridas de ATCC) se mezclaron en una relación de 5:1. A la mezcla, se añadió una solución de
20 PEG preparada mezclando medio RPMI 1640 (200 µl) que contenía FBS al 10 % y se calentó hasta 37 °C y 800 µl de PEG1500 (fabricado por Boehringer) calentado hasta 37 °C. La mezcla se dejó reposar durante 5 minutos para realizar la fusión celular. La mezcla se centrifugó a 1.700 rpm durante 5 minutos. Después el sobrenadante se separó, las células se suspendieron con 150 ml de medio RPMI 1640 (medio de selección HAT) que contenía FBS al 15 % y una solución HAT fabricada por Gibco en un equivalente de 2 % y se sembraron en quince placas de 96
25 pocillos (fabricadas por NUNC) en una cantidad de 100 µl por pocillo. Las células se cultivaron durante 7 días a 37 °C en una condición de CO₂ al 5 % para obtener hibridomas, es decir, células de fusión de las células de bazo y células de mieloma.

- 30 Un hibridoma se cribó basándose en la afinidad de unión del anticuerpo producido por el hibridoma preparado para hCSPG5 ECD-mlgG2aFc. Se añadió 1 µg/ml de solución de hCSPG5 ECD-mlgG2aFc proteína preparada en el Ejemplo 2 a una placa de 96 pocillos en una cantidad de 100 µl por pocillo y se dejó reposar a 4 °C durante 18 horas. Después de que se lavaran los pocillos individuales tres veces con PBS-T, se añadió solución de Albúmina de suero bovino al 0,5 % (BSA) (fabricada por Sigma) en una cantidad de 400 µl por pocillo y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 3 horas. La solución se separó y los pocillos se lavaron tres veces con 400 µl de PBS-
35 T por pocillo. A continuación, el sobrenadante de cada cultivo de los hibridomas obtenidos anteriormente se añadió en una cantidad de 100 µl por pocillo y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de que se lavaran los pocillos individuales tres veces con PBS-T, se añadió anticuerpo anti-IgG de ratón marcado con HRP (H + L) (fabricado por Invitrogen) diluido 5.000 veces con PBS en una cantidad de 100 µl por pocillo y se dejó reposar a temperatura ambiente durante una hora. Después de que se lavaran los pocillos tres veces con PBS-T, se añadió
40 una solución de sustrato TMB (fabricado por Thermo) en una cantidad de 100 µl por pocillo y se dejó reposar durante 15 a 30 minutos para realizar una reacción cromogénica. Después de que se generara el color, se añadió ácido sulfúrico 1 N en una cantidad de 100 µl por pocillo para terminar la reacción. Los valores de absorbancia a 450 nm y 595 nm se midieron por un espectrómetro de absorción. Como resultado, se cribaron hibridomas productores de anticuerpos que presentaban valores de alta absorbancia.

- 45 Los hibridomas cribados se añadieron a una placa de 96 pocillos en una relación de 0,5 célula por pocillo y se cultivaron. Tras una semana, se observó un hibridoma formador de una colonia sencilla en los pocillos. las células en estos pocillos se cultivaron más. Un hibridoma se sometió a cribado basándose en la afinidad de unión del anticuerpo producido por el hibridoma clonado para la proteína CSPG5. Se añadió 1 µg/ml de solución de hCSPG5
50 ECD-mlgG2aFc proteína preparada en el Ejemplo 2 a una placa de 96 pocillos en una cantidad de 100 µl por pocillo y se dejó reposar a 4 °C durante 18 horas. Después de que se lavaran los pocillos individuales tres veces con PBS-T, se añadió una solución de BSA al 0,5 % en una cantidad de 400 µl por pocillo y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 3 horas. La solución se separó y los pocillos se lavaron tres veces con PBS-T en una cantidad de 400 µl por pocillo. Cada uno de los sobrenadantes del cultivo de los hibridomas obtenidos anteriormente se añadió
55 en una cantidad de 100 µl por pocillo y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de que se lavaran los pocillos individuales tres veces con PBS-T, se añadió anticuerpo anti-IgG de ratón marcado con HRP (H + L) (fabricado por Thermo Fisher Scientific) diluido 5.000 veces con PBS en una cantidad de 100 µl por pocillo y se dejó reposar a temperatura ambiente durante una hora. Después de que se lavaran los pocillos tres veces con PBS-T, se añadió una solución de sustrato TMB (fabricado por Thermo) en una cantidad de 100 µl por pocillo y se dejó
60 reposar durante 15 a 30 minutos para realizar una reacción cromogénica. Después de que se generara color, se añadió ácido sulfúrico 1 N en una cantidad de 100 µl por pocillo para terminar la reacción. Los valores de absorbancia a 450 nm y 595 nm se midieron por un espectrómetro de absorción. Como resultado, se obtuvieron 312 líneas celulares de hibridoma productoras de anticuerpos monoclonales reactivos a la proteína CSPG5.

Posteriormente, los anticuerpos monoclonales reactivos a la superficie de una célula que expresa la proteína CSPG5 se sometieron a cribado a partir de los anticuerpos monoclonales. Específicamente, 10^6 células (CHO-CSPG5) que expresaban la proteína CSPG5 y establecidas en el Ejemplo 2 se colocaron en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml de volumen y se centrifugaron. A esto, se añadió cada uno de los sobrenadantes del cultivo de hibridoma obtenidos anteriormente (100 μ l) y se dejó reposar sobre hielo durante una hora. Después de lavar con PBS, se añadió anticuerpo de cabra anti-IgG de ratón marcado con FITC (fabricado por Thermo Fisher Scientific) diluido 500 veces con PBS que contenía FBS al 0,1 % y la mezcla se dejó reposar sobre hielo durante una hora. Después de lavar con PBS, se midió la intensidad de fluorescencia por un FACS Calibur (fabricado por BD). Las células CHO (CHO-emp) que no expresaban proteína CSPG5 se sometieron a la misma operación que anteriormente y se usaron como control. Como resultado, los anticuerpos monoclonales cuyas intensidades de fluorescencia son mayores que el control, en otras palabras, 18 anticuerpos monoclonales (n.º 1 a n.º 18) que reaccionan con la superficie de la célula que expresa la proteína CSPG5, se sometieron a cribado.

<Ejemplo 6: Características del anticuerpo cribado>

(1) Efecto antitumoral (actividad CCDA) del anticuerpo monoclonal contra la proteína CSPG5 sobre células cancerosas

Se evaluaron las actividades citotóxicas (actividad CCDA) del anticuerpo monoclonal n.º 1 contra la proteína CSPG5 cribado anteriormente a células cancerosas. Los hibridomas productores de un anticuerpo monoclonal se cultivaron usando medio SFM de hibridoma (fabricado por Thermo Fisher Scientific). El sobrenadante resultante se purificó por el uso de Hitrap proteinA SepharoseFF (fabricada por GE Healthcare), reemplazada con PBS (-), y se filtró por un filtro de 0,22 μ m (fabricado por Millipore), y el producto resultante se usó como un anticuerpo para medir la actividad. Se recogieron por separado la línea celular de leucemia humana K562 y la línea celular de linfoma maligno L-1236 (10^6 células para cada una) en tubos de centrífuga de 50 ml y se añadió 100 μ Ci de cromo 51 y se incubó a 37 °C durante 2 horas. Posteriormente, las células se lavaron tres veces con medio RPMI 1640 que contenía un FBS al 10 % y se añadió a una placa de 96 pocillos (con un fondo en forma de V) en una relación de 10^3 células por pocillo y se usaron como células diana. A esto, se añadieron el anticuerpo anteriormente purificado en una cantidad de 1 μ g por pocillo, y linfocitos de ratón (2×10^5 células) separados de un bazo de ratón y se cultivaron a 37 °C en una condición de CO₂ al 5 % durante 4 horas. Después del cultivo, se midió la cantidad de cromo 51 liberada de las células tumorales dañadas en el sobrenadante del cultivo y se calculó la actividad CCDA del anticuerpo monoclonal anti-CSPG5 a células cancerosas.

(2) Efecto antitumoral (actividad CCDA) del anticuerpo monoclonal contra la proteína CSPG5 sobre células cancerosas

Se evaluó la actividad citotóxica (actividad CCDA) del anticuerpo monoclonal n.º 1 contra la proteína CSPG5 cribada como se ha descrito anteriormente sobre células cancerosas. Se extrajo sangre de un conejo, se colocó en un tubo Eppendorf, se dejó reposar a temperatura ambiente durante 60 minutos, y se centrifugó a 3.000 rpm durante 5 minutos para preparar un suero para la medición de la actividad CDC. Se recogieron por separado la línea celular de leucemia humana K562 y la línea celular de linfoma maligno L-1236 (10^5 células para cada una) en tubos de centrífuga de 50 ml de volumen y se añadió 100 μ Ci de cromo 51, se incubaron a 37 °C durante 2 horas, se lavaron tres veces con medio RPMI que contenía un FBS al 10 %, se suspendieron con el medio RPMI que contenía 50 % de suero de conejo como se ha descrito anteriormente y se añadió a una placa de 96 pocillos (con un fondo en forma de V) en una relación de 10^3 células por pocillo. A esto, el anticuerpo monoclonal n.º 1 usado en la anterior etapa (1) se añadió individualmente en una cantidad de 1 μ g y se cultivó a 37 °C, en una condición de CO₂ al 5 % durante 4 horas. Después del cultivo, se midió la cantidad de cromo 51 liberada de las células tumorales dañadas en el sobrenadante del cultivo y se calculó la actividad CDC del anticuerpo monoclonal anti-CSPG5 en el sobrenadante de hibridoma a K562 y L-1236. Como resultado, el anticuerpo monoclonal n.º 1 tiene una actividad CDC del 26 %. El anticuerpo monoclonal preparado en el Ejemplo 5 y que reacciona con la propia proteína CSPG5 pero no reacciona con la superficie de las células cancerosas, se sometió a la misma operación. Como resultado, no se observó actividad citotóxica. Por consiguiente, se demostró que el anticuerpo monoclonal (n.º 1) contra la proteína CSPG5 daña las células tumorales que expresan la proteína CSPG5 basándose también en la actividad CDC.

<Ejemplo 7: efecto antitumoral *in vivo* del anticuerpo monoclonal anti-CSPG5 en ratones>

Se evaluó el efecto antitumoral *in vivo* del anticuerpo monoclonal n.º 1 (anteriormente obtenido) contra la proteína CSPG5 en un ratón portador de cáncer. El anticuerpo usado en el presente documento se obtuvo purificando cada sobrenadante de cultivo de hibridoma por una columna, de la misma manera que anteriormente.

El efecto antitumoral del anticuerpo monoclonal n.º 1 contra la proteína CSPG5 se examinó usando un ratón portador de cáncer obtenido injertando la línea celular de leucemia derivada de ratón EL4-CSPG5, la cual expresa la proteína CSPG5 y se estableció en el Ejemplo 3-(2). A la porción subcutánea de la espalda de cada uno de los treinta ratones C57BL/6 (producidos por Japan SLC, Inc.), se injertaron células EL4-CSPG5 (10^6 células/ratón) y los ratones se dejaron crecer hasta que un tumor alcanzó un tamaño de aproximadamente 7 mm de diámetro. A diez

ratones portadores de cáncer de estos ratones, se administró por vía intraperitoneal anticuerpo monoclonal n.º 1 contra proteína CSPG5 en una dosis de 100 µg (100 µl) por ratón. A otros diez ratones, se administró por vía intraperitoneal un anticuerpo monoclonal, el cual se preparó en el Ejemplo 5 y reacciona con la propia proteína CSPG5 pero no reacciona con la superficie de las células cancerosas, en una dosis de 100 µg (100 µl) por ratón.

5 Posteriormente, cada anticuerpo en la misma dosis se administró por vía intraperitoneal a ratones portadores de cáncer individuales una vez cada tres días durante tres veces en total. Cada día, se midió el tamaño de los tumores para observar el efecto antitumoral. Se administró PBS (-) en lugar del anticuerpo a los restantes diez ratones portadores de cáncer, y se usaron como grupo control. Como resultado de la observación del efecto antitumoral, en el grupo al cual se administró el anticuerpo monoclonal (n.º 1) contra la proteína CSPG5, se redujo el volumen
10 tumoral a aproximadamente 90 % el Día 10 y aproximadamente 70 % el Día 20 y 60 y algo % el Día 30 basándose en el volumen tumoral en el día inicial de administración del anticuerpo como 100 %. En contraste, en el grupo control, el volumen de tumor se aumentó hasta aproximadamente 260 %, 350 % y 550 % el Día 10, el Día 20 y el Día 30, respectivamente. En el grupo al cual se administró un anticuerpo monoclonal, el cual reacciona con la propia proteína CSPG5 y no reacciona con la superficie de las células cancerosas, no se obtuvo efecto antitumoral y el
15 volumen tumoral se aumentó de la misma manera que en el grupo control. A partir de los resultados se demostró que el anticuerpo monoclonal (n.º 1) contra la proteína CSPG5 ejerce un fuerte efecto antitumoral *in vivo* sobre las células cancerosas de leucemia que expresan proteína CSPG5. El tamaño (volumen) del tumor se calculó de acuerdo con la fórmula:

20
$$\text{Eje mayor} \times \text{Eje menor} \times \text{Eje menor} \times 0,5.$$

Aplicabilidad industrial

El anticuerpo es útil para tratar y/o prevenir el cáncer, según la invención.

25

Listado de secuencias

<110> TORAY INDUSTRIES, INC.

30 <120> Composición farmacéutica para el tratamiento y/o la prevención del cáncer

<130> PH-6535-PCT

<150> JP 2015-093640

35 <151> 30/04/2015

<160> 33

<170> PatentIn versión 3.1

40

<210> 1

<211> 2270

<212> ADN

<213> *Canis familiaris*

45

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1434)

<223>

50

<400> 1

ES 2 762 979 T3

ggg gag gag gag acc tcg tgt act gca cct ggc ggc ctg ccg gcc gtg Gly Glu Glu Glu Thr Ser Cys Thr Ala Pro Gly Gly Leu Pro Ala Val 1 5 10 15	48
gtg ggg cct ggg gtc ggg cca gag gag gcg ctg gag gcg tcc gcg gcc Val Gly Pro Gly Val Gly Pro Glu Glu Ala Leu Glu Ala Ser Ala Ala 20 25 30	96
gtg acc ggc aca gcc tgg ctg gag gct gac agc ccg ggc ctg ggc gga Val Thr Gly Thr Ala Trp Leu Glu Ala Asp Ser Pro Gly Leu Gly Gly 35 40 45	144
gcg acc gta gag gct ggc agc ggc gac acc cag gcc ctt ccg gcc acg Ala Thr Val Glu Ala Gly Ser Gly Asp Thr Gln Ala Leu Pro Ala Thr 50 55 60	192
ctc ccg act ccg gag gag gcc ctc cga cgt gca tcg gtg gcc ccc gcc Leu Pro Thr Pro Glu Glu Ala Leu Arg Arg Ala Ser Val Ala Pro Ala 65 70 75 80	240
acc ccc gag act aca gag gcc agc gga cca ccc tcc ccc act cct ggc Thr Pro Glu Thr Thr Glu Ala Ser Gly Pro Pro Ser Pro Thr Pro Gly 85 90 95	288
gac cag cta cgc cca ggc ccc gaa ctc ccc aag gag agc ccc ttg gag Asp Gln Leu Arg Pro Gly Pro Glu Leu Pro Lys Glu Ser Pro Leu Glu 100 105 110	336
gtt tgg ctg aac ctg gga ggc agc aca cat gac ccg cat ggg cca gag Val Trp Leu Asn Leu Gly Gly Ser Thr His Asp Pro His Gly Pro Glu 115 120 125	384
ccc acg ttc ccc ttt cag ggc aca ctg gag ccc cgg ccg gcg tca gat Pro Thr Phe Pro Phe Gln Gly Thr Leu Glu Pro Arg Pro Ala Ser Asp 130 135 140	432
atc att gac atc gac tac ttc gaa gga ttg gat ggt gag ggc cgt ggc	480

Ile 145	Ile	Asp	Ile	Asp	Tyr 150	Phe	Glu	Gly	Leu	Asp 155	Gly	Glu	Gly	Arg	Gly 160	
gcc Ala	gac Asp	ttg Leu	ggg Gly	agc Ser	ttc Phe	ccg Pro	gtg Val	tcg Ser	cca Pro	gga Gly	acc Thr	tca Ser	gag Glu	cac His	cac His	528
ccc Pro	gat Asp	act Thr	ggg Gly	gga Gly	gag Glu	acc Thr	cct Pro	tcc Ser	tgg Trp	agc Ser	ctg Leu	ctt Leu	gac Asp	tta Leu	tac Tyr	576
gat Asp	gac Asp	ttc Phe	acc Thr	ccc Pro	ttt Phe	gat Asp	gaa Glu	tct Ser	gac Asp	ttc Phe	tac Tyr	ccc Pro	act Thr	aca Thr	tcc Ser	624
ttc Phe	tat Tyr	gat Asp	gac Asp	ttg Leu	gag Glu	gaa Glu	gag Glu	gag Glu	gag Glu	gaa Glu	gag Glu	gat Asp	gac Asp	gac Asp	aag Lys	672
gat Asp	gca Ala	gcg Ala	gaa Glu	ggt Gly	gga Gly	gac Asp	ctg Leu	gaa Glu	gat Asp	gaa Glu	agt Ser	gac Asp	ctt Leu	ctg Leu	gtg Val	720
ccc Pro	act Thr	gag Glu	aag Lys	cct Pro	ggg Gly	ctg Leu	agg Arg	cca Pro	ggg Gly	cct Pro	ggc Gly	cag Gln	ccc Pro	acc Thr	agt Ser	768
cgg Arg	tgg Trp	cat His	gct Ala	gtc Val	ccc Pro	cca Pro	cag Gln	cat His	act Thr	ctg Leu	ggg Gly	ttg Leu	gtc Val	cct Pro	ggc Gly	816
agc Ser	agc Ser	atc Ile	gcc Ala	ctc Leu	aga Arg	ccc Pro	cgt Arg	ccg Pro	gga Gly	gag Glu	ccg Pro	ggc Gly	agg Arg	gac Asp	ctg Leu	864
gcc Ala	ccg Pro	agc Ser	gag Glu	aac Asn	ggc Gly	act Thr	gag Glu	tgc Cys	cgc Arg	agc Ser	ggc Gly	ttt Phe	gtg Val	cgg Arg	cat His	912
aac Asn	ggc Gly	tcc Ser	tgc Cys	cga Arg	tcc Ser	gtg Val	tgc Cys	gac Asp	ctc Leu	ttc Phe	cca Pro	agt Ser	tac Tyr	tgt Cys	cac His	960
aac Asn	ggc Gly	ggc Gly	cag Gln	tgc Cys	tac Tyr	ctg Leu	gtg Val	gac Asp	aac Asn	ata Ile	ggg Gly	gcc Ala	ttc Phe	tgc Cys	agg Arg	1008
tgt Cys	aac Asn	aca Thr	cag Gln	gac Asp	tac Tyr	atc Ile	tgg Trp	cac His	aag Lys	ggg Gly	atg Met	cgc Arg	tgc Cys	gag Glu	tcc Ser	1056
atc Ile	atc Ile	acc Thr	gac Asp	ttc Phe	cag Gln	gtg Val	atg Met	tgc Cys	gtg Val	gcc Ala	gtc Val	ggc Gly	tca Ser	gcc Ala	gcc Ala	1104
ctc Leu	gtg Val	ctg Leu	ctc Leu	ctg Leu	ctc Leu	ttc Phe	atg Met	atg Met	aca Thr	gtg Val	ttc Phe	ttc Phe	gcc Ala	aag Lys	aag Lys	1152
ctg Leu	tat Tyr	ctg Leu	ctc Leu	aag Lys	aca Thr	gag Glu	aat Asn	acc Thr	aag Lys	ctg Leu	cgt Arg	agg Arg	acc Thr	aac Asn	aaa Lys	1200

ttc cgg acc ccg tct gag ctc cac aac gat aac ttc tcc ctt tcc acc	1248
Phe Arg Thr Pro Ser Glu Leu His Asn Asp Asn Phe Ser Leu Ser Thr	
405 410 415	
att gcc gaa ggc tct cac cca aac gac gat ccc agt gct tcc cac aaa	1296
Ile Ala Glu Gly Ser His Pro Asn Asp Asp Pro Ser Ala Ser His Lys	
420 425 430	
atc cag gag gtt ctc aag tcc tgc ctg aaa gag gag gag tca ttt aac	1344
Ile Gln Glu Val Leu Lys Ser Cys Leu Lys Glu Glu Glu Ser Phe Asn	
435 440 445	
atc cag aac tcc atg tcc ccc aaa ctg gag ggt ggc aaa ggt gac cag	1392
Ile Gln Asn Ser Met Ser Pro Lys Leu Glu Gly Gly Lys Gly Asp Gln	
450 455 460	
gct gac ttg gag gtg aac tgt ctt cag aac aac ctc acc taa	1434
Ala Asp Leu Glu Val Asn Cys Leu Gln Asn Asn Leu Thr	
465 470 475	
agcagagcaa gaagagaggg aatgggggag ggcgggggggt ggcaggggaa gaaacatgac	1494
ctcctcttgt acagagtcta tttcttgtta ccatttgtta aactctcttc tttttctggt	1554
ctcatggcat gccttgatgt attttgtaca ggaggagaa aacacaaaat aagcaaagaa	1614
cctgaacaga atcgcataca ccgggttgtt tctgtgtgtc tgtctgtata ttgcttctgc	1674
tgctgtgatt tctaaaccta tgctgttatt caactgactt tttttttgta ctttgaccca	1734
cctttttttg aaataagagt taaaaaaca agttcttgaa ataaaacttt ttaaaaagcc	1794
atcttccatc agtgtgtcca ctctctacc attcttgtca gcttgagttg aattcttacg	1854
ttccctgaag atgtatattt atatgtgttt gaaatcctgg aagtgtcttc tgtattagcc	1914
taggttgccg taactaaaca tcatagactg gatcacttaa gcaatagaaa tttatttttg	1974
aacagtaata gaggctggat cccaagatc aaggtgccaa cagagttggt ttctggcagg	2034
gcctctctgc ctggcttgca aagagccatc ttcttgctat gtcctcaca ggccttttgt	2094
ctgtgcacat ctcttctct tctgataagg acaccagtcc tattggccta ggatccattt	2154
aacctcaatt acctctcat aggcctact ccagatacag tcacacttag gggttatggc	2214
ttcaacatga cttttggggt gacataattc agtcacaaag tctgtagcac ctgatt	2270

<210> 2
 <211> 477
 <212> PRT
 <213> *Canis familiaris*

<400> 2

Gly	Glu	Glu	Glu	Thr	Ser	Cys	Thr	Ala	Pro	Gly	Gly	Leu	Pro	Ala	Val
1				5				10						15	

Val	Gly	Pro	Gly	Val	Gly	Pro	Glu	Glu	Ala	Leu	Glu	Ala	Ser	Ala	Ala
			20				25					30			

ES 2 762 979 T3

Val	Thr	Gly	Thr	Ala	Trp	Leu	Glu	Ala	Asp	Ser	Pro	Gly	Leu	Gly	Gly	35	40	45
Ala	Thr	Val	Glu	Ala	Gly	Ser	Gly	Asp	Thr	Gln	Ala	Leu	Pro	Ala	Thr	50	55	60
Leu	Pro	Thr	Pro	Glu	Glu	Ala	Leu	Arg	Arg	Ala	Ser	Val	Ala	Pro	Ala	65	70	75
Thr	Pro	Glu	Thr	Thr	Glu	Ala	Ser	Gly	Pro	Pro	Ser	Pro	Thr	Pro	Gly	85	90	95
Asp	Gln	Leu	Arg	Pro	Gly	Pro	Glu	Leu	Pro	Lys	Glu	Ser	Pro	Leu	Glu	100	105	110
Val	Trp	Leu	Asn	Leu	Gly	Gly	Ser	Thr	His	Asp	Pro	His	Gly	Pro	Glu	115	120	125
Pro	Thr	Phe	Pro	Phe	Gln	Gly	Thr	Leu	Glu	Pro	Arg	Pro	Ala	Ser	Asp	130	135	140
Ile	Ile	Asp	Ile	Asp	Tyr	Phe	Glu	Gly	Leu	Asp	Gly	Glu	Gly	Arg	Gly	145	150	155
Ala	Asp	Leu	Gly	Ser	Phe	Pro	Val	Ser	Pro	Gly	Thr	Ser	Glu	His	His	165	170	175
Pro	Asp	Thr	Gly	Gly	Glu	Thr	Pro	Ser	Trp	Ser	Leu	Leu	Asp	Leu	Tyr	180	185	190
Asp	Asp	Phe	Thr	Pro	Phe	Asp	Glu	Ser	Asp	Phe	Tyr	Pro	Thr	Thr	Ser	195	200	205
Phe	Tyr	Asp	Asp	Leu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Asp	Asp	Asp	Lys	210	215	220
Asp	Ala	Ala	Glu	Gly	Gly	Asp	Leu	Glu	Asp	Glu	Ser	Asp	Leu	Leu	Val	225	230	235
Pro	Thr	Glu	Lys	Pro	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly	Pro	Gly	Gln	Pro	Thr	Ser	245	250	255
Arg	Trp	His	Ala	Val	Pro	Pro	Gln	His	Thr	Leu	Gly	Leu	Val	Pro	Gly	260	265	270
Ser	Ser	Ile	Ala	Leu	Arg	Pro	Arg	Pro	Gly	Glu	Pro	Gly	Arg	Asp	Leu	275	280	285

ES 2 762 979 T3

Ala Pro Ser Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg Ser Gly Phe Val Arg His
290 295 300

Asn Gly Ser Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr Cys His
305 310 315 320

Asn Gly Gly Gln Cys Tyr Leu Val Asp Asn Ile Gly Ala Phe Cys Arg
325 330 335

Cys Asn Thr Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys Gly Met Arg Cys Glu Ser
340 345 350

Ile Ile Thr Asp Phe Gln Val Met Cys Val Ala Val Gly Ser Ala Ala
355 360 365

Leu Val Leu Leu Leu Leu Phe Met Met Thr Val Phe Phe Ala Lys Lys
370 375 380

Leu Tyr Leu Leu Lys Thr Glu Asn Thr Lys Leu Arg Arg Thr Asn Lys
385 390 395 400

Phe Arg Thr Pro Ser Glu Leu His Asn Asp Asn Phe Ser Leu Ser Thr
405 410 415

Ile Ala Glu Gly Ser His Pro Asn Asp Asp Pro Ser Ala Ser His Lys
420 425 430

Ile Gln Glu Val Leu Lys Ser Cys Leu Lys Glu Glu Glu Ser Phe Asn
435 440 445

Ile Gln Asn Ser Met Ser Pro Lys Leu Glu Gly Gly Lys Gly Asp Gln
450 455 460

Ala Asp Leu Glu Val Asn Cys Leu Gln Asn Asn Leu Thr
465 470 475

<210> 3
<211> 2175
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (177)..(1796)
<223>

<400> 3

ggggagggcgc ggcgcgccgg ggacagcggc ggacggcggc ggcggcggca tgcggctcct 60

cgcgctgccc atcgtgggct gaggcggccg cagaaccggc gggagggcgcg gcggccgggc	120
gagccgaggg cgcagccagc cgggcggacc gcggacagcg gtcggggcgc cgcgcc atg	179
Met	
1	
ggg cga gcc ggg ggc ggg ggc ccg ggc cgg ggg ccg ccg cca ctg ctg	227
Gly Arg Ala Gly Gly Gly Gly Pro Gly Arg Gly Pro Pro Pro Leu Leu	
5 10 15	
ctg ttt ctg ggg gcc gcg ctg gtc ctg gcc tct ggg gcc gtg ccg gcg	275
Leu Phe Leu Gly Ala Ala Leu Val Leu Ala Ser Gly Ala Val Pro Ala	
20 25 30	
cgt gag gcg ggc agc gcg gtt gag gcc gaa gag ctg gtg aag ggc agc	323
Arg Glu Ala Gly Ser Ala Val Glu Ala Glu Glu Leu Val Lys Gly Ser	
35 40 45	
ccg gcg tgg gag ccg cct gcc aac gac acg cgg gaa gaa gcc ggc cca	371
Pro Ala Trp Glu Pro Pro Ala Asn Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly Pro	
50 55 60 65	
cca gcg gct ggg gaa gat gag gcg tcg tgg acg gcg ccc ggt ggc gag	419
Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Ala Ser Trp Thr Ala Pro Gly Gly Glu	
70 75 80	
ctg gcc ggg cca gaa gag gtg ctg cag gag tcg gct gcg gtg acc ggc	467
Leu Ala Gly Pro Glu Glu Val Leu Gln Glu Ser Ala Ala Val Thr Gly	
85 90 95	
acc gcc tgg ctg gaa gct gac agc cca ggc ctg gga gga gtg acc gca	515
Thr Ala Trp Leu Glu Ala Asp Ser Pro Gly Leu Gly Gly Val Thr Ala	
100 105 110	
gag gcg ggc agc ggc gat gcc cag gcc ctt cca gct acg ctc cag gct	563
Glu Ala Gly Ser Gly Asp Ala Gln Ala Leu Pro Ala Thr Leu Gln Ala	
115 120 125	
ccc cac gag gtc ctc ggg cag tca atc atg ccc cct gcc att cct gag	611
Pro His Glu Val Leu Gly Gln Ser Ile Met Pro Pro Ala Ile Pro Glu	
130 135 140 145	
gct aca gag gcc agc ggg cca ccc tcc ccc acc ccc ggc gac aag ctg	659
Ala Thr Glu Ala Ser Gly Pro Pro Ser Pro Thr Pro Gly Asp Lys Leu	
150 155 160	
agc cca gct tct gaa ctc ccc aag gag agc ccc ttg gag gtt tgg ctg	707
Ser Pro Ala Ser Glu Leu Pro Lys Glu Ser Pro Leu Glu Val Trp Leu	
165 170 175	
aac ctg ggg ggc agc aca ccc gac cct caa ggg cca gag ctg act tac	755
Asn Leu Gly Gly Ser Thr Pro Asp Pro Gln Gly Pro Glu Leu Thr Tyr	
180 185 190	
cca ttt cag ggc acc ctg gag ccc caa ccg gca tca gat atc att gac	803
Pro Phe Gln Gly Thr Leu Glu Pro Gln Pro Ala Ser Asp Ile Ile Asp	
195 200 205	
atc gac tac ttc gaa gga ctg gat ggt gag ggt cgt ggc gca gat ctg	851
Ile Asp Tyr Phe Glu Gly Leu Asp Gly Glu Gly Arg Gly Ala Asp Leu	
210 215 220 225	
ggg agc ttc cca ggg tca cca gga acc tca gag aac cac cct gat act	899

Gly	Ser	Phe	Pro	Gly	Ser	Pro	Gly	Thr	Ser	Glu	Asn	His	Pro	Asp	Thr	
				230					235					240		
gag	gga	gag	acc	cct	tcc	tgg	agc	ctg	ctt	gac	tta	tac	gat	gat	ttc	947
Glu	Gly	Glu	Thr	Pro	Ser	Trp	Ser	Leu	Leu	Asp	Leu	Tyr	Asp	Asp	Phe	
			245					250					255			
acc	ccc	ttc	gat	gaa	tct	gat	ttc	tac	ccc	acc	aca	tcc	ttt	tat	gat	995
Thr	Pro	Phe	Asp	Glu	Ser	Asp	Phe	Tyr	Pro	Thr	Thr	Ser	Phe	Tyr	Asp	
			260				265					270				
gac	ttg	gat	gaa	gag	gag	gag	gaa	gag	gag	gat	gac	aaa	gat	gca	gta	1043
Asp	Leu	Asp	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Asp	Asp	Lys	Asp	Ala	Val	
	275					280					285					
gga	ggt	gga	gac	cta	gaa	gat	gaa	aat	gag	ctt	cta	gtg	ccc	act	ggg	1091
Gly	Gly	Gly	Asp	Leu	Glu	Asp	Glu	Asn	Glu	Leu	Leu	Val	Pro	Thr	Gly	
290					295				300						305	
aag	cct	ggt	ctg	ggg	ccc	ggg	aca	ggc	cag	ccc	acc	agt	cgg	tgg	cat	1139
Lys	Pro	Gly	Leu	Gly	Pro	Gly	Thr	Gly	Gln	Pro	Thr	Ser	Arg	Trp	His	
			310					315						320		
gct	gtc	cct	cca	cag	cac	act	ctg	ggg	tgc	gtc	ccc	ggc	agc	agc	atc	1187
Ala	Val	Pro	Pro	Gln	His	Thr	Leu	Gly	Ser	Val	Pro	Gly	Ser	Ser	Ile	
			325					330					335			
gcc	ctc	agg	ccc	cgc	cca	gga	gag	cca	ggc	agg	gac	ttg	gcc	tcc	agt	1235
Ala	Leu	Arg	Pro	Arg	Pro	Gly	Glu	Pro	Gly	Arg	Asp	Leu	Ala	Ser	Ser	
			340				345				350					
gaa	aat	ggc	act	gag	tgc	cgc	agt	ggc	ttt	gtg	cgg	cat	aac	ggc	tcc	1283
Glu	Asn	Gly	Thr	Glu	Cys	Arg	Ser	Gly	Phe	Val	Arg	His	Asn	Gly	Ser	
	355					360					365					
tgc	cgg	tca	gtg	tgc	gac	ctc	ttc	cca	agt	tac	tgt	cac	aat	ggc	ggc	1331
Cys	Arg	Ser	Val	Cys	Asp	Leu	Phe	Pro	Ser	Tyr	Cys	His	Asn	Gly	Gly	
370					375					380					385	
cag	tgc	tac	ctg	gtg	gag	aac	ata	ggg	gcc	ttc	tgc	agg	tgc	aac	acg	1379
Gln	Cys	Tyr	Leu	Val	Glu	Asn	Ile	Gly	Ala	Phe	Cys	Arg	Cys	Asn	Thr	
			390					395						400		
cag	gac	tac	atc	tgg	cac	aag	ggg	atg	cgc	tgc	gag	tcc	atc	atc	acc	1427
Gln	Asp	Tyr	Ile	Trp	His	Lys	Gly	Met	Arg	Cys	Glu	Ser	Ile	Ile	Thr	
			405					410					415			
gac	ttc	cag	gtg	atg	tgc	gtg	gcc	gtg	ggc	tgc	gct	gcc	ctc	gtc	ctg	1475
Asp	Phe	Gln	Val	Met	Cys	Val	Ala	Val	Gly	Ser	Ala	Ala	Leu	Val	Leu	
			420				425					430				
ctc	ctg	ctc	ttc	atg	atg	acg	gtg	ttc	ttt	gcc	aag	aag	ctc	tac	ctg	1523
Leu	Leu	Leu	Phe	Met	Met	Thr	Val	Phe	Phe	Ala	Lys	Lys	Leu	Tyr	Leu	
			435				440					445				
ctc	aag	acg	gag	aat	acc	aag	ctg	cgt	agg	acc	aac	aaa	ttc	cgg	acc	1571
Leu	Lys	Thr	Glu	Asn	Thr	Lys	Leu	Arg	Arg	Thr	Asn	Lys	Phe	Arg	Thr	
450					455					460					465	
cca	tct	gag	ctc	cac	aat	gat	aac	ttc	tcc	ctc	tcc	acc	att	gcc	gag	1619
Pro	Ser	Glu	Leu	His	Asn	Asp	Asn	Phe	Ser	Leu	Ser	Thr	Ile	Ala	Glu	
				470					475					480		

ES 2 762 979 T3

```

ggc tct cac cca aat gat gat cct agt gct ccc cac aaa atc cag gag      1667
Gly Ser His Pro Asn Asp Asp Pro Ser Ala Pro His Lys Ile Gln Glu
               485                      490                      495

gtt ctc aag tcc tgc ctg aaa gag gag gag tca ttt aac atc cag aac      1715
Val Leu Lys Ser Cys Leu Lys Glu Glu Glu Ser Phe Asn Ile Gln Asn
               500                      505                      510

tcc atg tcg ccc aaa ctt gag ggt ggc aaa ggt gac cag gct gac ttg      1763
Ser Met Ser Pro Lys Leu Glu Gly Gly Lys Gly Asp Gln Ala Asp Leu
               515                      520                      525

gat gtg aac tgt ctt cag aat aat tta acc taa agcagagcaa gaagagagga      1816
Asp Val Asn Cys Leu Gln Asn Asn Leu Thr
530                      535

agcgggggta gtgggtgggg ggtaggggaa gaaacattat ctctctttgt acagagtcta      1876

tttcttgtaa ccatttgtaa aactcttttc tttttctgat ctcatggcat gcttttatgt      1936

attttgtaaca ggaggcaaaa aaataacttaa aataagcaaa gaaactgaac agaattgcat      1996

acattggggtt gttttttctg tgctgtctgt acattgcttc tgctgctgtg atttctaaac      2056

ctgtgctggtt attcaactga cttttttttg tactttgacc cacgtttttt tgaaataacca      2116

gtaaaaaaca aagttcttga aataaaactt tttaaaaagt taaaaaaaaa aaaaaaaaaa      2175

```

<210> 4
 <211> 539
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 4

```

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

Leu Leu Phe Leu Gly Ala Ala Leu Val Leu Ala Ser Gly Ala Val Pro
20              25              30

Ala Arg Glu Ala Gly Ser Ala Val Glu Ala Glu Glu Leu Val Lys Gly
35              40              45

Ser Pro Ala Trp Glu Pro Pro Ala Asn Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly
50              55              60

Pro Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Ala Ser Trp Thr Ala Pro Gly Gly
65              70              75              80

Glu Leu Ala Gly Pro Glu Glu Val Leu Gln Glu Ser Ala Ala Val Thr
85              90              95

Gly Thr Ala Trp Leu Glu Ala Asp Ser Pro Gly Leu Gly Gly Val Thr
100             105             110

```

ES 2 762 979 T3

Ala Glu Ala Gly Ser Gly Asp Ala Gln Ala Leu Pro Ala Thr Leu Gln
115 120 125

Ala Pro His Glu Val Leu Gly Gln Ser Ile Met Pro Pro Ala Ile Pro
130 135 140

Glu Ala Thr Glu Ala Ser Gly Pro Pro Ser Pro Thr Pro Gly Asp Lys
145 150 155 160

Leu Ser Pro Ala Ser Glu Leu Pro Lys Glu Ser Pro Leu Glu Val Trp
165 170 175

Leu Asn Leu Gly Gly Ser Thr Pro Asp Pro Gln Gly Pro Glu Leu Thr
180 185 190

Tyr Pro Phe Gln Gly Thr Leu Glu Pro Gln Pro Ala Ser Asp Ile Ile
195 200 205

Asp Ile Asp Tyr Phe Glu Gly Leu Asp Gly Glu Gly Arg Gly Ala Asp
210 215 220

Leu Gly Ser Phe Pro Gly Ser Pro Gly Thr Ser Glu Asn His Pro Asp
225 230 235 240

Thr Glu Gly Glu Thr Pro Ser Trp Ser Leu Leu Asp Leu Tyr Asp Asp
245 250 255

Phe Thr Pro Phe Asp Glu Ser Asp Phe Tyr Pro Thr Thr Ser Phe Tyr
260 265 270

Asp Asp Leu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp Asp Lys Asp Ala
275 280 285

Val Gly Gly Gly Asp Leu Glu Asp Glu Asn Glu Leu Leu Val Pro Thr
290 295 300

Gly Lys Pro Gly Leu Gly Pro Gly Thr Gly Gln Pro Thr Ser Arg Trp
305 310 315 320

His Ala Val Pro Pro Gln His Thr Leu Gly Ser Val Pro Gly Ser Ser
325 330 335

Ile Ala Leu Arg Pro Arg Pro Gly Glu Pro Gly Arg Asp Leu Ala Ser
340 345 350

Ser Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg Ser Gly Phe Val Arg His Asn Gly
355 360 365

ES 2 762 979 T3

Ser Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly
370 375 380

Gly Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn
385 390 395 400

Thr Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys Gly Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile
405 410 415

Thr Asp Phe Gln Val Met Cys Val Ala Val Gly Ser Ala Ala Leu Val
420 425 430

Leu Leu Leu Leu Phe Met Met Thr Val Phe Phe Ala Lys Lys Leu Tyr
435 440 445

Leu Leu Lys Thr Glu Asn Thr Lys Leu Arg Arg Thr Asn Lys Phe Arg
450 455 460

Thr Pro Ser Glu Leu His Asn Asp Asn Phe Ser Leu Ser Thr Ile Ala
465 470 475 480

Glu Gly Ser His Pro Asn Asp Asp Pro Ser Ala Pro His Lys Ile Gln
485 490 495

Glu Val Leu Lys Ser Cys Leu Lys Glu Glu Glu Ser Phe Asn Ile Gln
500 505 510

Asn Ser Met Ser Pro Lys Leu Glu Gly Gly Lys Gly Asp Gln Ala Asp
515 520 525

Leu Asp Val Asn Cys Leu Gln Asn Asn Leu Thr
530 535

<210> 5
<211> 2253
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (669)..(1874)
<223>

<400> 5

agtccagtga ggaataactg tagataagat gagatgatgg gcattaagtg taactgctga 60

gaagccttca tagagggaaa ggtgataaga actgagtttt tctggcatga ggagtttacc 120

aggcaggaga ggtggagacg ctaggctagg caaataggct gcagccatag ttctgctgag 180

aaacaggttt tgaaccaagg caactccatc tggagatatg tatcagaaag attaggagat	240
agaatctcca tcttggtcac ttatttggtc ttctaagaca gcaatgggac cgtctcttaa	300
atactggagt tgtcctatct ccttgggctg ataccctgaa ctgtcatttg gcgcgtgagg	360
cgggcagcgc ggttgaggcc gaagagctgg tgaagggcag cccggcgtgg gagccgcctg	420
ccaacgacac gcggaagaa gccggcccac cagcggctgg ggaagatgag gcgtcgtgga	480
cggcgcccg tggcgagctg gccgggccag aagaggtgct gcaggagtgc gctgcggtga	540
ccggcaccgc ctggctggaa gctgacagcc caggcctggg aggagtgacc gcagaggcgg	600
gcagcggcga tgcccaggcc cttccagcta cgctccaggc tccccacgag gtcctcgggc	660
agtcaatc atg ccc cct gcc att cct gag gct aca gag gcc agc ggg cca	710
Met Pro Pro Ala Ile Pro Glu Ala Thr Glu Ala Ser Gly Pro	
1 5 10	
ccc tcc ccc acc ccc ggc gac aag ctg agc cca gct tct gaa ctc ccc	758
Pro Ser Pro Thr Pro Gly Asp Lys Leu Ser Pro Ala Ser Glu Leu Pro	
15 20 25 30	
aag gag agc ccc ttg gag gtt tgg ctg aac ctg ggg ggc agc aca ccc	806
Lys Glu Ser Pro Leu Glu Val Trp Leu Asn Leu Gly Gly Ser Thr Pro	
35 40 45	
gac cct caa ggg cca gag ctg act tac cca ttt cag ggc acc ctg gag	854
Asp Pro Gln Gly Pro Glu Leu Thr Tyr Pro Phe Gln Gly Thr Leu Glu	
50 55 60	
ccc caa ccg gca tca gat atc att gac atc gac tac ttc gaa gga ctg	902
Pro Gln Pro Ala Ser Asp Ile Ile Asp Ile Asp Tyr Phe Glu Gly Leu	
65 70 75	
gat ggt gag ggt cgt ggc gca gat ctg ggg agc ttc cca ggg tca cca	950
Asp Gly Glu Gly Arg Gly Ala Asp Leu Gly Ser Phe Pro Gly Ser Pro	
80 85 90	
gga acc tca gag aac cac cct gat act gag gga gag acc cct tcc tgg	998
Gly Thr Ser Glu Asn His Pro Asp Thr Glu Gly Glu Thr Pro Ser Trp	
95 100 105 110	
agc ctg ctt gac tta tac gat gat ttc acc ccc ttc gat gaa tct gat	1046
Ser Leu Leu Asp Leu Tyr Asp Asp Phe Thr Pro Phe Asp Glu Ser Asp	
115 120 125	
ttc tac ccc acc aca tcc ttt tat gat gac ttg gat gaa gag gag gag	1094
Phe Tyr Pro Thr Thr Ser Phe Tyr Asp Asp Leu Asp Glu Glu Glu Glu	
130 135 140	
gaa gag gag gat gac aaa gat gca gta gga ggt gga gac cta gaa gat	1142
Glu Glu Glu Asp Asp Lys Asp Ala Val Gly Gly Gly Asp Leu Glu Asp	
145 150 155	
gaa aat gag ctt cta gtg ccc act ggg aag cct ggt ctg ggg ccc ggg	1190
Glu Asn Glu Leu Leu Val Pro Thr Gly Lys Pro Gly Leu Gly Pro Gly	
160 165 170	
aca ggc cag ccc acc agt cgg tgg cat gct gtc cct cca cag cac act	1238
Thr Gly Gln Pro Thr Ser Arg Trp His Ala Val Pro Pro Gln His Thr	
175 180 185 190	

ctg ggg tcg gtc ccc ggc agc agc atc gcc ctc agg ccc cgc cca gga	1286
Leu Gly Ser Val Pro Gly Ser Ser Ile Ala Leu Arg Pro Arg Pro Gly	
195 200 205	
gag cca ggc agg gac ttg gcc tcc agt gaa aat ggc act gag tgc cgc	1334
Glu Pro Gly Arg Asp Leu Ala Ser Ser Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg	
210 215 220	
agt ggc ttt gtg cgg cat aac ggc tcc tgc cgg tca gtg tgc gac ctc	1382
Ser Gly Phe Val Arg His Asn Gly Ser Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu	
225 230 235	
ttc cca agt tac tgt cac aat ggc ggc cag tgc tac ctg gtg gag aac	1430
Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly Gly Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn	
240 245 250	
ata ggg gcc ttc tgc agg tgc aac acg cag gac tac atc tgg cac aag	1478
Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn Thr Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys	
255 260 265 270	
ggg atg cgc tgc gag tcc atc atc acc gac ttc cag gtg atg tgc gtg	1526
Gly Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile Thr Asp Phe Gln Val Met Cys Val	
275 280 285	
gcc gtg ggc tcg gct gcc ctc gtc ctg ctc ctg ctc ttc atg atg acg	1574
Ala Val Gly Ser Ala Ala Leu Val Leu Leu Leu Leu Phe Met Met Thr	
290 295 300	
gtg ttc ttt gcc aag aag ctc tac ctg ctc aag acg gag aat acc aag	1622
Val Phe Phe Ala Lys Lys Leu Tyr Leu Leu Lys Thr Glu Asn Thr Lys	
305 310 315	
ctg cgt agg acc aac aaa ttc cgg acc cca tct gag ctc cac aat gat	1670
Leu Arg Arg Thr Asn Lys Phe Arg Thr Pro Ser Glu Leu His Asn Asp	
320 325 330	
aac ttc tcc ctc tcc acc att gcc gag ggc tct cac cca aat gat gat	1718
Asn Phe Ser Leu Ser Thr Ile Ala Glu Gly Ser His Pro Asn Asp Asp	
335 340 345 350	
cct agt gct ccc cac aaa atc cag gag gtt ctc aag tcc tgc ctg aaa	1766
Pro Ser Ala Pro His Lys Ile Gln Glu Val Leu Lys Ser Cys Leu Lys	
355 360 365	
gag gag gag tca ttt aac atc cag aac tcc atg tcg ccc aaa ctt gag	1814
Glu Glu Glu Ser Phe Asn Ile Gln Asn Ser Met Ser Pro Lys Leu Glu	
370 375 380	
ggg ggc aaa ggt gac cag gct gac ttg gat gtg aac tgt ctt cag aat	1862
Gly Gly Lys Gly Asp Gln Ala Asp Leu Asp Val Asn Cys Leu Gln Asn	
385 390 395	
aat tta acc taa agcagagcaa gaagagagga agcgggggta gtgggtgggg	1914
Asn Leu Thr	
400	
ggtaggggaa gaaacattat ctctctttgt acagagtcta tttcttgtaa ccatttgtaa	1974
aactcttttc tttttctgat ctcatggcat gcttttatgt attttgtaca ggaggcaaaa	2034
aaataacttaa aataagcaaa gaaactgaac agaattgcat acattggggtt gttttttctg	2094

ES 2 762 979 T3

tgctgtctgt acattgcttc tgctgctgtg atttctaacc ctgtgctgtt attcaactga 2154
 cttttttttg tacttttgacc cacgtttttt tgaaataacca gtaaaaaaca aagttcttga 2214
 aataaaactt tttaaaaagt taaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2253

<210> 6
 <211> 401
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 6
 Met Pro Pro Ala Ile Pro Glu Ala Thr Glu Ala Ser Gly Pro Pro Ser
 1 5 10 15
 Pro Thr Pro Gly Asp Lys Leu Ser Pro Ala Ser Glu Leu Pro Lys Glu
 20 25 30
 Ser Pro Leu Glu Val Trp Leu Asn Leu Gly Gly Ser Thr Pro Asp Pro
 35 40 45
 Gln Gly Pro Glu Leu Thr Tyr Pro Phe Gln Gly Thr Leu Glu Pro Gln
 50 55 60
 Pro Ala Ser Asp Ile Ile Asp Ile Asp Tyr Phe Glu Gly Leu Asp Gly
 65 70 75 80
 Glu Gly Arg Gly Ala Asp Leu Gly Ser Phe Pro Gly Ser Pro Gly Thr
 85 90 95
 Ser Glu Asn His Pro Asp Thr Glu Gly Glu Thr Pro Ser Trp Ser Leu
 100 105 110
 Leu Asp Leu Tyr Asp Asp Phe Thr Pro Phe Asp Glu Ser Asp Phe Tyr
 115 120 125
 Pro Thr Thr Ser Phe Tyr Asp Asp Leu Asp Glu Glu Glu Glu Glu
 130 135 140
 Glu Asp Asp Lys Asp Ala Val Gly Gly Gly Asp Leu Glu Asp Glu Asn
 145 150 155 160
 Glu Leu Leu Val Pro Thr Gly Lys Pro Gly Leu Gly Pro Gly Thr Gly
 165 170 175
 Gln Pro Thr Ser Arg Trp His Ala Val Pro Pro Gln His Thr Leu Gly
 180 185 190
 Ser Val Pro Gly Ser Ser Ile Ala Leu Arg Pro Arg Pro Gly Glu Pro

ES 2 762 979 T3

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

Thr

<210> 7
 <211> 2256
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> CDS
 <222> (177)..(1877)
 <223>

<400> 7

ggggagggcgc ggcgcgccgg ggacagcggc ggacggcggc ggcggcggca tgcggctcct	60
cgcgctgccc atcgtgggct gaggcggccg cagaaccggc gggagggcgcg gcggccgggc	120
gagccgaggg cgagccagc cgggcggacc gcggacagcg gtcggggcgc cgcgcc atg	179
	Met 1
ggg cga gcc ggg ggc ggg ggc ccg ggc cgg ggg ccg ccg cca ctg ctg	227
Gly Arg Ala Gly Gly Gly Gly Pro Gly Arg Gly Pro Pro Pro Leu Leu	
	5 10 15
ctg ttt ctg ggg gcc gcg ctg gtc ctg gcc tct ggg gcc gtg ccg gcg	275
Leu Phe Leu Gly Ala Ala Leu Val Leu Ala Ser Gly Ala Val Pro Ala	
	20 25 30
cgt gag gcg ggc agc gcg gtt gag gcc gaa gag ctg gtg aag ggc agc	323
Arg Glu Ala Gly Ser Ala Val Glu Ala Glu Glu Leu Val Lys Gly Ser	
	35 40 45
ccg gcg tgg gag ccg cct gcc aac gac acg cgg gaa gaa gcc ggc cca	371
Pro Ala Trp Glu Pro Pro Ala Asn Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly Pro	
	50 55 60 65
cca gcg gct ggg gaa gat gag gcg tcg tgg acg gcg ccc ggt ggc gag	419
Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Ala Ser Trp Thr Ala Pro Gly Gly Glu	
	70 75 80
ctg gcc ggg cca gaa gag gtg ctg cag gag tcg gct gcg gtg acc ggc	467
Leu Ala Gly Pro Glu Glu Val Leu Gln Glu Ser Ala Ala Val Thr Gly	
	85 90 95
acc gcc tgg ctg gaa gct gac agc cca ggc ctg gga gga gtg acc gca	515
Thr Ala Trp Leu Glu Ala Asp Ser Pro Gly Leu Gly Gly Val Thr Ala	
	100 105 110
gag gcg ggc agc ggc gat gcc cag gcc ctt cca gct acg ctc cag gct	563
Glu Ala Gly Ser Gly Asp Ala Gln Ala Leu Pro Ala Thr Leu Gln Ala	
	115 120 125
ccc cac gag gtc ctc ggg cag tca atc atg ccc cct gcc att cct gag	611
Pro His Glu Val Leu Gly Gln Ser Ile Met Pro Pro Ala Ile Pro Glu	
	130 135 140 145
gct aca gag gcc agc ggg cca ccc tcc ccc acc ccc ggc gac aag ctg	659
Ala Thr Glu Ala Ser Gly Pro Pro Ser Pro Thr Pro Gly Asp Lys Leu	
	150 155 160
agc cca gct tct gaa ctc ccc aag gag agc ccc ttg gag gtt tgg ctg	707
Ser Pro Ala Ser Glu Leu Pro Lys Glu Ser Pro Leu Glu Val Trp Leu	
	165 170 175
aac ctg ggg ggc agc aca ccc gac cct caa ggg cca gag ctg act tac	755
Asn Leu Gly Gly Ser Thr Pro Asp Pro Gln Gly Pro Glu Leu Thr Tyr	
	180 185 190
cca ttt cag ggc acc ctg gag ccc caa ccg gca tca gat atc att gac	803
Pro Phe Gln Gly Thr Leu Glu Pro Gln Pro Ala Ser Asp Ile Ile Asp	
	195 200 205

ES 2 762 979 T3

atc gac tac ttc gaa gga ctg gat ggt gag ggt cgt ggc gca gat ctg Ile Asp Tyr Phe Glu Gly Leu Asp Gly Glu Gly Arg Gly Ala Asp Leu 210 215 220 225	851
ggg agc ttc cca ggg tca cca gga acc tca gag aac cac cct gat act Gly Ser Phe Pro Gly Ser Pro Gly Thr Ser Glu Asn His Pro Asp Thr 230 235 240	899
gag gga gag acc cct tcc tgg agc ctg ctt gac tta tac gat gat ttc Glu Gly Glu Thr Pro Ser Trp Ser Leu Asp Leu Tyr Asp Asp Phe 245 250 255	947
acc ccc ttc gat gaa tct gat ttc tac ccc acc aca tcc ttt tat gat Thr Pro Phe Asp Glu Ser Asp Phe Tyr Pro Thr Thr Ser Phe Tyr Asp 260 265 270	995
gac ttg gat gaa gag gag gag gaa gag gag gat gac aaa gat gca gta Asp Leu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp Asp Lys Asp Ala Val 275 280 285	1043
gga ggt gga gac cta gaa gat gaa aat gag ctt cta gtg ccc act ggg Gly Gly Gly Asp Leu Glu Asp Glu Asn Glu Leu Leu Val Pro Thr Gly 290 295 300 305	1091
aag cct ggt ctg ggg ccc ggg aca ggc cag ccc acc agt cgg tgg cat Lys Pro Gly Leu Gly Pro Gly Thr Gly Gln Pro Thr Ser Arg Trp His 310 315 320	1139
gct gtc cct cca cag cac act ctg ggg tcg gtc ccc ggc agc agc atc Ala Val Pro Pro Gln His Thr Leu Gly Ser Val Pro Gly Ser Ser Ile 325 330 335	1187
gcc ctc agg ccc cgc cca gga gag cca ggc agg gac ttg gcc tcc agt Ala Leu Arg Pro Arg Pro Gly Glu Pro Gly Arg Asp Leu Ala Ser Ser 340 345 350	1235
gaa aat ggc act gag tgc cgc agt ggc ttt gtg cgg cat aac ggc tcc Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg Ser Gly Phe Val Arg His Asn Gly Ser 355 360 365	1283
tgc cgg tca gtg tgc gac ctc ttc cca agt tac tgt cac aat ggc ggc Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly Gly 370 375 380 385	1331
cag tgc tac ctg gtg gag aac ata ggg gcc ttc tgc agg tgc aac acg Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn Thr 390 395 400	1379
cag gac tac atc tgg cac aag ggg atg cgc tgc gag tcc atc atc acc Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys Gly Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile Thr 405 410 415	1427
gac ttc cag gtg atg tgc gtg gcc gtg ggc tcg gct gcc ctc gtc ctg Asp Phe Gln Val Met Cys Val Ala Val Gly Ser Ala Ala Leu Val Leu 420 425 430	1475
ctc ctg ctc ttc atg atg acg gtg ttc ttt gcc aag aag ctc tac ctg Leu Leu Leu Phe Met Met Thr Val Phe Phe Ala Lys Lys Leu Tyr Leu 435 440 445	1523
ctc aag acg gag aat acc aag ctg cgt agg acc aac aaa ttc cgg acc Leu Lys Thr Glu Asn Thr Lys Leu Arg Arg Thr Asn Lys Phe Arg Thr 450 455 460 465	1571

cca tct gag ctc cac aat gat aac ttc tcc ctc tcc acc att gcc gag 1619
Pro Ser Glu Leu His Asn Asp Asn Phe Ser Leu Ser Thr Ile Ala Glu
470 475 480

ggc tct cac cca aat gta agg aaa ctt tgc aac act ccc cgt acc tcc 1667
Gly Ser His Pro Asn Val Arg Lys Leu Cys Asn Thr Pro Arg Thr Ser
485 490 495

tcc ccc cat gcc cgt gcc ttg gct cac tat gat aac gtt atc tgt cag 1715
Ser Pro His Ala Arg Ala Leu Ala His Tyr Asp Asn Val Ile Cys Gln
500 505 510

gat gat cct agt gct ccc cac aaa atc cag gag gtt ctc aag tcc tgc 1763
Asp Asp Pro Ser Ala Pro His Lys Ile Gln Glu Val Leu Lys Ser Cys
515 520 525

ctg aaa gag gag gag tca ttt aac atc cag aac tcc atg tcg ccc aaa 1811
Leu Lys Glu Glu Glu Ser Phe Asn Ile Gln Asn Ser Met Ser Pro Lys
530 535 540 545

ctt gag ggt ggc aaa ggt gac cag gct gac ttg gat gtg aac tgt ctt 1859
Leu Glu Gly Gly Lys Gly Asp Gln Ala Asp Leu Asp Val Asn Cys Leu
550 555 560

cag aat aat tta acc taa agcagagcaa gaagagagga agcgggggta 1907
Gln Asn Asn Leu Thr
565

gtgggtgggg ggtaggggaa gaaacattat ctctcttctgt acagagtcta tttcttgtaa 1967

ccatttgtaa aactcttttc tttttctgat ctcatggcat gcttttatgt attttgta 2027

ggaggcaaaa aaataacttaa aataagcaaa gaaactgaac agaattgcat acattggggtt 2087

gttttttctg tgctgtctgt acattgcttc tgctgctgtg atttctaaac ctgtgctgtt 2147

attcaactga cttttttttg tactttgacc cacgtttttt tgaaatacca gtaaaaaaca 2207

aagttcttga aataaaactt tttaaaaagt taaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2256

<210> 8
<211> 566
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 8

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

Leu Leu Phe Leu Gly Ala Ala Leu Val Leu Ala Ser Gly Ala Val Pro
20 25 30

Ala Arg Glu Ala Gly Ser Ala Val Glu Ala Glu Glu Leu Val Lys Gly
35 40 45

Ser Pro Ala Trp Glu Pro Pro Ala Asn Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly
50 55 60

5

10

ES 2 762 979 T3

Pro Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Ala Ser Trp Thr Ala Pro Gly Gly
 65 70 75 80
 Glu Leu Ala Gly Pro Glu Glu Val Leu Gln Glu Ser Ala Ala Val Thr
 85 90 95
 Gly Thr Ala Trp Leu Glu Ala Asp Ser Pro Gly Leu Gly Gly Val Thr
 100 105 110
 Ala Glu Ala Gly Ser Gly Asp Ala Gln Ala Leu Pro Ala Thr Leu Gln
 115 120 125
 Ala Pro His Glu Val Leu Gly Gln Ser Ile Met Pro Pro Ala Ile Pro
 130 135 140
 Glu Ala Thr Glu Ala Ser Gly Pro Pro Ser Pro Thr Pro Gly Asp Lys
 145 150 155 160
 Leu Ser Pro Ala Ser Glu Leu Pro Lys Glu Ser Pro Leu Glu Val Trp
 165 170 175
 Leu Asn Leu Gly Gly Ser Thr Pro Asp Pro Gln Gly Pro Glu Leu Thr
 180 185 190
 Tyr Pro Phe Gln Gly Thr Leu Glu Pro Gln Pro Ala Ser Asp Ile Ile
 195 200 205
 Asp Ile Asp Tyr Phe Glu Gly Leu Asp Gly Glu Gly Arg Gly Ala Asp
 210 215 220
 Leu Gly Ser Phe Pro Gly Ser Pro Gly Thr Ser Glu Asn His Pro Asp
 225 230 235 240
 Thr Glu Gly Glu Thr Pro Ser Trp Ser Leu Leu Asp Leu Tyr Asp Asp
 245 250 255
 Phe Thr Pro Phe Asp Glu Ser Asp Phe Tyr Pro Thr Thr Ser Phe Tyr
 260 265 270
 Asp Asp Leu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp Asp Lys Asp Ala
 275 280 285
 Val Gly Gly Gly Asp Leu Glu Asp Glu Asn Glu Leu Leu Val Pro Thr
 290 295 300
 Gly Lys Pro Gly Leu Gly Pro Gly Thr Gly Gln Pro Thr Ser Arg Trp

ES 2 762 979 T3

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

ES 2 762 979 T3

Leu Gln Asn Asn Leu Thr
565

<210> 9
<211> 2099
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> CDS
<222> (177)..(1610)
<223>

<400> 9

```

gggggagggcgc ggcgcgcgcgcg ggacagcggc ggacggcggc ggcggcggca tgcggctcct      60
cgcgctgccc atcgtgggct gaggcggccg cagaaccggc gggagggcgcg gcggccgggc      120
gagccgagggg cgcagccagc cgggcggacc gcggacagcg gtcggggcgc cgcgcc atg      179
                                         Met
                                         1

ggg cga gcc ggg ggc ggg ggc ccg ggc cgg ggg ccg ccg cca ctg ctg      227
Gly Arg Ala Gly Gly Gly Gly Pro Gly Arg Gly Pro Pro Pro Leu Leu
                    5                                10                    15

ctg ttt ctg ggg gcc gcg ctg gtc ctg gcc tct ggg gcc gtg ccg gcg      275
Leu Phe Leu Gly Ala Ala Leu Val Leu Ala Ser Gly Ala Val Pro Ala
                20                                25                    30

cgt gag gcg ggc agc gcg gtt gag gcc gaa gag ctg gtg aag ggc agc      323
Arg Glu Ala Gly Ser Ala Val Glu Ala Glu Glu Leu Val Lys Gly Ser
                35                                40                    45

ccg gcg tgg gag ccg cct gcc aac gac acg cgg gaa gaa gcc ggc cca      371
Pro Ala Trp Glu Pro Pro Ala Asn Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly Pro
                50                                55                    60                    65

cca gcg gct ggg gaa gat gag gcg tcg tgg acg gcg ccc ggt ggc gag      419
Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Ala Ser Trp Thr Ala Pro Gly Gly Glu
                    70                                75                    80

ctg gcc ggg cca gaa gag gtg ctg cag gag tcg gct gcg gtg acc ggc      467
Leu Ala Gly Pro Glu Glu Val Leu Gln Glu Ser Ala Ala Val Thr Gly
                    85                                90                    95

acc gcc tgg ctg gaa gct gac agc cca ggc ctg gga gga gtg acc gca      515
Thr Ala Trp Leu Glu Ala Asp Ser Pro Gly Leu Gly Gly Val Thr Ala
                100                                105                    110

gag gcg ggc agc ggc gat gcc cag gcc ctt cca gct acg ctc cag gct      563
Glu Ala Gly Ser Gly Asp Ala Gln Ala Leu Pro Ala Thr Leu Gln Ala
                115                                120                    125

ccc cac gag gtc ctc ggg cag tca atc atg ccc cct gcc att cct gag      611
Pro His Glu Val Leu Gly Gln Ser Ile Met Pro Pro Ala Ile Pro Glu
                130                                135                    140                    145

gct aca gag gcc agc ggg cca ccc tcc ccc acc ccc ggc gac aag ctg      659
Ala Thr Glu Ala Ser Gly Pro Pro Ser Pro Thr Pro Gly Asp Lys Leu
                    150                                155                    160

```

agc cca gct tct gaa ctc ccc aag gag agc ccc ttg gag gtt tgg ctg Ser Pro Ala Ser Glu Leu Pro Lys Glu Ser Pro Leu Glu Val Trp Leu 165 170 175	707
aac ctg ggg ggc agc aca ccc gac cct caa ggg cca gag ctg act tac Asn Leu Gly Gly Ser Thr Pro Asp Pro Gln Gly Pro Glu Leu Thr Tyr 180 185 190	755
cca ttt cag ggc acc ctg gag ccc caa ccg gca tca gat atc att gac Pro Phe Gln Gly Thr Leu Glu Pro Gln Pro Ala Ser Asp Ile Ile Asp 195 200 205	803
atc gac tac ttc gaa gga ctg gat ggt gag ggt cgt ggc gca gat ctg Ile Asp Tyr Phe Glu Gly Leu Asp Gly Glu Gly Arg Gly Ala Asp Leu 210 215 220 225	851
ggg agc ttc cca ggg tca cca gga acc tca gag aac cac cct gat act Gly Ser Phe Pro Gly Ser Pro Gly Thr Ser Glu Asn His Pro Asp Thr 230 235 240	899
gag gga gag acc cct tcc tgg agc ctg ctt gac tta tac gat gat ttc Glu Gly Glu Thr Pro Ser Trp Ser Leu Leu Asp Leu Tyr Asp Asp Phe 245 250 255	947
acc ccc ttc gat gaa tct gat ttc tac ccc acc aca tcc ttt tat gat Thr Pro Phe Asp Glu Ser Asp Phe Tyr Pro Thr Thr Ser Phe Tyr Asp 260 265 270	995
gac ttg gat gaa gag gag gag gaa gag gag gat gac aaa gat gca gta Asp Leu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp Asp Lys Asp Ala Val 275 280 285	1043
gga ggt gga gac cta gaa gat gaa aat gag ctt cta gtg ccc act ggg Gly Gly Gly Asp Leu Glu Asp Glu Asn Glu Leu Leu Val Pro Thr Gly 290 295 300 305	1091
aag cct ggt ctg ggg ccc ggg aca ggc cag ccc acc agt cgg tgg cat Lys Pro Gly Leu Gly Pro Gly Thr Gly Gln Pro Thr Ser Arg Trp His 310 315 320	1139
gct gtc cct cca cag cac act ctg ggg tgc gtc ccc ggc agc agc atc Ala Val Pro Pro Gln His Thr Leu Gly Ser Val Pro Gly Ser Ser Ile 325 330 335	1187
gcc ctc agg ccc cgc cca gga gag cca ggc agg gac ttg gcc tcc agt Ala Leu Arg Pro Arg Pro Gly Glu Pro Gly Arg Asp Leu Ala Ser Ser 340 345 350	1235
gaa aat ggc act gag tgc cgc agt ggc ttt gtg cgg cat aac ggc tcc Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg Ser Gly Phe Val Arg His Asn Gly Ser 355 360 365	1283
tgc cgg tca gtg tgc gac ctc ttc cca agt tac tgt cac aat ggc ggc Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly Gly 370 375 380 385	1331
cag tgc tac ctg gtg gag aac ata ggg gcc ttc tgc agg tgc aac acg Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn Thr 390 395 400	1379
cag gac tac atc tgg cac aag ggg atg cgc tgc gag tcc atc atc acc Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys Gly Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile Thr 405 410 415	1427

gac ttc cag gtg atg tgc gtg gcc gtg ggc tcg gct gcc ctc gtc ctg 1475
 Asp Phe Gln Val Met Cys Val Ala Val Gly Ser Ala Ala Leu Val Leu
 420 425 430

ctc ctg ctc ttc atg atg acg gtg ttc ttt gcc aag aag ctc tac ctg 1523
 Leu Leu Leu Phe Met Met Thr Val Phe Phe Ala Lys Lys Leu Tyr Leu
 435 440 445

ctc aag acg gag aat acc aag ctg cgt agg acc aag atg atc cta gtg 1571
 Leu Lys Thr Glu Asn Thr Lys Leu Arg Arg Thr Lys Met Ile Leu Val
 450 455 460 465

ctc ccc aca aaa tcc agg agg ttc tca agt cct gcc tga aagaggagga 1620
 Leu Pro Thr Lys Ser Arg Arg Phe Ser Ser Pro Ala
 470 475

gtcatttaac atccagaact ccatgtcgcc caaacttgag ggtggcaaag gtgaccaggc 1680

tgacttggat gtgaactgtc ttcagaataa tttaacctaa agcagagcaa gaagagagga 1740

agcgggggta gtgggtgggg ggtaggggaa gaaacattat ctctctttgt acagagtcta 1800

tttcttgtaa ccatttgtaa aactcttttc tttttctgat ctcatggcat gcttttatgt 1860

attttgtaca ggaggcaaaa aaataacttaa aataagcaaa gaaactgaac agaattgcat 1920

acattggggtt gttttttctg tgctgtctgt acattgcttc tgctgtctgtg atttctaaac 1980

ctgtgctggtt attcaactga cttttttttg tactttgacc cacgtttttt tgaaataacca 2040

gtaaaaaaca aagttcttga aataaaactt tttaaaaagt taaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2099

<210> 10
 <211> 477
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 10

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

Leu Leu Phe Leu Gly Ala Ala Leu Val Leu Ala Ser Gly Ala Val Pro
 20 25 30

Ala Arg Glu Ala Gly Ser Ala Val Glu Ala Glu Glu Leu Val Lys Gly
 35 40 45

Ser Pro Ala Trp Glu Pro Pro Ala Asn Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly
 50 55 60

Pro Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Ala Ser Trp Thr Ala Pro Gly Gly
 65 70 75 80

Glu Leu Ala Gly Pro Glu Glu Val Leu Gln Glu Ser Ala Ala Val Thr
 85 90 95

5

10

ES 2 762 979 T3

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

ES 2 762 979 T3

340	345	350
Ser Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg Ser Gly Phe Val Arg His Asn Gly		
355	360	365
Ser Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly		
370	375	380
Gly Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn		
385	390	400
Thr Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys Gly Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile		
405	410	415
Thr Asp Phe Gln Val Met Cys Val Ala Val Gly Ser Ala Ala Leu Val		
420	425	430
Leu Leu Leu Leu Phe Met Met Thr Val Phe Phe Ala Lys Lys Leu Tyr		
435	440	445
Leu Leu Lys Thr Glu Asn Thr Lys Leu Arg Arg Thr Lys Met Ile Leu		
450	455	460
Val Leu Pro Thr Lys Ser Arg Arg Phe Ser Ser Pro Ala		
465	470	475

<210> 11
 <211> 2334
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> CDS
 <222> (669)..(1955)
 <223>

<400> 11

ES 2 762 979 T3

agtccagtga ggaataactg tagataagat gagatgatgg gcattaagtg taactgctga	60
gaagccttca tagagggaaa ggtgataaga actgagtttt tctggcatga ggagtttacc	120
aggcaggaga ggtggagacg ctaggctagg caaataggct gcagccatag ttctgctgag	180
aaacaggttt tgaaccaagg caactccatc tggagatatg tatcagaaaag attaggagat	240
agaatctcca tcttggtcac ttatttggtc ttctaagaca gcaatgggac cgtctcttaa	300
atactggagt tgtcctatct ccttgggctg ataccctgaa ctgtcatttg gcgcgtgagg	360
cgggcagcgc ggttgaggcc gaagagctgg tgaagggcag cccggcgtgg gagccgcctg	420
ccaacgacac gcgggaagaa gccggcccac cagcggctgg ggaagatgag gcgtcgtgga	480
cggcgcccgg tggcgagctg gccgggccag aagaggtgct gcaggagtcg gctgcggtga	540

ccggcaccgc ctggctggaa gctgacagcc caggcctggg aggagtgacc gcagaggcgg	600
gcagcggcga tgcccaggcc cttccagcta cgctccaggc tccccacgag gtcctcgggc	660
agtcaatc atg ccc cct gcc att cct gag gct aca gag gcc agc ggg cca	710
Met Pro Pro Ala Ile Pro Glu Ala Thr Glu Ala Ser Gly Pro	
1 5 10	
ccc tcc ccc acc ccc ggc gac aag ctg agc cca gct tct gaa ctc ccc	758
Pro Ser Pro Thr Pro Gly Asp Lys Leu Ser Pro Ala Ser Glu Leu Pro	
15 20 25 30	
aag gag agc ccc ttg gag gtt tgg ctg aac ctg ggg ggc agc aca ccc	806
Lys Glu Ser Pro Leu Glu Val Trp Leu Asn Leu Gly Gly Ser Thr Pro	
35 40 45	
gac cct caa ggg cca gag ctg act tac cca ttt cag ggc acc ctg gag	854
Asp Pro Gln Gly Pro Glu Leu Thr Tyr Pro Phe Gln Gly Thr Leu Glu	
50 55 60	
ccc caa ccg gca tca gat atc att gac atc gac tac ttc gaa gga ctg	902
Pro Gln Pro Ala Ser Asp Ile Ile Asp Ile Asp Tyr Phe Glu Gly Leu	
65 70 75	
gat ggt gag ggt cgt ggc gca gat ctg ggg agc ttc cca ggg tca cca	950
Asp Gly Glu Gly Arg Gly Ala Asp Leu Gly Ser Phe Pro Gly Ser Pro	
80 85 90	
gga acc tca gag aac cac cct gat act gag gga gag acc cct tcc tgg	998
Gly Thr Ser Glu Asn His Pro Asp Thr Glu Gly Glu Thr Pro Ser Trp	
95 100 105 110	
agc ctg ctt gac tta tac gat gat ttc acc ccc ttc gat gaa tct gat	1046
Ser Leu Leu Asp Leu Tyr Asp Asp Phe Thr Pro Phe Asp Glu Ser Asp	
115 120 125	
ttc tac ccc acc aca tcc ttt tat gat gac ttg gat gaa gag gag gag	1094
Phe Tyr Pro Thr Thr Ser Phe Tyr Asp Asp Leu Asp Glu Glu Glu Glu	
130 135 140	
gaa gag gag gat gac aaa gat gca gta gga ggt gga gac cta gaa gat	1142
Glu Glu Glu Asp Asp Lys Asp Ala Val Gly Gly Gly Asp Leu Glu Asp	
145 150 155	
gaa aat gag ctt cta gtg ccc act ggg aag cct ggt ctg ggg ccc ggg	1190
Glu Asn Glu Leu Leu Val Thr Gly Lys Pro Gly Leu Gly Pro Gly	
160 165 170	
aca ggc cag ccc acc agt cgg tgg cat gct gtc cct cca cag cac act	1238
Thr Gly Gln Pro Thr Ser Arg Trp His Ala Val Pro Pro Gln His Thr	
175 180 185 190	
ctg ggg tcg gtc ccc ggc agc agc atc gcc ctc agg ccc cgc cca gga	1286
Leu Gly Ser Val Pro Gly Ser Ser Ile Ala Leu Arg Pro Arg Pro Gly	
195 200 205	
gag cca ggc agg gac ttg gcc tcc agt gaa aat ggc act gag tgc cgc	1334
Glu Pro Gly Arg Asp Leu Ala Ser Ser Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg	
210 215 220	
agt ggc ttt gtg cgg cat aac ggc tcc tgc cgg tca gtg tgc gac ctc	1382
Ser Gly Phe Val Arg His Asn Gly Ser Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu	

ES 2 762 979 T3

225	230	235	
ttc cca agt tac tgt cac aat ggc ggc cag tgc tac ctg gtg gag aac			1430
Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly Gly Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn			
240	245	250	
ata ggg gcc ttc tgc agg tgc aac acg cag gac tac atc tgg cac aag			1478
Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn Thr Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys			
255	260	265	270
ggg atg cgc tgc gag tcc atc atc acc gac ttc cag gtg atg tgc gtg			1526
Gly Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile Thr Asp Phe Gln Val Met Cys Val			
275	280	285	
gcc gtg ggc tcg gct gcc ctc gtc ctg ctc ctg ctc ttc atg atg acg			1574
Ala Val Gly Ser Ala Ala Leu Val Leu Leu Leu Leu Phe Met Met Thr			
290	295	300	
gtg ttc ttt gcc aag aag ctc tac ctg ctc aag acg gag aat acc aag			1622
Val Phe Phe Ala Lys Lys Leu Tyr Leu Leu Lys Thr Glu Asn Thr Lys			
305	310	315	
ctg cgt agg acc aac aaa ttc cgg acc cca tct gag ctc cac aat gat			1670
Leu Arg Arg Thr Asn Lys Phe Arg Thr Pro Ser Glu Leu His Asn Asp			
320	325	330	
aac ttc tcc ctc tcc acc att gcc gag ggc tct cac cca aat gta agg			1718
Asn Phe Ser Leu Ser Thr Ile Ala Glu Gly Ser His Pro Asn Val Arg			
335	340	345	350
aaa ctt tgc aac act ccc cgt acc tcc tcc ccc cat gcc cgt gcc ttg			1766
Lys Leu Cys Asn Thr Pro Arg Thr Ser Ser Pro His Ala Arg Ala Leu			
355	360	365	
gct cac tat gat aac gtt atc tgt cag gat gat cct agt gct ccc cac			1814
Ala His Tyr Asp Asn Val Ile Cys Gln Asp Asp Pro Ser Ala Pro His			
370	375	380	
aaa atc cag gag gtt ctc aag tcc tgc ctg aaa gag gag gag tca ttt			1862
Lys Ile Gln Glu Val Leu Lys Ser Cys Leu Lys Glu Glu Glu Ser Phe			
385	390	395	
aac atc cag aac tcc atg tcg ccc aaa ctt gag ggt ggc aaa ggt gac			1910
Asn Ile Gln Asn Ser Met Ser Pro Lys Leu Glu Gly Gly Lys Gly Asp			
400	405	410	
cag gct gac ttg gat gtg aac tgt ctt cag aat aat tta acc taa			1955
Gln Ala Asp Leu Asp Val Asn Cys Leu Gln Asn Asn Leu Thr			
415	420	425	
agcagagcaa gaagagagga agcgggggta gtgggtgggg ggtaggggaa gaaacattat			2015
ctcctcttgt acagagtcta tttcttgtaa ccatttgtaa aactcttttc tttttctgat			2075
ctcatggcat gcttttatgt attttggtaca ggaggcaaaa aaatacttaa aataagcaaa			2135
gaaactgaac agaattgcat acattggggtt gttttttctg tgctgtctgt acattgcttc			2195
tgctgctgtg atttctaaac ctgtgctgtt attcaactga cttttttttg tactttgacc			2255
cacgtttttt tgaaatacca gtaaaaaaca aagttcttga aataaaaactt tttaaaaagt			2315
taaaaaaaaa aaaaaaaaaa			2334

ES 2 762 979 T3

<210> 12
 <211> 428
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 12

Met	Pro	Pro	Ala	Ile	Pro	Glu	Ala	Thr	Glu	Ala	Ser	Gly	Pro	Pro	Ser	1	5	10	15
Pro	Thr	Pro	Gly	Asp	Lys	Leu	Ser	Pro	Ala	Ser	Glu	Leu	Pro	Lys	Glu	20	25	30	
Ser	Pro	Leu	Glu	Val	Trp	Leu	Asn	Leu	Gly	Gly	Ser	Thr	Pro	Asp	Pro	35	40	45	
Gln	Gly	Pro	Glu	Leu	Thr	Tyr	Pro	Phe	Gln	Gly	Thr	Leu	Glu	Pro	Gln	50	55	60	
Pro	Ala	Ser	Asp	Ile	Ile	Asp	Ile	Asp	Tyr	Phe	Glu	Gly	Leu	Asp	Gly	65	70	75	80
Glu	Gly	Arg	Gly	Ala	Asp	Leu	Gly	Ser	Phe	Pro	Gly	Ser	Pro	Gly	Thr	85	90	95	
Ser	Glu	Asn	His	Pro	Asp	Thr	Glu	Gly	Glu	Thr	Pro	Ser	Trp	Ser	Leu	100	105	110	
Leu	Asp	Leu	Tyr	Asp	Asp	Phe	Thr	Pro	Phe	Asp	Glu	Ser	Asp	Phe	Tyr	115	120	125	
Pro	Thr	Thr	Ser	Phe	Tyr	Asp	Asp	Leu	Asp	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	130	135	140	
Glu	Asp	Asp	Lys	Asp	Ala	Val	Gly	Gly	Gly	Asp	Leu	Glu	Asp	Glu	Asn	145	150	155	160
Glu	Leu	Leu	Val	Pro	Thr	Gly	Lys	Pro	Gly	Leu	Gly	Pro	Gly	Thr	Gly	165	170	175	
Gln	Pro	Thr	Ser	Arg	Trp	His	Ala	Val	Pro	Pro	Gln	His	Thr	Leu	Gly	180	185	190	
Ser	Val	Pro	Gly	Ser	Ser	Ile	Ala	Leu	Arg	Pro	Arg	Pro	Gly	Glu	Pro	195	200	205	
Gly	Arg	Asp	Leu	Ala	Ser	Ser	Glu	Asn	Gly	Thr	Glu	Cys	Arg	Ser	Gly	210	215	220	

ES 2 762 979 T3

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

<210> 13
 <211> 2592
 <212> ADN
 <213> *Felis catus*

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(2217)
 <223>

<400> 13

atg ggc ttt ggc tat gga cgg att agg tct gat ccg att aga gcc cgg	48
Met Gly Phe Gly Tyr Gly Arg Ile Arg Ser Asp Pro Ile Arg Ala Arg	
1 5 10 15	
gcc gtc ggc ttc gcc ccc ttg cct ggc gct gcc agc gcc cgc ccc gcc	96
Ala Val Gly Phe Ala Pro Leu Pro Gly Ala Ala Ser Ala Arg Pro Ala	
20 25 30	
ctc gtg gac acc cgc aga cct ccc cga gac cct tcc cct ccc cga aca	144
Leu Val Asp Thr Arg Arg Pro Pro Arg Asp Pro Ser Pro Pro Arg Thr	
35 40 45	
cgg cat tgg cgc aga aat ctg aga ggt ccg tgc acc ccg ggc tcg gct	192
Arg His Trp Arg Arg Asn Leu Arg Gly Pro Cys Thr Pro Gly Ser Ala	
50 55 60	
cat ttc cac agc tcc agc tcg ggc ttc cgc ccc ctg cgg ccc ttc cga	240
His Phe His Ser Ser Ser Ser Gly Phe Arg Pro Leu Arg Pro Phe Arg	
65 70 75 80	
gcc ccg ccc caa gct tgc ggg tgt ctg ggc ccc cgc ctc cgt gct cgc	288
Ala Pro Pro Gln Ala Cys Gly Cys Leu Gly Pro Arg Leu Arg Ala Arg	
85 90 95	
cgc gtg gcg ggt ggg ttc ctc gca ggt ggg ggg ccc gtg cca gct ctc	336
Arg Val Ala Gly Gly Phe Leu Ala Gly Gly Gly Pro Val Pro Ala Leu	
100 105 110	
cac ggg gag ggc ggg ccc cgc ccc aca ggt ctc ccg ccc gtg cac ctg	384
His Gly Glu Gly Gly Pro Arg Pro Thr Gly Leu Pro Pro Val His Leu	
115 120 125	
tcg gct aac gcc acg cac ggc gct gtg ctc cgc acc cgc gct act cca	432
Ser Ala Asn Ala Thr His Gly Ala Val Leu Arg Thr Arg Ala Thr Pro	
130 135 140	
cgt ccg ttt gtc tcg gcg tcc cga gcc ggg ggt acc gac tgc gac cag	480
Arg Pro Phe Val Ser Ala Ser Arg Ala Gly Gly Thr Asp Cys Asp Gln	
145 150 155 160	
gac ccc cgc ggc cct cgc gcc cca ccc tgg gcc agg gtc ccg ctg gcc	528
Asp Pro Arg Gly Pro Arg Ala Pro Pro Trp Ala Arg Val Pro Leu Ala	
165 170 175	
tcg ggt aca ggc gga gtt agc gag ctg tgg caa ggg ggc ggg gca gct	576
Ser Gly Thr Gly Gly Val Ser Glu Leu Trp Gln Gly Gly Gly Ala Ala	
180 185 190	
cct tgc ccg cga ccg ggg cgg ggg aag ggg cgc gcg aag agg tgg gat	624
Pro Cys Pro Arg Pro Gly Arg Gly Lys Gly Arg Ala Lys Arg Trp Asp	
195 200 205	
act tgg ggg agg ccg agg ggt tgg ggg cgg ccc cgg ccc ggg tgt ccg	672
Thr Trp Gly Arg Pro Arg Gly Trp Gly Arg Pro Arg Pro Gly Cys Pro	
210 215 220	
gac aga gcc cgt gag gct ggc agc gcc gtc gag gcc cac gag cag gtg	720
Asp Arg Ala Arg Glu Ala Gly Ser Ala Val Glu Ala His Glu Gln Val	
225 230 235 240	
aag agc atc ctg gcg agg gag ccg act gcc aac gaa acg agg gag aag	768

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

agt gac ctt ctg gtg cct acc gag aag cct ggt ctg ggg ccc ggg act	1536
Ser Asp Leu Leu Val Pro Thr Glu Lys Pro Gly Leu Gly Pro Gly Thr	
500 505 510	
ggc cag cct acc agt cgg tgg cat gct gtg ccc cca cag cat act ctg	1584
Gly Gln Pro Thr Ser Arg Trp His Ala Val Pro Pro Gln His Thr Leu	
515 520 525	
ggg atg gtc cct ggc agc agc atc gcc ctc agg ccc cgc cct gga gag	1632
Gly Met Val Pro Gly Ser Ser Ile Ala Leu Arg Pro Arg Pro Gly Glu	
530 535 540	
cca ggc agg gac ctg acc cca agc gag aat ggc act gag tgc cgc agc	1680
Pro Gly Arg Asp Leu Thr Pro Ser Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg Ser	
545 550 555 560	
ggc ttt gtg cga cat aac ggc tcc tgc cgg tca gtg tgc gac ctc ttt	1728
Gly Phe Val Arg His Asn Gly Ser Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu Phe	
565 570 575	
cca agt tac tgt cac aat ggc ggc cag tgc tac ctg gtg gag aac ata	1776
Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly Gly Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn Ile	
580 585 590	
ggg gcc ttc tgc agg tgc aac aca cag gac tac atc tgg cac aag ggg	1824
Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn Thr Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys Gly	
595 600 605	
atg cgc tgc gag tcc atc atc acc gac ttc cag gtg atg tgc gtg gcc	1872
Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile Thr Asp Phe Gln Val Met Cys Val Ala	
610 615 620	
gtc ggc tcg gct gcc ctt gta ctg ctc ctg ctc ttc atg atg aca gtg	1920
Val Gly Ser Ala Ala Leu Val Leu Leu Leu Phe Met Met Thr Val	
625 630 635 640	
ttc ttc gcc aag aag cta tat ctg ctc aag aca gag aat acc aag ctg	1968
Phe Phe Ala Lys Lys Leu Tyr Leu Leu Lys Thr Glu Asn Thr Lys Leu	
645 650 655	
cgt agg acc aac aaa ttc cgg acc ccg tct gaa ctc cac aac gat aac	2016
Arg Arg Thr Asn Lys Phe Arg Thr Pro Ser Glu Leu His Asn Asp Asn	
660 665 670	
ttc tcc ctc tcc acc att gcc gaa ggc tct cac cca aac gat gac cct	2064
Phe Ser Leu Ser Thr Ile Ala Glu Gly Ser His Pro Asn Asp Asp Pro	
675 680 685	
agt gct ccc cac aaa atc cag gaa gct ctc aag tcc tgc ctg aaa gag	2112
Ser Ala Pro His Lys Ile Gln Glu Ala Leu Lys Ser Cys Leu Lys Glu	
690 695 700	
gag gag tca ttt aac atc cag aac tcc atg tca ccc aaa ctt gag ggt	2160
Glu Glu Ser Phe Asn Ile Gln Asn Ser Met Ser Pro Lys Leu Glu Gly	
705 710 715 720	
ggc aaa ggt gac cag gct gac ttg gag gtg aac tgt ctt cag aat aac	2208
Gly Lys Gly Asp Gln Ala Asp Leu Glu Val Asn Cys Leu Gln Asn Asn	
725 730 735	
cta acc taa agcagaacaa gaagagagga aatggggggga ggggggggtac	2257
Leu Thr	

ggggagaaac atgacctcct cttgtacaga gtctatttct tgtaaccatt tgttaaactc 2317
 ttttcttttt ctgatctcat ggcattgcttt gatgtatttt gtacaggagg ggaaacacac 2377
 acacacacac acacacacac acacacacac acacacacta agcaaagaac ccagacaaaa 2437
 ttgcatacgt tgggttggtt tgtctgtgct gtctgtacat tgcttctgct gctgtgattt 2497
 ctaaacctac gctgttattc aactactttt tttttgtact ttgacccacc tttttttgaa 2557
 ataagagtaa aaaacaaagt tcttgaaata aaact 2592

<210> 14
 <211> 738
 <212> PRT
 <213> *Felis catus*

<400> 14

Met Gly Phe Gly Tyr Gly Arg Ile Arg Ser Asp Pro Ile Arg Ala Arg
 1 5 10 15
 Ala Val Gly Phe Ala Pro Leu Pro Gly Ala Ala Ser Ala Arg Pro Ala
 20 25 30
 Leu Val Asp Thr Arg Arg Pro Pro Arg Asp Pro Ser Pro Pro Arg Thr
 35 40 45
 Arg His Trp Arg Arg Asn Leu Arg Gly Pro Cys Thr Pro Gly Ser Ala
 50 55 60
 His Phe His Ser Ser Ser Ser Gly Phe Arg Pro Leu Arg Pro Phe Arg
 65 70 75 80
 Ala Pro Pro Gln Ala Cys Gly Cys Leu Gly Pro Arg Leu Arg Ala Arg
 85 90 95
 Arg Val Ala Gly Gly Phe Leu Ala Gly Gly Gly Pro Val Pro Ala Leu
 100 105 110
 His Gly Glu Gly Gly Pro Arg Pro Thr Gly Leu Pro Pro Val His Leu
 115 120 125
 Ser Ala Asn Ala Thr His Gly Ala Val Leu Arg Thr Arg Ala Thr Pro
 130 135 140
 Arg Pro Phe Val Ser Ala Ser Arg Ala Gly Gly Thr Asp Cys Asp Gln
 145 150 155 160
 Asp Pro Arg Gly Pro Arg Ala Pro Pro Trp Ala Arg Val Pro Leu Ala
 165 170 175

ES 2 762 979 T3

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

ES 2 762 979 T3

420								425				430			
Gly	Thr	Ser	Glu	His	His	Pro	Asp	Thr	Gly	Gly	Glu	Thr	Pro	Ser	Trp
		435				440						445			
Ser	Leu	Leu	Asp	Leu	Tyr	Asp	Asp	Phe	Thr	Pro	Phe	Asp	Glu	Ser	Asp
		450				455						460			
Phe	Tyr	Pro	Thr	Thr	Ser	Phe	Tyr	Asp	Asp	Leu	Asp	Glu	Glu	Glu	Glu
465						470				475				480	
Glu	Glu	Asp	Asp	Lys	Asp	Ala	Ala	Gly	Gly	Glu	Asp	Leu	Glu	Asp	Glu
				485				490						495	
Ser	Asp	Leu	Leu	Val	Pro	Thr	Glu	Lys	Pro	Gly	Leu	Gly	Pro	Gly	Thr
		500						505						510	
Gly	Gln	Pro	Thr	Ser	Arg	Trp	His	Ala	Val	Pro	Pro	Gln	His	Thr	Leu
		515						520				525			
Gly	Met	Val	Pro	Gly	Ser	Ser	Ile	Ala	Leu	Arg	Pro	Arg	Pro	Gly	Glu
		530				535						540			
Pro	Gly	Arg	Asp	Leu	Thr	Pro	Ser	Glu	Asn	Gly	Thr	Glu	Cys	Arg	Ser
545						550				555				560	
Gly	Phe	Val	Arg	His	Asn	Gly	Ser	Cys	Arg	Ser	Val	Cys	Asp	Leu	Phe
				565				570						575	
Pro	Ser	Tyr	Cys	His	Asn	Gly	Gly	Gln	Cys	Tyr	Leu	Val	Glu	Asn	Ile
		580						585						590	
Gly	Ala	Phe	Cys	Arg	Cys	Asn	Thr	Gln	Asp	Tyr	Ile	Trp	His	Lys	Gly
		595				600						605			
Met	Arg	Cys	Glu	Ser	Ile	Ile	Thr	Asp	Phe	Gln	Val	Met	Cys	Val	Ala
		610				615						620			
Val	Gly	Ser	Ala	Ala	Leu	Val	Leu	Leu	Leu	Leu	Phe	Met	Met	Thr	Val
625						630				635				640	
Phe	Phe	Ala	Lys	Lys	Leu	Tyr	Leu	Leu	Lys	Thr	Glu	Asn	Thr	Lys	Leu
				645				650						655	
Arg	Arg	Thr	Asn	Lys	Phe	Arg	Thr	Pro	Ser	Glu	Leu	His	Asn	Asp	Asn
		660						665						670	

ES 2 762 979 T3

Phe Ser Leu Ser Thr Ile Ala Glu Gly Ser His Pro Asn Asp Asp Pro
675 680 685

Ser Ala Pro His Lys Ile Gln Glu Ala Leu Lys Ser Cys Leu Lys Glu
690 695 700

Glu Glu Ser Phe Asn Ile Gln Asn Ser Met Ser Pro Lys Leu Glu Gly
705 710 715 720

Gly Lys Gly Asp Gln Ala Asp Leu Glu Val Asn Cys Leu Gln Asn Asn
725 730 735

Leu Thr

<210> 15
<211> 3881
<212> ADN
<213> *Mus musculus*

<220>
<221> CDS
<222> (1816)..(3516)
<223>

<400> 15

atttctctgc agggagggga gaagatagtt gaggaaggaa atatttcaca ttcgcttggt 60
tgttctactg atcaaaacag aattttaaag gatagttacg ggtgggaaat agggtagata 120
gaaggatttg gttggttagt tggttctaga cagggtattac agacataagc taccataacc 180
agcaaataca attattttgc agtactagga attgaacctg aagtctcact catttttaggc 240
aagtgccttc cctaactctt aagtgtttta ccataagtag gaaaagactt tattgtgacc 300
atgccctagc atgaaaggac ttacatagga tctcctgtgt ggtaggaact tccaccaaca 360
tccacttttg acaactacca cccaggaatt gaagagagaa ataggtatta tatctgggta 420
agcaagcccc ctcttgactg gaactccaaa ctaggacacg tatgtctggt tgccactctc 480
tagatgtcat acagacccta catagccacc tccgagccag gatataagag cctagctgct 540
ggaattttgt cagccttgag gggactctaa gctgcaacca tacttgtagag agaaaaggag 600
tgttgaacca aggcaactca ctagaagaca ggtatgagac agattaaatg atggtcctcc 660
atcttgttca tatttggtca ctgacagaag actatcaaca ccagcatcgc ccttggacta 720
acccttggac tgagctgaac atgatcattt aggtcgataa taaaacatca atatgtaggc 780
tatttgagg cggggaaagc cagggtgacta agctgtagtt ctgcctccct tccaacaggt 840
ctcccagtaa gcagtgaacc tgggttagga acagagacct ctctctccac gttgcatgtg 900
cacctggcag tgatctagac ctcttggttt aaccaggaac ttgggttttg gtagtactgg 960

tcacctgctgg aaggccgccc tggatttaga aaacgcaagg tggagtccaa atactgggga	1020
ccggataaca cgttggtggtg acctggctgt gcaagattta aactaatggc tttggctgtg	1080
gacagattag gtctgatcca attagagcct aggccgtagt attcgctcc ttgccaggct	1140
ctgtcgatgt tctccctgct ctccggaaga agacttagag tccgactgga gaaccttctg	1200
gacaccgaat tctggattgg caccggacag tccgtgcccc gggctccgct ctctccacac	1260
tgggggctgct ggcttccgcc ccctgtggcc cttccgagcc ccgccccgag cctgcgggtg	1320
tccgagcccc cgacgtcccc gcctcccctg cgcgcgcgtg gcgggtgggt tcctcgagg	1380
tccgcggccc agcgcgctca gcaactggaag cgcaagcggg ccccggtggg tgccgcccgt	1440
gcacctgtcg gcttccccca gtggctctgc tgccgccccct gcgcgcgcgc cttgcatcgc	1500
tctccacgtc ccgtgccaga ggggtctgac tgtcccctgg cgaggaagac cgagaggggc	1560
cggcgtcaac gcgacgtgct gcggggcggg cggagtgggg gcggcgccga acgcggcagc	1620
ggcaagcggc agcggcggcg cgggagggcg ggaggcgcg cgctcggagg acagcggctg	1680
acggcggcat gcggcggtc atgctgcccc ccgtgggctg aggcggccgc acacgggcgg	1740
caggcgcagc ggccgggcaa gccgagggcg cagccaagcc gcgcgcaccg cgcacagcgg	1800
caggggctcc gcgca atg ggc cga gct gga ggc ggc ggc ccg gac tgg ggg	1851
Met Gly Arg Ala Gly Gly Gly Gly Pro Asp Trp Gly	
1 5 10	
ccg ccg cca gtg ctg ctg ctt ctg ggg gtc acg ctg gtg ctc acc gct	1899
Pro Pro Pro Val Leu Leu Leu Leu Gly Val Thr Leu Val Leu Thr Ala	
15 20 25	
ggg gcc gta ccg gca cgg gaa aca ggc agt gcg atc gag gct gaa gag	1947
Gly Ala Val Pro Ala Arg Glu Thr Gly Ser Ala Ile Glu Ala Glu Glu	
30 35 40	
ctg gtg agg agc agc ctg gca tgg gag tgc cgt gcc aat gac acg cgg	1995
Leu Val Arg Ser Ser Leu Ala Trp Glu Ser Arg Ala Asn Asp Thr Arg	
45 50 55 60	
gag gaa gcc ggc ctg cca gca gct ggg gaa gat gag acc tgc tgg aca	2043
Glu Glu Ala Gly Leu Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Thr Ser Trp Thr	
65 70 75	
gag cgg ggc agt gag atg gct gcg gtg ggc cct ggg gtc ggg cca gag	2091
Glu Arg Gly Ser Glu Met Ala Ala Val Gly Pro Gly Val Gly Pro Glu	
80 85 90	
gag gca cta gag gca tgc gct gca gtg act ggc act gcc tgg cta gag	2139
Glu Ala Leu Glu Ala Ser Ala Ala Val Thr Gly Thr Ala Trp Leu Glu	
95 100 105	
gca gat ggc cca ggc ctg ggt gga gtg act gca gag gct ggc agt ggc	2187
Ala Asp Gly Pro Gly Leu Gly Gly Val Thr Ala Glu Ala Gly Ser Gly	
110 115 120	
gac gcc cag acc ctt cca gct acg ctc cag gct cct gat gag gcc ctt	2235
Asp Ala Gln Thr Leu Pro Ala Thr Leu Gln Ala Pro Asp Glu Ala Leu	
125 130 135 140	

ggg tca tct aca atg ccc cct gcc atc cct gag gct act gaa acc agt Gly Ser Ser Thr Met Pro Pro Ala Ile Pro Glu Ala Thr Glu Thr Ser 145 150 155	2283
gga cct ccc tcc cct gct gtc cat gat aag cct agt gta ggc cct gaa Gly Pro Pro Ser Pro Ala Val His Asp Lys Pro Ser Val Gly Pro Glu 160 165 170	2331
ctc cct aaa gag atc ccc ttg gag gtt cgg ctg aac ctg gga ggc agc Leu Pro Lys Glu Ile Pro Leu Glu Val Arg Leu Asn Leu Gly Gly Ser 175 180 185	2379
aca cca gag ccc act ttt ccc ctt cag ggc act ctc gag acc caa cca Thr Pro Glu Pro Thr Phe Pro Leu Gln Gly Thr Leu Glu Thr Gln Pro 190 195 200	2427
gcc tca gat ata att gac att gat tac ttt gaa gga ttg gat agt gag Ala Ser Asp Ile Ile Asp Ile Asp Tyr Phe Glu Gly Leu Asp Ser Glu 205 210 215 220	2475
ggt cgt ggt gca gac atg ggc agc ttc ccg ggg tca cca gga acc tca Gly Arg Gly Ala Asp Met Gly Ser Phe Pro Gly Ser Pro Gly Thr Ser 225 230 235	2523
gaa aat cac cct gat acc gaa gga gag acc cct tcc tgg agc ctg ctt Glu Asn His Pro Asp Thr Glu Gly Glu Thr Pro Ser Trp Ser Leu Leu 240 245 250	2571
gat ttg tat gat gac ttc acc cct ttt gat gag tct gat ttc tac ccc Asp Leu Tyr Asp Asp Phe Thr Pro Phe Asp Glu Ser Asp Phe Tyr Pro 255 260 265	2619
acc aca tcc ttc tat gat gat ttg gaa gag gag gaa gaa gag gag gag Thr Thr Ser Phe Tyr Asp Asp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu 270 275 280	2667
gat aag gat aca gta gga ggt gga gac ctg gaa gat gaa aac gac ctt Asp Lys Asp Thr Val Gly Gly Gly Asp Leu Glu Asp Glu Asn Asp Leu 285 290 295 300	2715
ctc ctg ccc tct caa aag cct ggt gtg ggg cct ggg aca gga cag ccc Leu Leu Pro Ser Gln Lys Pro Gly Val Gly Pro Gly Thr Gly Gln Pro 305 310 315	2763
acc aac cgg tgg cat gct gtt ccc cca cag cat act ctg ggg atg gta Thr Asn Arg Trp His Ala Val Pro Pro Gln His Thr Leu Gly Met Val 320 325 330	2811
cct ggc agc agc atc tct ctt agg ccc cgc ccc gga gat cca ggc aag Pro Gly Ser Ser Ile Ser Leu Arg Pro Arg Pro Gly Asp Pro Gly Lys 335 340 345	2859
gac ctg gcc tca gga gaa aat ggc aca gag tgc cga gtt ggc ttc gtc Asp Leu Ala Ser Gly Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg Val Gly Phe Val 350 355 360	2907
agg cac aat ggc tcc tgc cgg tca gtc tgt gac ctc ttt ccg agt tac Arg His Asn Gly Ser Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr 365 370 375 380	2955
tgt cac aac ggc ggc cag tgc tac ctg gtg gag aac ata ggg gct ttc Cys His Asn Gly Gly Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn Ile Gly Ala Phe 390 395 400	3003

385	390	395	
tgc agg tgt aac acc cag gac tac atc tgg cac aag ggg atg cgc tgt			3051
Cys Arg Cys Asn Thr Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys Gly Met Arg Cys			
400	405	410	
gag tcc atc atc acg gac ttc cag gtg atg tgc gtg gcc gtt ggc tcg			3099
Glu Ser Ile Ile Thr Asp Phe Gln Val Met Cys Val Ala Val Gly Ser			
415	420	425	
gct gct ctc gtg ctt ctc ctc ctg ttc atg atg act gtg ttc ttt gcc			3147
Ala Ala Leu Val Leu Leu Leu Leu Phe Met Met Thr Val Phe Phe Ala			
430	435	440	
aag aag ctc tat ctg ctc aag act gag aat acc aag ctg cgg agg acc			3195
Lys Lys Leu Tyr Leu Leu Lys Thr Glu Asn Thr Lys Leu Arg Arg Thr			
445	450	455	460
aat aaa ttc cgg acc cca tct gag ctc cac aac gac aac ttc tcc ctc			3243
Asn Lys Phe Arg Thr Pro Ser Glu Leu His Asn Asp Asn Phe Ser Leu			
465	470	475	
tcc acc att gcc gag ggc tct cat cca aat gta agg aaa ttt tgc gac			3291
Ser Thr Ile Ala Glu Gly Ser His Pro Asn Val Arg Lys Phe Cys Asp			
480	485	490	
act ccc cgt gtc tcc tcc ccc cat gcc cgt gcc ttg gct cac tat gat			3339
Thr Pro Arg Val Ser Ser Pro His Ala Arg Ala Leu Ala His Tyr Asp			
495	500	505	
aac att gtc tgt cag gac gac ccc agc gct ccc cac aaa atc cag gac			3387
Asn Ile Val Cys Gln Asp Asp Pro Ser Ala Pro His Lys Ile Gln Asp			
510	515	520	
cct ctc aag tcc cgc ctg aag gag gaa gag tcc ttt aac atc cag aac			3435
Pro Leu Lys Ser Arg Leu Lys Glu Glu Glu Ser Phe Asn Ile Gln Asn			
525	530	535	540
tcc atg tca ccc aaa ctt gag ggt ggc aaa ggt gac cag gat gac ttg			3483
Ser Met Ser Pro Lys Leu Glu Gly Gly Lys Gly Asp Gln Asp Asp Leu			
545	550	555	
ggg gtg aac tgt ctg cag aat aac cta acc tga gactgaggaa gaagagagga			3536
Gly Val Asn Cys Leu Gln Asn Asn Leu Thr			
560	565		
aaggggggtg ggggaggga ggactgttgt ctcctctcgg gcagagtcgg cttcttgtaa			3596
ccatttgtaa agcttttctt tttctgatct catggcatgc tctgatgtgt tttgtaggag			3656
gggaaacact taaaataagc aaagaaaccg agcaggattg catatatcgg atggttcttg			3716
tctgtgctct ctgtacgttg cttctgcagc tgtgatttct aaacctctgc tggcactcag			3776
ctgacttttt gttttgtact ttgaccgcc tttttttgga ataccaagtt aaaaaaaaaa			3836
agttcttgaa ataaaacttt ttaaaaagct gtccaaaaaa aaaaa			3881

<210> 16
 <211> 566
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

ES 2 762 979 T3

<400> 16

```

Met Gly Arg Ala Gly Gly Gly Gly Pro Asp Trp Gly Pro Pro Pro Val
1      5      10      15

Leu Leu Leu Leu Gly Val Thr Leu Val Leu Thr Ala Gly Ala Val Pro
20      25      30

Ala Arg Glu Thr Gly Ser Ala Ile Glu Ala Glu Glu Leu Val Arg Ser
35      40      45

Ser Leu Ala Trp Glu Ser Arg Ala Asn Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly
50      55      60

Leu Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Thr Ser Trp Thr Glu Arg Gly Ser
65      70      75      80

Glu Met Ala Ala Val Gly Pro Gly Val Gly Pro Glu Glu Ala Leu Glu
85      90      95

Ala Ser Ala Ala Val Thr Gly Thr Ala Trp Leu Glu Ala Asp Gly Pro
100     105     110

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

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

Met Pro Pro Ala Ile Pro Glu Ala Thr Glu Thr Ser Gly Pro Pro Ser
145     150     155     160

Pro Ala Val His Asp Lys Pro Ser Val Gly Pro Glu Leu Pro Lys Glu
165     170     175

Ile Pro Leu Glu Val Arg Leu Asn Leu Gly Gly Ser Thr Pro Glu Pro
180     185     190

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

Ile Asp Ile Asp Tyr Phe Glu Gly Leu Asp Ser Glu Gly Arg Gly Ala
210     215     220

Asp Met Gly Ser Phe Pro Gly Ser Pro Gly Thr Ser Glu Asn His Pro
225     230     235     240

```

ES 2 762 979 T3

Asp Thr Glu Gly Glu Thr Pro Ser Trp Ser Leu Leu Asp Leu Tyr Asp
 245 250 255
 Asp Phe Thr Pro Phe Asp Glu Ser Asp Phe Tyr Pro Thr Thr Ser Phe
 260 265 270
 Tyr Asp Asp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Asp Lys Asp Thr
 275 280 285
 Val Gly Gly Gly Asp Leu Glu Asp Glu Asn Asp Leu Leu Leu Pro Ser
 290 295 300
 Gln Lys Pro Gly Val Gly Pro Gly Thr Gly Gln Pro Thr Asn Arg Trp
 305 310 315 320
 His Ala Val Pro Pro Gln His Thr Leu Gly Met Val Pro Gly Ser Ser
 325 330 335
 Ile Ser Leu Arg Pro Arg Pro Gly Asp Pro Gly Lys Asp Leu Ala Ser
 340 345 350
 Gly Glu Asn Gly Thr Glu Cys Arg Val Gly Phe Val Arg His Asn Gly
 355 360 365
 Ser Cys Arg Ser Val Cys Asp Leu Phe Pro Ser Tyr Cys His Asn Gly
 370 375 380
 Gly Gln Cys Tyr Leu Val Glu Asn Ile Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn
 385 390 395 400
 Thr Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys Gly Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile
 405 410 415
 Thr Asp Phe Gln Val Met Cys Val Ala Val Gly Ser Ala Ala Leu Val
 420 425 430
 Leu Leu Leu Leu Phe Met Met Thr Val Phe Phe Ala Lys Lys Leu Tyr
 435 440 445
 Leu Leu Lys Thr Glu Asn Thr Lys Leu Arg Arg Thr Asn Lys Phe Arg
 450 455 460
 Thr Pro Ser Glu Leu His Asn Asp Asn Phe Ser Leu Ser Thr Ile Ala
 465 470 475 480
 Glu Gly Ser His Pro Asn Val Arg Lys Phe Cys Asp Thr Pro Arg Val
 485 490 495

ES 2 762 979 T3

Ser Ser Pro His Ala Arg Ala Leu Ala His Tyr Asp Asn Ile Val Cys
500 505 510

Gln Asp Asp Pro Ser Ala Pro His Lys Ile Gln Asp Pro Leu Lys Ser
515 520 525

Arg Leu Lys Glu Glu Glu Ser Phe Asn Ile Gln Asn Ser Met Ser Pro
530 535 540

Lys Leu Glu Gly Gly Lys Gly Asp Gln Asp Asp Leu Gly Val Asn Cys
545 550 555 560

Leu Gln Asn Asn Leu Thr
565

5	<210> 17 <211> 20 <212> ADN <213> Artificial	
10	<220> <223> cebador T3	
	<400> 17 aattaaccct cactaaaggg	20
15	<210> 18 <211> 19 <212> ADN <213> Artificial	
20	<220> <223> cebador T7	
	<400> 18 taatacgact cactatagg	19
25	<210> 19 <211> 20 <212> ADN <213> Artificial	
30	<220> <223> sentido cebador RT canino	
35	<400> 19 aagttactgt cacaacggcg	20
40	<210> 20 <211> 20 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> antisentido cebador RT canino	
45	<400> 20 tcatcatgaa gagcaggagc	20
	<210> 21	

	<211> 21 <212> ADN <213> Artificial	
5	<220> <223> sentido cebador RT humano	
	<400> 21 aagttactgt cacaatggcg g	21
10	<210> 22 <211> 20 <212> ADN <213> Artificial	
15	<220> <223> antisentido cebador RT humano	
20	<400> 22 tcatcatgaa gagcaggagc	20
25	<210> 23 <211> 20 <212> ADN <213> Artificial	
30	<220> <223> sentido cebador RT de ratón	
	<400> 23 gagttactgt cacaacggcg	20
35	<210> 24 <211> 20 <212> ADN <213> Artificial	
40	<220> <223> antisentido cebador RT de ratón	
	<400> 24 tcatcatgaa caggaggaga	20
45	<210> 25 <211> 18 <212> ADN <213> Artificial	
50	<220> <223> Cebador GAPDH	
	<400> 25 gggctgcttt taactctg	18
55	<210> 26 <211> 18 <212> ADN <213> Artificial	
60	<220> <223> Cebador GAPDH	
65	<400> 26 ccaggaaatg agcttgac	18

	<210> 27	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
5	<220>	
	<223> Cebador GAPDH	
	<400> 27	
10	cttcaccacc atggagaagg	20
	<210> 28	
	<211> 20	
	<212> ADN	
15	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador GAPDH	
20	<400> 28	
	tgaagtcgca ggagacaacc	20
	<210> 29	
	<211> 51	
25	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> homo CSPG5 kpn clo	
30	<400> 29	
	ggtaccatgg ggcgagccgg gggcgggggc ccggggccggg ggccgcccgc a	51
	<210> 30	
35	<211> 49	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
40	<223> homocspg ecoRI clo	
	<400> 30	
	gaattccttag gttaaattat tctgaagaca gttcacatcc aagtcagcc	49
45	<210> 31	
	<211> 36	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
50	<220>	
	<223> cebador	
	<400> 31	
	gaattcgcac atcacctgga agtcgggtgat gatgga	36
55	<210> 32	
	<211> 1998	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
60	<220>	
	<223> proteína de fusión Fc	
	<220>	
65	<221> CDS	

<222> (1)..(1998)
<223>

<400> 32

5

acc acg aag ctt gcc gcc acc atg ggg cga gcc ggg ggc ggg ggc ccg	48
Thr Thr Lys Leu Ala Ala Thr Met Gly Arg Ala Gly Gly Gly Gly Pro	
1 5 10 15	
ggc cgg ggg ccg ccg cca ctg ctg ctg ttt ctg ggg gcc gcg ctg gtc	96
Gly Arg Gly Pro Pro Pro Leu Leu Leu Phe Leu Gly Ala Ala Leu Val	
20 25 30	
ctg gcc tct ggg gcc gtg ccg gcg cgt gag gcg ggc agc gcg gtt gag	144
Leu Ala Ser Gly Ala Val Pro Ala Arg Glu Ala Gly Ser Ala Val Glu	
35 40 45	
gcc gaa gag ctg gtg aag ggc agc ccg gcg tgg gag ccg cct gcc aac	192
Ala Glu Glu Leu Val Lys Gly Ser Pro Ala Trp Glu Pro Pro Ala Asn	
50 55 60	
gac acg cgg gaa gaa gcc ggc cca cca gcg gct ggg gaa gat gag gcg	240
Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly Pro Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Ala	
65 70 75 80	
tcg tgg acg gcg ccc ggt ggc gag ctg gcc ggg cca gaa gag gtg ctg	288
Ser Trp Thr Ala Pro Gly Gly Glu Leu Ala Gly Pro Glu Glu Val Leu	
85 90 95	
cag gag tcg gct gcg gtg acc ggc acc gcc tgg ctg gaa gct gac agc	336
Gln Glu Ser Ala Ala Val Thr Gly Thr Ala Trp Leu Glu Ala Asp Ser	
100 105 110	
cca ggc ctg gga gga gtg acc gca gag gcg ggc agc ggc gat gcc cag	384
Pro Gly Leu Gly Gly Val Thr Ala Glu Ala Gly Ser Gly Asp Ala Gln	
115 120 125	
gcc ctt cca gct acg ctc cag gct ccc cac gag gtc ctc ggg cag tca	432
Ala Leu Pro Ala Thr Leu Gln Ala Pro His Glu Val Leu Gly Gln Ser	
130 135 140	
atc atg ccc cct gcc att cct gag gct aca gag gcc agc ggg cca ccc	480

Ile 145	Met	Pro	Pro	Ala	Ile 150	Pro	Glu	Ala	Thr	Glu 155	Ala	Ser	Gly	Pro	Pro 160	
tcc Ser	ccc Pro	acc Thr	ccc Pro	ggc Gly 165	gac Asp	aag Lys	ctg Leu	agc Ser	cca Pro	gct Ala 170	tct Ser	gaa Glu	ctc Leu	ccc Pro 175	aag Lys	528
gag Glu	agc Ser	ccc Pro	ttg Leu 180	gag Glu	gtt Val	tgg Trp	ctg Leu	aac Asn 185	ctg Leu	ggg Gly	ggc Gly	agc Ser	aca Thr 190	ccc Pro	gac Asp	576
cct Pro	caa Gln 195	ggg Gly	cca Pro	gag Glu	ctg Leu	act Thr	tac Tyr 200	cca Pro	ttt Phe	cag Gln	ggc Gly	acc Thr 205	ctg Leu	gag Glu	ccc Pro	624
caa Gln 210	ccg Pro	gca Ala	tca Ser	gat Asp	atc Ile	att Ile 215	gac Asp	atc Ile	gac Asp	tac Tyr 220	ttc Phe	gaa Glu	gga Gly	ctg Leu	gat Asp	672
ggc Gly 225	gag Glu	ggc Gly	cgt Arg	ggc Gly	gca Ala 230	gat Asp	ctg Leu	ggg Gly	agc Ser	ttc Phe 235	cca Pro	ggg Gly	tca Ser	cca Pro	gga Gly	720
acc Thr	tca Ser	gag Glu	aac Asn 245	cac His	cct Pro	gat Asp	act Thr	gag Glu	gga Gly 250	gag Glu	acc Thr	cct Pro	tcc Ser	tgg Trp 255	agc Ser	768
ctg Leu	ctt Leu	gac Asp	tta Leu 260	tac Tyr	gat Asp	gat Asp	ttc Phe	acc Thr 265	ccc Pro	ttc Phe	gat Asp	gaa Glu	tct Ser	gat Asp 270	ttc Phe	816
tac Tyr	ccc Pro	acc Thr 275	aca Thr	tcc Ser	ttt Phe	tat Tyr	gat Asp 280	gac Asp	ttg Leu	gat Asp	gaa Glu	gag Glu	gag Glu	gag Glu	gaa Glu	864
gag Glu 290	gag Glu	gat Asp	gac Asp	aaa Lys	gat Asp	gca Ala 295	gta Val	gga Gly	ggc Gly	gga Gly	gac Asp 300	cta Leu	gaa Glu	gat Asp	gaa Glu	912
aat Asn 305	gag Glu	ctt Leu	cta Leu	gtg Val	ccc Pro	act Thr 310	ggg Gly	aag Lys	cct Pro	ggc Gly 315	ctg Leu	ggg Gly	ccc Pro	ggg Gly	aca Thr 320	960
ggc Gly	cag Gln	ccc Pro	acc Thr	agt Ser 325	cgg Arg	tgg Trp	cat His	gct Ala	gtc Val 330	cct Pro	cca Pro	cag Gln	cac His	act Thr 335	ctg Leu	1008
ggg Gly	tcg Ser	gtc Val	ccc Pro 340	ggc Gly	agc Ser	agc Ser	atc Ile	gcc Ala 345	ctc Leu	agg Arg	ccc Pro	cgc Arg	cca Pro	gga Gly	gag Glu	1056
cca Pro	ggc Gly	agg Arg 355	gac Asp	ttg Leu	gcc Ala	tcc Ser	agt Ser 360	gaa Glu	aat Asn	ggc Gly	act Thr 365	gag Glu	tgc Cys	cgc Arg	agt Ser	1104
ggc Gly 370	ttt Phe	gtg Val	cgg Arg	cat His	aac Asn	ggc Gly 375	tcc Ser	tgc Cys	cgg Arg	tca Ser	gtg Val 380	tgc Cys	gac Asp	ctc Leu	ttc Phe	1152
cca Pro 385	agt Ser	tac Tyr	tgt Cys	cac His	aat Asn 390	ggc Gly	ggc Gly	cag Gln	tgc Cys	tac Tyr 395	ctg Leu	gtg Val	gag Glu	aac Asn	ata Ile 400	1200

ES 2 762 979 T3

ggg gcc ttc tgc agg tgc aac acg cag gac tac atc tgg cac aag ggg Gly Ala Phe Cys Arg Cys Asn Thr Gln Asp Tyr Ile Trp His Lys Gly 405 410 415	1248
atg cgc tgc gag tcc atc atc acc gac ttc cag ccg aat tct gca gat Met Arg Cys Glu Ser Ile Ile Thr Asp Phe Gln Pro Asn Ser Ala Asp 420 425 430	1296
atc ccc aga ggg ccc aca atc aag ccc tgt cct cca tgc aaa tgc cca Ile Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro 435 440 445	1344
gca cct aac ctc ttg ggt gga cca tcc gtc ttc atc ttc cct cca aag Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys 450 455 460	1392
atc aag gat gta ctc atg atc tcc ctg agc ccc ata gtc aca tgt gtg Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val 465 470 475 480	1440
gtg gtg gat gtg agc gag gat gac cca gat gtc cag atc agc tgg ttt Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe 485 490 495	1488
gtg aac aac gtg gaa gta cac aca gct cag aca caa acc cat aga gag Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu 500 505 510	1536
gat tac aac agt act ctc cgg gtg gtc agt gcc ctc ccc atc cag cac Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His 515 520 525	1584
cag gac tgg atg agt ggc aag gag ttc aaa tgc aag gtc aac aac aaa Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys 530 535 540	1632
gac ctc cca gcg ccc atc gag aga acc atc tca aaa ccc aaa ggg tca Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser 545 550 555 560	1680
gta aga gct cca cag gta tat gtc ttg cct cca cca gaa gaa gag atg Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met 565 570 575	1728
act aag aaa cag gtc act ctg acc tgc atg gtc aca gac ttc atg cct Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro 580 585 590	1776
gaa gac att tac gtg gag tgg acc aac aac ggg aaa aca gag cta aac Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn 595 600 605	1824
tac aag aac act gaa cca gtc ctg gac tct gat ggt tct tac ttc atg Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met 610 615 620	1872
tac agc aag ctg aga gtg gaa aag aag aac tgg gtg gaa aga aat agc Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser 625 630 635 640	1920
tac tcc tgt tca gtg gtc cac gag ggt ctg cac aat cac cac acg act Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr 645 650 655	1968

aag agc ttc tcc cgg act ccg ggt aaa tga
 Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 660 665

1998

<210> 33
 <211> 665
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> proteína de fusión Fc

<400> 33

Thr Thr Lys Leu Ala Ala Thr Met Gly Arg Ala Gly Gly Gly Gly Pro
 1 5 10 15

Gly Arg Gly Pro Pro Pro Leu Leu Leu Phe Leu Gly Ala Ala Leu Val
 20 25 30

Leu Ala Ser Gly Ala Val Pro Ala Arg Glu Ala Gly Ser Ala Val Glu
 35 40 45

Ala Glu Glu Leu Val Lys Gly Ser Pro Ala Trp Glu Pro Pro Ala Asn
 50 55 60

Asp Thr Arg Glu Glu Ala Gly Pro Pro Ala Ala Gly Glu Asp Glu Ala
 65 70 75 80

Ser Trp Thr Ala Pro Gly Gly Glu Leu Ala Gly Pro Glu Glu Val Leu
 85 90 95

Gln Glu Ser Ala Ala Val Thr Gly Thr Ala Trp Leu Glu Ala Asp Ser
 100 105 110

Pro Gly Leu Gly Gly Val Thr Ala Glu Ala Gly Ser Gly Asp Ala Gln
 115 120 125

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

Ile Met Pro Pro Ala Ile Pro Glu Ala Thr Glu Ala Ser Gly Pro Pro
 145 150 155 160

Ser Pro Thr Pro Gly Asp Lys Leu Ser Pro Ala Ser Glu Leu Pro Lys
 165 170 175

Glu Ser Pro Leu Glu Val Trp Leu Asn Leu Gly Gly Ser Thr Pro Asp
 180 185 190

ES 2 762 979 T3

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

ES 2 762 979 T3

Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys
450 455 460

Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val
465 470 475 480

Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe
485 490 495

Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu
500 505 510

Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His
515 520 525

Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys
530 535 540

Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser
545 550 555 560

Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met
565 570 575

Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro
580 585 590

Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn
595 600 605

Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met
610 615 620

Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser
625 630 635 640

Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr
645 650 655

Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
660 665

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica para su uso en un método para tratar y/o prevenir el cáncer, comprendiendo dicha composición un anticuerpo o un fragmento del mismo que tienen reactividad inmunológica con proteína
5 Proteoglicano 5 Condroitín Sulfato (CSPG5), o un fragmento de la misma, que consiste en al menos 7 o más restos de aminoácidos consecutivos, como principio activo.
2. La composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1, en la que la proteína CSPG5 consiste en una cualquiera de las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID NO: 8, 4, 6, 10 y 12; o
10 una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de aminoácidos del 80 % o más con la secuencia de aminoácidos.
3. La composición farmacéutica para su uso según las reivindicaciones 1 o 2, en donde el cáncer es leucemia o linfoma maligno.
15
4. La composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal o un anticuerpo policlonal.
5. La composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el anticuerpo es un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo
20 monocatenario o un anticuerpo biespecífico.
6. La composición farmacéutica para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la composición es para su uso en un método para tratar y/o prevenir el cáncer en un ser humano.
25
7. La composición farmacéutica para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la composición se formula con un vehículo o un medio farmacéuticamente aceptables.
8. La composición farmacéutica para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el método
30 comprende administrar la composición por administración oral o administración parenteral, preferentemente inyección, administración nasal, administración transpulmonar o administración transdérmica.

Fig. 1

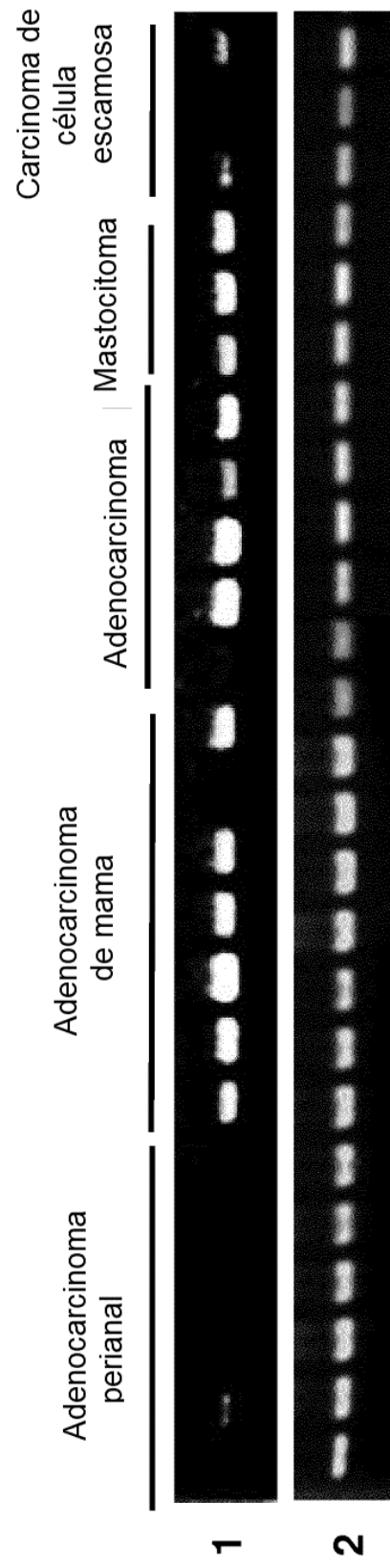


Fig. 2

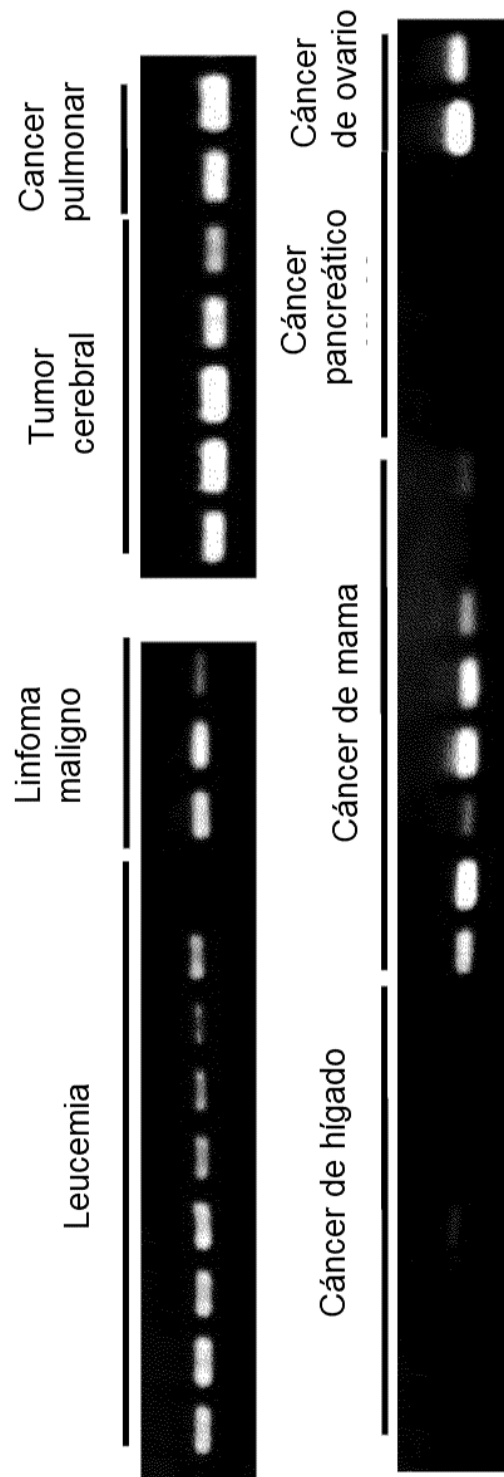


Fig. 3

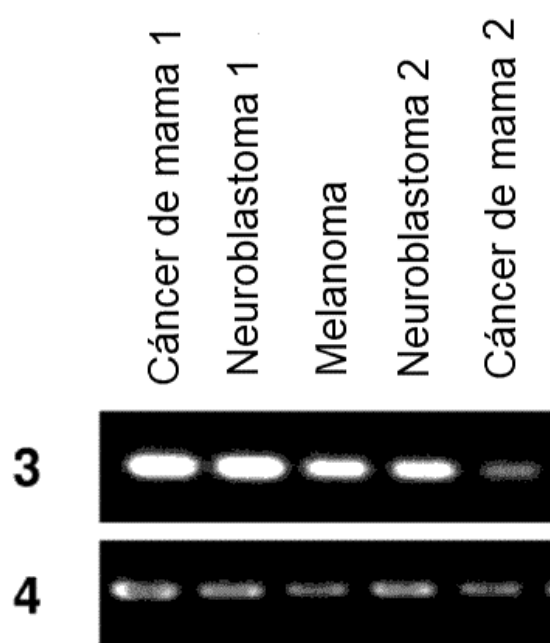


Fig. 4

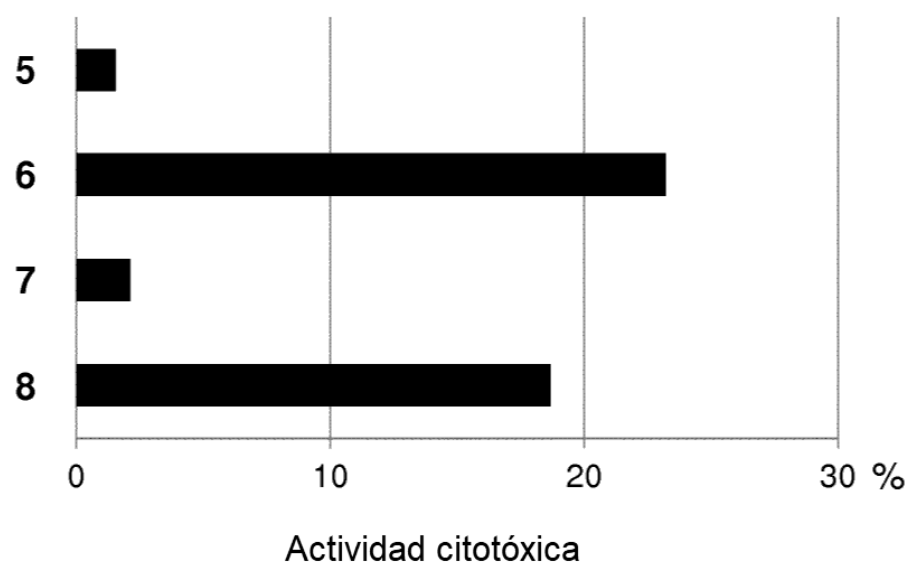


Fig. 5

