

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **1998.10.27**

(30) Prioridade(s): **1997.10.27 DE 19747418**

(43) Data de publicação do pedido: **2000.08.16**

(45) Data e BPI da concessão: **2008.04.09**
136/2008

(73) Titular(es):

**DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM
STIFTUNG DES ÖFFENTLICHEN RECHTS
IM NEUENHEIMER FELD 280 69120
HEIDELBERG**

DE

(72) Inventor(es):

**CHRISTOF NIEHRS
ANDREI GLINKA**

**DE
DE**

(74) Mandatário:

**PEDRO DA SILVA ALVES MOREIRA
RUA DO PATROCÍNIO, N.º 94 1399-019 LISBOA**

PT

(54) Epígrafe: **PROTEÍNA INIBIDORA DA VIA DE SINAL WNT**

(57) Resumo:

DESCRIÇÃO

"PROTEÍNA INIBIDORA DA VIA DE SINAL WNT"

A presente invenção refere-se a uma proteína inibidora da via de sinal wnt, a um ADN codificador para uma tal proteína e a um processo para a preparação de uma tal proteína. A invenção refere-se ainda à utilização do ADN e da proteína, bem como anticorpos dirigidos contra a proteína.

A via de sinal wnt desempenha um papel importante na regulação da proliferação e diferenciação celular durante o desenvolvimento embrionário da *Drosophila*, *Xenopus laevis* e do murganho. A via de sinal wnt compreende a combinação de glicoproteínas secretoras, que são codificadas por genes wnt, p. ex. Xwnt-8, e receptores wnt aos quais se ligam as glicoproteínas. A via de sinal wnt no ser humano está ainda implicada causalmente no carcinoma do cólon e da mama, bem como no melanoma (cf. Peifer, M., Science 275, (1997), 1752-1753). Os inibidores da via de sinal wnt poderiam representar, por conseguinte, uma possibilidade para actuar terapêuticamente em doenças tumorais.

Os pedidos de patente de prioridade US 08/843704 e 08/842898, que coincidem extensamente com a publicação PCT WO 9846755 descrevem com efeito determinadas proteínas CRSP (dkk3 = hCRSP-1 = T59), todavia sem qualquer função.

A presente invenção tem assim por base o objectivo de disponibilizar um meio com o qual a via de sinal wnt pode ser inibida.

Isto é alcançado, de acordo com a invenção, através dos objectos das reivindicações.

É assim objecto da presente invenção uma proteína inibidora da via de sinal wnt, em que a proteína é codificada pelo ADN da Fig. 2.1, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6 ou 2.7 ou por um ADN aparentado com este ADN por via do código genético degenerado.

A presente invenção assenta sobre o reconhecimento pelo requerente da existência de uma proteína em animais, em particular mamíferos, muito em particular no ser humano, que inibe a via de sinal wnt. O requerente descobriu que a expressão do gene wnt, Xwnt-8 em *Xenopus laevis* conduz à formação de gémeos siameses. Esta malformação é impedida quando a proteína mencionada é expressa simultaneamente. Esta proteína é uma proteína secretora de cerca de 40 kD. As variantes da proteína estão indicadas na Fig. 2 na forma dos seus ADN. Para além disso, o requerente reconheceu que as variantes da proteína são expressas em diferentes tecidos (cf. tabela 1 e Fig. 3).

Na presente invenção a proteína mencionada é designada por "inibidor de wnt" (wnt-I).

Um outro objecto da presente invenção é um ADN codificador para (wnt-I). Este pode ser, p. ex., um ADN genómico ou um ADNc. Este é um ADN que compreende o seguinte:

(a) o ADN da Fig. 2.1, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, ou 2.7

(b) um ADN aparentado com o ADN de (a) por via do código genético degenerado.

O ADN da Fig. 2 compreende sete ADN provenientes de *Xenopus laevis*, murganho, ser humano ou galinha e que codificam para (wnt-I). Seis destes ADN foram depositados na DSMZ (Colecção Alemã de Microrganismos e Culturas Celulares) a 19 de Setembro de 1997 como em seguida:

Fig. 2.1 (ADN de ser humano) como phdkk-3 sob DSM 11762

Fig. 2.2 (ADN de galinha) tem a designação de pcdkk-3

Fig. 2.3 (ADN de murganho) como pmdkk-2 sob DSM 11759

Fig. 2.4 (ADN de ser humano) como phdkk-2 sob DSM 11761

Fig. 2.5 (ADN de murganho) como pmdkk-1 sob DMS 11758

Fig. 2.6 (ADN de ser humano) como phdkk-1 sob DSM 11760

Fig. 2.7 (ADN de *Xenopus laevis*) como pRNdkk-1 sob DSM 11757

Descreve-se em seguida um ADN de acordo com a invenção na forma de um ADNc. Este representa a título de exemplo qualquer ADN abrangido pela presente invenção.

Para a preparação de um ADNc de acordo com a invenção é conveniente partir de uma biblioteca de ADNc de *Xenopus laevis* (cf. Glinka, A. et al., Mechanisms Develop. 60, (1996), 221-231).

A partir dos clones de ADNc individuais sintetizam-se ARNm correspondentes por meio de ARN polimerase. Estes são microinjectados em conjunto com ARNm de genes de wnt, p. ex. Xwnt-8, em *Xenopus laevis*. Rastreia-se quanto à formação de gémeos siameses em *Xenopus laevis*. Estes são obtidos quando se procede à microinjecção do ARNm do gene de wnt isoladamente ou em conjunto com um tal ARNm de *Xenopus laevis* tal que não codifique para (wnt-I). A não ocorrência de gémeos siameses é assim avaliada como prova para a existência de um ARNm que codifica para (wnt-I). Um tal ARNm permite reconhecer directamente o ADNc correspondente.

Um ADNc de acordo com a invenção pode estar presente num vector ou vector de expressão. Exemplos de tais vectores são conhecidos pelo especialista. No caso de um vector de expressão para *E. coli* estes são, p. ex., pGEMEX, derivados de pUC, pGEX-2T, pET3b e pQE-8. Para a expressão em levedura mencionam-se, p. ex., pY100 e Ycpad1, enquanto que para a expressão em células animais se indicam, p. ex., pKCR, pEFBOS, cDM8 e pCEV4. Para a expressão em células de insectos adequa-se, em particular, o vector de expressão de baculovírus pAcSGHisNT-A.

O especialista conhece células adequadas para exprimir um ADNc, de acordo com a invenção, presente num vector de expressão. Exemplos de tais células compreendem as estirpes de *E. coli* HB101, DH1, x1776, JM101, JM 109, BL21 e SG 13009, a estirpe de levedura *Saccharomyces cerevisiae* e as células animais L, 3T3, FM3A, CHO, COS, Vero e HeLa, bem como as células de insecto sf9.

O especialista sabe o modo com que um ADNc de acordo com a invenção tem de ser inserido num vector de expressão. Sabe também que este ADNc pode ser inserido em ligação com um ADN codificador para uma outra proteína ou péptido, de modo que o ADNc, de acordo com a invenção, possa ser expresso na forma de uma proteína de fusão.

Além disso, o especialista conhece as condições para cultivar células transformadas ou transfectadas. Conhece também processos para isolar e purificar a proteína expressa pelo ADNc de acordo com a invenção.

Uma tal proteína, que também pode ser uma proteína de fusão, é assim igualmente objecto da presente invenção.

Um objecto adicional da presente invenção é um anticorpo dirigido contra uma proteína ou proteína de fusão mencionada. Um tal anticorpo pode ser preparado por processos habituais. Este pode ser policlonal ou monoclonal. Para a sua preparação é conveniente imunizar animais, em particular coelhos ou galinhas para um anticorpo policlonal e murganhos para um monoclonal, com uma proteína (de fusão) mencionada ou fragmentos desta. Os reforços adicionais aos animais podem ocorrer com a mesma proteína (de fusão) ou fragmentos desta. O anticorpo policlonal pode ser depois obtido a partir do soro ou gema de ovo dos animais. Para o anticorpo monoclonal procede-se à fusão de células esplénicas dos animais com células de mieloma.

A presente invenção possibilita um melhor estudo e compreensão da via de sinal wnt. Com um anticorpo de acordo com a invenção pode-se detectar (wnt-1) em organismos. Com um (wnt-I) de acordo com a invenção pode-se ainda detectar um autoanticorpo dirigido contra esta proteína. Ambas as detecções podem ocorrer por processos habituais, em particular um Western Blot, um ELISA, uma imunoprecipitação ou por imunofluorescência. Além disso, com um ácido nucleico de acordo com a invenção, em particular um ADN e iniciadores derivados deste, pode-se detectar a expressão do gene codificador para (wnt-1). Esta detecção pode ocorrer de modo habitual, em particular num Southern Blot.

Assim, com a presente invenção podem-se também estudar melhor, isto é, diagnosticar, e compreender processos, que estão associados com a via de sinal wnt. São estes, p. ex., a proliferação e diferenciação celular, bem como doenças de diferentes tipos. Exemplos dos últimos são doenças do olho ou dos ossos, bem como doenças tumorais, em particular carcinoma do cólon e da mama, bem como o melanoma.

A presente invenção adequa-se, além disso, para tomar medidas para e contra a presença de (wnt-I) em organismos. Com um anticorpo de acordo com a invenção pode-se inibir (wnt-I) em organismos. Por outro lado, com um (wnt-I) de acordo com a invenção, em particular após acoplamento a uma proteína que não seja considerada como estranha pelo corpo, p. ex., transferrina ou BSA, pode-se aumentar a quantidade de (wnt-I) em organismos. Também se pode alcançar uma situação correspondente com um ácido nucleico de acordo com a invenção, em particular um ADN que esteja sob controlo de um

determinado promotor indutível em determinados tecidos e conduza, após a sua expressão, à disponibilização de (wnt-I) nestes tecidos. Para além disso, também se pode usar um ácido nucleico de acordo com a invenção, em particular um ADN, para a inibição de (wnt-I). Para o efeito, o ácido nucleico é utilizado, p. ex., como base para a construção de oligonucleótidos antissentido para a inibição da expressão do gene codificador para (wnt-I).

A presente invenção disponibiliza assim também a possibilidade de intervir na via de sinal wnt de forma activadora ou inibidora. A primeira poderia ocorrer, p. ex., por administração de um anticorpo contra (wnt-I) de acordo com a invenção. Para a última é apropriado administrar (wnt-I) de acordo com a invenção. A activação da via de sinal wnt poderia ser conveniente quando se tem em mente o cultivo de organismos para a doação de órgãos. A inibição da via de sinal wnt é apropriada todavia para intervir terapêuticamente no caso de doenças dos ossos e do olho, bem como em doenças tumorais, em particular no carcinoma do cólon e da mama, bem como no melanoma.

A presente invenção distingue-se em particular pelo facto de esta poder ser empregue de modo específico para cada tecido. Isto é válido tanto para o diagnóstico, como também para a terapia. Por exemplo, um ADN de acordo com a invenção, DKK-1, uma proteína correspondente ou um anticorpo desta adequa-se em particular para tecidos, tal como cérebro, coração, vasos, ossos, tecido cartilaginoso, tecido conjuntivo e olhos. Um ADN de acordo com a invenção, DKK-2, uma proteína correspondente ou um anticorpo desta adequa-se ainda em particular para tecidos, tal como cérebro, coração, vasos, ossos, tecido conjuntivo, rins, testículos, baço,

ovários, músculo, útero, tecido cartilaginoso, olho e glândula mamária. Um ADN de acordo com a invenção, DKK-3, uma proteína correspondente ou um anticorpo desta, adequa-se, além disso, em particular para tecidos, tal como cérebro, coração, vasos, ossos, tecido cartilaginoso, olho, tecido conjuntivo, pulmão, ovários, músculo e glândula mamária.

Breve descrição dos desenhos:

Fig. 1 mostra as sequências de consenso de aminoácidos I e II de um (wnt-I) de acordo com a invenção. A indicação “-” significa um aminoácido, em que o número dos aminoácidos é variável quando estes apresentam um asterisco.

Fig. 2 mostra a sequência de bases de sete ADN codificadores para (wnt-I) com indicação das bases que contribuem para as sequências de consenso de aminoácidos de (wnt-1).

Fig. 3 mostra a expressão de três ADN codificadores para (wnt-1), DKK-1, DKK-2 e DKK-3, em tecidos.

A presente invenção é explicada através dos exemplos que se seguem.

Exemplo 1: Preparação e purificação de um (wnt-I) de acordo com a invenção

Para a preparação de um (wtn-I) de acordo com a invenção proveu-se o ADN da Fig. 2.6, phdkk-1 com ligantes Bam HI, clivou-se subsequentemente com Bam HI e inseriu-se no vector de expressão pQE-8 (Qiagen) clivado com Bam HI. Obteve-se o plasmídeo de expressão pQ/wnt-I. Um tal codifica para uma proteína de fusão de 6 resíduos de histidina (parceiro N-terminal) e um (wnt-I) de acordo com a invenção (parceiro C-terminal). Utilizou-se pQ/wnt-I para a transformação de *E. coli* SG 13009 (cf. Gottesman, S. et al., J. Bacteriol. 148, (1981), 265-273). Cultivaram-se as bactérias num meio LB com 100 µg/mL de ampicilina e 25 µg/mL de canamicina e induziu-se 4 h com 60 µM de isopropil-β-D-tiogalactopiranosídeo (IPTG). Através da adição de cloridrato de guanidina 6 M alcançou-se uma lise das bactérias, subsequentemente realizou-se uma cromatografia (resina Ni-NTA) com o lisado, na presença de ureia 8 M, de acordo com as indicações do produtor (Diagen) do material de cromatografia. Procedeu-se à eluição da proteína de fusão ligada num tampão com pH 3,5. Após a sua neutralização, submeteu-se a proteína de fusão a uma electroforese em gel de SDS-poliacrilamida a 18% e procedeu-se à coloração com azul Coomassie (cf. Thomas, J.O. e Kornberg, R.D., J.Mol.Biol. 149 (1975), 709-733).

Verificou-se, que se pode preparar uma proteína (de fusão) de acordo com a invenção numa forma altamente pura.

Exemplo 2: Preparação e detecção de um anticorpo de acordo com a invenção

Submeteu-se uma proteína de fusão de acordo com a invenção do exemplo 1 a uma electroforese em gel de SDS-poliacrilamida a 18%. Após coloração do gel com acetato de sódio 4 M recortou-se uma banda de cerca de 40 kD a partir do gel e incubou-se numa solução salina tamponada em fosfato. Sedimentaram-se pedaços de gel antes de se determinar a concentração em proteína do sobrenadante através de uma electroforese em gel de SDS-poliacrilamida, à qual sucedeu uma coloração com azul Coomassie. Com a proteína de fusão purificada em gel imunizaram-se os animais como em seguida:

Relatório de imunização para anticorpos policlonais no coelho

Por cada imunização empregaram-se 35 µg de proteína de fusão purificada em gel em 0,7 mL de PBS e 0,7 mL de adjuvante de Freund completo e incompleto, respectivamente.

dia 0: 1ª imunização (adjuvante de Freund completo)
dia 14: 2ª imunização (adjuvante de Freund incompleto; icFA)
dia 28: 3ª imunização (icFA)
dia 56: 4ª imunização (icFA)
dia 80: sangria

Testou-se o soro do coelho no imunoblot. Para o efeito submeteu-se uma proteína de fusão de acordo com a invenção do exemplo 1 a uma electroforese em gel de SDS-poliacrilamida e

transferiu-se para um filtro de nitrocelulose (cf. Khyse-Andersen, J., J. Biochem. Biophys. Meth. 10, (1984), 203-209). A análise por Western Blot realizou-se tal como descrito em Bock, C.-T. et al., Virus Genes 8, (1994), 215-229. Para o efeito, incubou-se o filtro de nitrocelulose durante uma hora a 37 °C com um primeiro anticorpo. Este anticorpo era o soro do coelho (1:10000 em PBS). Após vários passos de lavagem com PBS incubou-se o filtro de nitrocelulose com um segundo anticorpo. Este anticorpo era um anticorpo anti-coelho-IgG monoclonal de cabra (Dianova) (1:5000) acoplado com fosfatase alcalina em PBS. Após incubação de 30 minutos a 37 °C, seguiram-se vários passos de lavagem com PBS e subsequentemente a reacção de detecção com fosfatase alcalina com a solução de revelação (36 µM de 5' bromo-4-cloro-3-indolil-fosfato, 400 µM de nitroazul de tetrazólio, Tris-HCl 100 mM, pH 9,5, NaCl 100 mM, MgCl₂ 5 mM) à temperatura ambiente, até as bandas se terem tornado visíveis.

Verificou-se que se podem preparar anticorpos policlonais de acordo com a invenção.

Relatório de imunização para anticorpos policlonais na galinha

Por cada imunização empregaram-se 40 µg de proteína de fusão purificada em gel em 0,8 mL de PBS e 0,8 mL de adjuvante de Freund completo e incompleto, respectivamente.

dia 0: 1ª imunização (adjuvante de Freund completo)

dia 28: 2ª imunização (adjuvante de Freund incompleto; icFA)

dia 50: 3ª imunização (icFA)

Extraíram-se anticorpos a partir de gema de ovo e testou-se no Western Blot. Detectaram-se anticorpos policlonais de acordo com a invenção.

Relatório de imunização para anticorpos monoclonais do murganho

Por cada imunização empregaram-se 12 µg de proteína de fusão purificada em gel em 0,25 mL de PBS e 0,25 mL de adjuvante de Freund completo e incompleto, respectivamente; na 4ª imunização a proteína de fusão estava dissolvida em 0,5 mL (sem adjuvante).

dia 0: 1ª imunização (adjuvante de Freund completo)

dia 28: 2ª imunização (adjuvante de Freund incompleto; icFA)

dia 56: 3ª imunização (icFA)

dia 84: 4ª imunização (PBS)

dia 87: fusão

Testaram-se sobrenadantes de hibridomas no Western Blot. Detectaram-se anticorpos monoclonais de acordo com a invenção.

Tabela 1: expressão de ADN de acordo com a invenção em embriões de murganho

	Dkk-1	Dkk-2	Dkk-3
Neuroepitélio			
E9.5 diencéfalo	+++ ventral	+++ medial	+ medial
E 12.5	telencéfalo	hipotálamo	telencéfalo M/
	M/manto		zona ventricular
Olho	epitélio pigmentado	coróide	retina
Medula espinal	-/+	-	zona ventricular placa dorsal
Mesoderme:			
Coração E10	bolbo arterial endocárdio septo transversal	endotélio	miocárdio
Coração E12	coxim endocárdico	endotélio	coxim endocárdico
Vasos sanguíneos	+++ aorta	+++ artéria pulmonar	+++ aorta + artéria pulmonar
Mesênquima do membro	E9 S	I	D
Osso E12	pericôndrio	S/mesênquima	pericôndrio I/ mesênquima
Osso E15	centros de ossificação	-	-
Urogenital	ducto néfrico corpo em forma de S corpo em forma de vírgula	mesênquima metanéfrico	-

(continuação)			
Palato	+++	++	+
Folículo capilar	+++ mesênquima + epitélio	+ -	+ -
Mesênquima do dente	-	-	+++
Mesênquima do tronco	+/-	+++	++

Legenda: Mesoderme: (D) decp, (I) intermédio (L) lateral, (M) mediano, (S), superficial.

Taxa de expressão: (-) ausência, (+/-) expressão muito fraca, (+) média, (++) forte, (+++) muito forte.

LISTA DE SEQUÊNCIAS

(1) DADOS GERAIS:

(i) REQUERENTE:

- (A) NOME: Deutsches Krebsforschungszentrum
- (B) MORADA: Im Neuenheimer Feld 280
- (C) LOCALIDADE: Heidelberg
- (E) PAÍS: Alemanha
- (F) CÓDIGO POSTAL: 69120

(ii) DESIGNAÇÃO DA INVENÇÃO: Proteína inibidora da via de sinal wnt

(iii) QUANTIDADE DE SEQUÊNCIAS: 7

(iv) VERSÃO LEGÍVEL POR COMPUTADOR:

- (A) SUPORTE DE DADOS: disquete
- (B) COMPUTADOR: IBM PC compatível
- (C) SISTEMA OPERATIVO: PC-DOS/MS-DOS
- (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (EPA)

(v) DADOS DO PRÉ-PEDIDO:

NÚMERO DO PEDIDO: DE 19747418.7

(2) DADOS PARA A SEQ ID N°: 1:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

- (A) COMPRIMENTO: 1297 pares de bases
- (B) TIPO: nucleótido
- (C) FORMA DA CADEIA: cadeia simples
- (D) TOPOLOGIA: linear

(ii) TIPO DA MOLÉCULA: ADN genómico

(iii) HIPOTÉTICO: NÃO

(iv) ANTISSENTIDO: NÃO

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: SEQ ID N°: 1:

GACAGTCGGA	GCCGGCGCTG	CAGCATCAAA	GGGACTTATC	TTGGAGGACT	TGTGAATTCT	60
CATCCTGCCA	TTGTGGTTAC	TGAGTCTGGT	TGGACAGAGG	AATGGGCAGC	AACATGTTCC	120
CGGTGCCTCT	TATTGTCTTT	TGGGGTTTTA	TCTTGATGG	GGCACTTGGC	TTTGTCTATGA	180
TGACCAACTC	CAACTCCATC	AAGAATGTGC	CGGCGGCACC	AGCAGGTCAG	CCCATTGGCT	240
ACTACCTGT	GAGCGTCAGT	CCGGACTCCC	TATATGATAT	TGCCAACAAG	TACCAACCTC	300
TGGATGCCTA	CCCGCTCTAC	AGTTGCACGG	AAGATGATGA	CTGTGCCCTT	GATGAATTCT	360
GTCACASTTC	CAGAAACGGC	AACTCTCTGG	TTTGCTTGGC	ATGCCGGAAA	CGCAGAAAGC	420
GTTGCCTGAG	GGACGCCATG	TGCTGCACAG	GCAACTACTG	TAGCAACGGA	ATTTGTGTCC	480
CTGTGGAGCA	AGATCAAGAG	CGCTTCCAAC	ACCAGGGATA	CCTGGAAGAA	ACCATTCTGG	540
AAAACATATA	TAATGCTGAT	CATGCAACAA	TGGATACTCA	TTCCAAATTA	ACCACGTCCC	600
CATCTGGAAT	GCAGCCCTTT	AAAGGCCGTG	ATGGTGATGT	TTGCCTCCGA	TCAACTGACT	660
GTGCGCCAGG	TCTATGCTGT	GCCCGTCATT	TCTGGTCAAA	GATCTGCAAG	CCGGTCCTTG	720
ATGAAGGCCA	AGTGTGCACC	AAGCACAGGA	GGAAAGGCTC	TCACGGGCTA	GAGATTTTCC	780
AGCGTTGTCA	CTGCGGTGCC	GGACTCTCGT	GCCGGTTACA	GAAAGGAGAA	TTTACAACCTG	840
TCCCTAAAAC	ATCGAGACTT	CACACTTGCC	AAAGACACTA	AGCGAGGCCT	ACAGAGCCTG	900
AAGGACCTTC	TCTAAATTAA	GCTAATTAAG	ACTTTGGTAC	CTGCATGTTA	TTTTCTCAGT	960
TTACATGAAG	TGCTCTGGTC	TTCCCTGAAC	CCGGAAGCTG	CGCAACTTGT	TTCTTTTTTT	1020
GAGGAACCTC	CTAATTAATG	CTAATTACAG	TAAATTACTG	TGTTGTAAAT	ACTACGCAAG	1080
GAGACCTGTA	AAAACGTGTA	ATACCCGTGT	ATAGAAAGTG	TACATGATCT	TCTCTATTGT	1140
AACCTGCCAC	CTTGATACATT	CCGACGCGCT	CTTCCCTTTT	TATATATATA	TATATATAAA	1200
TATATATTAT	ATTATGTAGA	GTTTACGTCT	AGTATGTCTG	TATTTTAAAT	TGAAATAAAA	1260
CATTTCTAAA	CTTAAAAACA	AAAAAAAAAA	AAAAAAA			1297

(2) DADOS PARA A SEQ ID N°: 2:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

- (A) COMPRIMENTO: 881 pares de bases
- (B) TIPO: nucleótido
- (C) FORMA DA CADEIA: cadeia simples

(D) TOPOLOGIA: linear

(ii) TIPO DA MOLÉCULA: ADN genómico

(iii) HIPOTÉTICO: NÃO

(iv) ANTISSENTIDO: NÃO

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: SEQ ID N°: 2:

TGCAGGCATG	AACAAGGACT	GGGTTCTGGCG	GCAGTGAGAA	GGGCAAAAGC	CTGGGGCAGG	60
CCTACCCTTG	CAGCAGTGAT	AAGGAATGTG	AAGTTGGAAG	ATACTGCCAC	AGTCCCCACC	120
AAGGTTTCATC	AGCCTGCATG	CTCTGTAGGA	GGAAAAAGAA	ACGATGCCAC	AGAGATGGGA	180
TGTGTTGCCC	TGGTACCCGC	TGCAATAATG	GAATCTGCAT	CCCAGTCACT	GAGAGCATCC	240
TCACCCACACA	TATCCCAGCT	CTGGATGGCA	CCCGGCATAG	AGATCGCAAC	CATGGTCACT	300
ATTCCAACCA	TGACCTGGGA	TGGCAGAATC	TAGGAAGGCC	ACACTCCAAG	ATGCCTCATA	360
TAAAAGGACA	TGAAGGAGAC	CCATGCCTAC	GGTCATCAGA	CTGCATTGAT	GGGTTTGTGT	420
GTGCTCGCCA	CTTCTGGACC	AAAATCTGCA	AACCAAGTCT	CCATCAGGGG	GAAGTCTGTA	480
CCAAACAACG	CAAGAAGGGT	TCGCACGGGC	TGGAGATTTT	CCAGAGGTGT	GACTGTGCAA	540
AGGGCCTGTC	CTGCAAAGTG	TGGAAAGATG	CCACCTACTC	TTCCAAAGCC	AGACTCCATG	600
TATGCCAGAA	GATCTGATAA	ACACTGGAAG	AGTCATCACT	AGCAGACTGT	GAATTTGTGT	660
ATTTAATGCA	TTATGGCATG	ATGGAAACCT	GGATTGGAAT	GCGGAAGAAT	GAGGGATGTG	720
GTAAGAATGT	GGAGCAGAAG	AGGGCAGGAC	TGAATCAAGT	AGAGTCGACA	ACAACCAAAG	780
TACTACCACT	GCTTCCGTTA	TGTGCCTCAT	CTATGTAAAT	AATGTACACA	TTTGTGAAAA	840
TGCTATTATT	AAAAGAAAGC	ACACCATGGA	AATTACAAAA	A		881

(2) INDICAÇÕES PARA A SEQ ID N°: 3:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

(A) COMPRIMENTO: 1226 pares de bases

(B) TIPO: nucleótido

(C) FORMA DA CADEIA: cadeia simples

(D) TOPOLOGIA: linear

(ii) TIPO DA MOLÉCULA: ADN genómico

(iii) HIPOTÉTICO: NÃO

(iv) ANTISSENTIDO: NÃO

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: SEQ ID N°: 3:

GACCCACGCG TCCGTGCCTG TTTGCGTCCT TCGGAGATGA TGGTTGTGTG TGCACCGGCA	60
GCTGTCCGCT TCTTGGCCGT GTTTACAATG ATGGCTCTCT GCAGCCTCCC TCTGCTAGGA	120
GCCAGTGCCA CCTTGAAGTC AGTTCTCATC AATTCCAACG CGATCAAGAA CCTGCCCCCA	180
CCGCTGGGTG GTGCTGGGGG GCAGCCGGGC TCTGCTGTCA GTGTGGCGCC GGGAGTTCTC	240
TATGAGGGCG GGAACAAGTA CCAGACTCTT GACAACCTACC AGCCCTACCC TTGCGCTGAA	300
GATGAGGAGT GCGGCTCTGA CGAGTACTGC TCCAGCCCCA GCCGCGGGGC AGCCGGCGTC	360
GGAGGTGTAC AGATCTGTCT GGCTTGCCGA AAGCGCAGGA AGCGCTGCAT GACGCACGCT	420
ATGTGCTGCC CCGGGAAGTA CTGCAAAAAT GGAATATGCA TGCCCTCTGA CCACAGCCAT	480
TTTCCTCGAG GGGAAATTGA GGAAAGCATC ATTGAAAACC TTGGTAATGA CCACAACGCC	540
GCCGCGGGGG ATGGATATCC CAGAAGAACC AACTGACTT CAAAAATATA TCACACCAAA	600
GGACAAGAAG GCTCCGTCTG CCTCCGATCA TCAGACTGTG CCGCAGGGCT GTGTTGTGCA	660
AGACACTTCT GGTCCAAGAT CTGTAAACCT GTCCTTAAAG AAGGTCAGGT GTGCACCAAG	720
CACAAACGGA AAGGCTCCCA CGGGCTGGAG ATATTCCAGC GCTGTTACTG CGGGGAAGGC	780
CTGGCTTGCA GGATACAGAA AGATCACCAT CAAGCCAGCA ATTCTTCTAG GCTCCACACC	840
TGCCAGAGAC ACTAAACCGA CAGTCTAAAT ATGATGGACT CTTTTTATCT AATATATGCT	900
ACGAAAATCC TTTATGATTT GTCAGCTCAA TCCCAAGGAT GTAGGAATCT TCAGTGTGTA	960
ATTAAGCATT CCGACAATAC TTTCCAAAAG CTCTGGAGTG TAAGGACTTT GTTTCTTGAT	1020
GGAACTCCCC TGTGATTGCA GTAAATTACT GTGTTGTAAA TCCTCAGTGT GGCATTACC	1080
TGTAAATGCA GCAAACTTT TAATTATTTT TCTAGAGGTG TGGTACATTG CCTTGTTTCT	1140
CTTGCATGTA AATTTTTTTT GTACACGGTT GATTGTCTTG ACTCATAAAT ATTCTATATT	1200
GGAGTAGAAA AAAAAAAAAA AAAAAA	1226

(2) INDICAÇÕES PARA A SEQ ID N°: 4:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

(A) COMPRIMENTO: 768 pares de bases

- (B) TIPO: nucleótido
- (C) FORMA DA CADEIA: cadeia simples
- (D) TOPOLOGIA: linear

- (ii) TIPO DA MOLÉCULA: ADN genómico
- (iii) HIPOTÉTICO: NÃO
- (iv) ANTISSENTIDO: NÃO
- (xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: SEQ ID N°: 4:

ATACGACTCA CTATAGGGAA TTTGGCCCTC GAGGCCAAGA ATTCTGGCACG AGGGTTGGGA	60
GGTATTGCCA CAGTCCCCAC CAAGGATCAT CGGCCTGCAT GGTGTGTCGG AGAAAAAGA	120
AGCGCTGCCA CCGAGATGGC ATGTGCTGCC CCAGTACCCG CTGCAATAAT GGCATCTGTA	180
TCCCAGTTAC TGAAAGCATC TTAACCCCTC ACATCCCGGC TCTGGATGGT ACTCGGCACA	240
GAGATCGAAA CCACGGTCAT TACTCAAACC ATGACTTGGG ATGGCAGAAT CTAGGAAGAC	300
CACACACTAA GATGTCACAT ATAAAAGGGC ATGAAGGAGA CCCCTGCCTA CGATCATCAG	360
ACTGCATTGA AGGGTTTTGC TGTGCTCGTC ATTTCTGGAC CAAAATCTGC AAACCAGTGC	420
TCCATCAGGG GGAAGTCTGT ACCAAACAAC GCAAGAAGGG TTCTCATGGG CTGGAAATTT	480
TCCAGCGTTG CGACTGTGCG AAGGGCCTGT CTTGCAAAGT ATGGAAAGAT GCCACCTACT	540
CCTCCAAAGC CAGACTCCAT GTGTGTCAGA AAATTTGATC ACCATTGAGG AACATCATCA	600
ATTGCAGACT GTGAAGTTGT GTATTTAATG CATTATAGCA TGGTGGAAAA TAAGGTTTCAG	660
ATGCAGAAGA ATGGCTAAAA TAAGAAACGT GATAAGAATA TAGATGATCA CAAAAAAAAA	720
AAAAAAAAAG ATGCGGCCGC AAGCTTATTC CCTTTAGTGA GGGTTAAT	768

(2) INDICAÇÕES PARA A SEQ ID N°: 5:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

- (A) COMPRIMENTO: 828 pares de bases
- (B) TIPO: nucleótido
- (C) FORMA DA CADEIA: cadeia simples
- (D) TOPOLOGIA: linear

- (ii) TIPO DA MOLÉCULA: ADN genómico
- (iii) HIPOTÉTICO: NÃO
- (iv) ANTISSENTIDO: NÃO
- (xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: SEQ ID N°: 5:

```

TGGCCCCGCA CGCCAAAAAT TCGGCACGAG GGTCTGGCAC TCAGAGGATG CTCTGACCTT      60
GAAAGGGTCC TATCTGGAGA CGAGGGAGTA CAACGTGCTG AATGTGTGCG GTTCAGGGAG      120
CATTTGGTAA CCCTGCATTT GGGAGCAGTG GGCAC TAACC GGT TTTGGAG AGGTGGACAC      180
ATAAGGACTG TGATCAGCGC CCGGGTCCAA GAGGGCGGGT ACCTGGACCT CTGGGTGCCT      240
CACCCTCTCC CCGAACCCTT CCCACAGCCG TACCCGTGCG CAGAGGACGA GGAGTGCGGC      300
ACTGATGAGT ACTGCGCTAG TCCCACCCCG CGGAGGGGAC CGCCGGCCGT GCAAATCTGT      360
CTCGCCTGCA GGAAGCGCCG AAAACGCTGC ATGCGTCACG CTATGTGCTG CCCC GGGAAT      420
TACTGCAAAA ATGGAATATG TGTGTCTTCT GATCAAAATC ATTTCCGAGG AGAAATTGAG      480
GAAACCATCA CTGAAAGCTT TGGTAATGAT CATAGCACCT TGGATGGGTA TTCCAGAAGA      540
ACCACCTTGT CTTCAAAAAT GTATCACACC AAAGGACAAG AAGGTTCTGT TTGTCTCCGG      600
TCATCAGACT GTGCCTCAGG ATTGTGTTGT GCTAGACACT TCTGGTCCAA GATCTGTAAA      660
CCTGTCCTGA AAGAAGGTCA AGTGTGTACC AAGCATAGGA GAAAAGGCTC TCATGGACTA      720
GAAATATTCC AGCGTTGTTA CTGTGGAGAA GGTCTGTCTT GCCGGATACA GAAAGATCAC      780
CATCAAGCCA GTAATTCTTC TAGGCTTCAC ACTTGTCAGA GACACTAA      828

```

(2) INDICAÇÕES PARA A SEQ ID N°: 6:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

- (A) COMPRIMENTO: 432 pares de bases
- (B) TIPO: nucleótido
- (C) FORMA DA CADEIA: cadeia simples
- (D) TOPOLOGIA: linear

(ii) TIPO DA MOLÉCULA: ADN genómico

(iii) HIPOTÉTICO: NÃO

(iv) ANTISSENTIDO: NÃO

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: SEQ ID N°: 6:

GCGGTGGCGG CCGCTCTAGA ATAGTGGATC CCCCAGGCTG CAGGAATTCG GCACGAGCGG	60
CTGCGGGCGC AGAGCGGAGA TGCAGCGGCT TGGGCCACCC TGCTGTGCCT GCTGCTGGCG	120
GCGGCGGTCC CCACGGCCCC CGCGCCCGCT CCGACGGCGA CCTCGGCTCC AGTCAAGCCC	180
GGCCCGGCTC TCAGCTACCC GCAGGAGGAG GCCACCCTCA ATGAGATGTT CCGCGGGTGA	240
GGAAGTATG GAGGACACGC AGCACAAATT GCGCAGCGCG GTGGAAGAGA TGGAGGCAGA	300
AGAAGCTGCT GCTAAAGCAA TCATCAGAAG TGAACCTGGC AACTTACCT CCCAGCTATC	360
ACAATGAGAC CAACACAGAC ACGAAGGTG GAAATAATAA CCATCCATGT GCACCGAGAA	420
ATTCACAAGT TT	432

(2) INDICAÇÕES PARA A SEQ ID N°: 7:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

(A) COMPRIMENTO: 1383 pares de bases

(B) TIPO: nucleótido

(C) FORMA DA CADEIA: cadeia simples

(D) TOPOLOGIA: linear

(ii) TIPO DA MOLÉCULA: ADN genómico

(iii) HIPOTÉTICO: NÃO

(iv) ANTISSENTIDO: NÃO

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: SEQ ID N°: 7:

CGGCGAGCGG	CAGCGGCGGC	TGAGGAGCSC	CGGGGATGCG	GCGGGGAGAG	GGACCGGCGC	60
CGCGGCGGCG	ATGGCTGCTG	CTGTTGGCCG	TGCTGGCGGC	TCTGTGCTGC	GCCGCGGCCG	120
GGAGCGGCGG	GCGGCGGCGA	GCGGCCAGCC	TGGGCGAGAT	GCTGCGGGAG	GTGGAGGCGC	180
TGATGGAGGA	CACGCAGCAC	AAGCTGCGCA	ACGCCGTGCA	GGAGATGGAA	GCTGAAGAAG	240
AAGGGGCAAA	AAAAGTGTCA	GAAGTAACT	TTGAAAACCT	ACCTCCCACC	TACCATAATG	300
AGTCCAACAC	AGAAACCAGA	ATTGGTAATA	AAACTGTTCA	GACTCATCAA	GAAATTGATA	360
AGGTTACAGA	TAACAGAACT	GGATCAACAA	TTTTTTCCGA	GACAATTATT	ACATCTATAA	420
AGGGTGGAGA	AAACAAAAGA	AATCATGAGT	GTATCATTGA	TGAAGACTGT	GAAACAGGAA	480
AGTATTGCCA	GTTCTCCACC	TTTGAATACA	AGTGTGAGCC	CTGTAAAACC	CAGCATAACAC	540
ACTGCTCAG	AGATGTTGAA	TGCTGCGGAG	ACCAGCTTTG	TGTTTGGGGT	GAGTGCAGGA	600
AAGCCACTTC	AAGAGGAGAA	AATGGTACCA	TTTGTGAGAA	CCAACATGAC	TGCAACCCAG	660
GAACGTGCTG	TGCTTTTCAG	AAAGAACTGC	TGTTTCCTGT	GTGCACTCCG	TTACCCGAAG	720
AAGGTGAACC	TTGCCATGAT	CCTTCAAACA	GACTTCTCAA	CCTGATCACC	TGGGAACTGG	780
AACCTGATGG	AGTACTAGAG	CGCTGCCCAT	GTGCAAGTGG	CTTGATCTGC	CAACCTCAGA	840
GCAGCCACAG	TACTACATCT	GTGTGTGAAC	TGTCCTCCAA	TGAAACCAGG	AAAAACGAAA	900
AAGAAGATCC	CTTGAACATG	GATGAGATGC	CATTTATCAG	TTTAATACCC	AGAGATATTC	960
TTTCTGATTA	CGAAGAAAGC	AGCGTCATTC	AGGAAGTGCG	TAAAGAATTA	GAAAGCCTGG	1020
AGGACCAAGC	AGGTGTGAAG	TCTGAGCATG	ACCCGGCTCA	TGACCTATTT	CTGGGAGATG	1080
AAATATGAAG	TTCAAACACC	AGTTTAGTTA	GTCCTAGAAA	TTGTTGTCTA	GTGTCTTGCT	1140
TACATACACC	CTTAACAGAT	ACTGCTGGAT	AGAAGTGCAA	TAAACATCTT	CATTGAGCAT	1200
CCGTTTTCTG	GCACCAAACC	TGCATGTTCA	AATTCATGTT	GAATTCACTC	AATCTTTGGA	1260
CCAAACTTTC	CATCAAAGAC	AAATGAGAAA	GGCATCAGTG	TTTCCTTTGG	ATTAATCCTT	1320
TCCTTTGTAC	AGCAGAAATA	AACGTATCAG	TACTCGTACT	CATTAAAAAA	ACACACGGAG	1380
CAT						1383

Lisboa, 1 de Julho de 2008

REIVINDICAÇÕES

1. Proteína inibidora da via de sinal wnt, em que a proteína é codificada pelo ADN da Fig. 2.1, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6 ou 2.7 ou por um ADN aparentado com este ADN por via do código genético degenerado.
2. ADN codificador para a proteína de acordo com a reivindicação 1, em que o ADN é aquele da Fig. 2.1, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6 ou 2.7 ou um ADN aparentado com este ADN por via do código genético degenerado.
3. Plasmídeo de expressão compreendendo o ADN de acordo com a reivindicação 2.
4. Transformante contendo o plasmídeo de expressão de acordo com a reivindicação 3.
5. Processo para a preparação da proteína de acordo com a reivindicação 1, compreendendo o cultivo do transformante de acordo com a reivindicação 4 sob condições adequadas.
6. Anticorpo monoclonal, dirigido contra a proteína de acordo com a reivindicação 1.

Lisboa, 1 de Julho de 2008

I C-----*-----C-C---C----CC---C-G-C

II G-G-C---DC-G-CCA-----*---C-P---G-C-----*-----RC-C--GL-C

Fig. 1

1	GCGGTGGCGGCC	✓ phdkk-3	2.1
1		✓ pcdkk-3	2.2
1		✓ pmdkk-2	2.3
1		✓ phdkk-2	2.4
1	GACCCACGGCICCGTGCCCTGTTTGGGTCCTTCG	✓ pmdkk-1	2.5
1	TGGCCCCGCACGCCAAAAATTC	✓ phdkk-1	2.6
1	GACAGTCGGAGCCGGCGCTGCAGCATCAAAGGGACTTATCTTGGAGGACTTGTGAATTCT	✓ pRNdkk-1	2.7
13	GCTCTAGAATAGTGGATCCCCCGGGCTGCAGGAATTCGGCACGAGCGGCTGCGGGCGCAG	phdkk-3	
1	CGG	pcdkk-3	
1		pmdkk-2	
1		phdkk-2	
34	GAGATGATGGTGTGTGTGCAcCGGCAGCTGTCCGGTTCITGGCCGTGTITACAAATGAIG	pmdkk-1	
23	GGCACgAGGGTCTgGcaclcagagGATGCTCTGACCTTGAAAAGGGTCCTATCTGGAGACG	phdkk-1	
61	CATCCTGCCATIGTGGITACIGAGTCTGGTTGGACAGAGGAAIGGGCAGCAACATGTTC	pRNdkk-1	
73	AGCGGAGAIGCAGCGGCTTGGGGCCACCCTGCTGTGCTTGGTGGCGGGCGGGTCCC	phdkk-3	
4	CGAGCGGCAGCGGGCGGCTGAGGAGCGCCGGGGATGCGGCGGGGAGAGGGACCGGCGCCGC	pcdkk-3	
1		pmdkk-2	
1		phdkk-2	
94	GCTCTCTGCAGCCTCCCTCTGCTAGGAGCCAGTGCACCTTGAACCTCAGTTC..TCATCA	pmdkk-1	
83	AGGGAGTACAACGTGCTGAATGTGTGCGGTTTCAGGGAGCATTTGGTAACCCT..GCATTT	phdkk-1	
121	CGGTGCCTCTTATTGTCTTTTGGGGTTTTATCTTGGATGGGGCACTTGGCTTTGTCTATGA	pRNdkk-1	

Fig.2

133	CACGGCCCCCGCGCCCGCTCCGACGGCGACCTCGCTCCAGTCAAGCCCCGGCCCCGCTC	phdtk-3
64	GGCGGGCGATGGCTGCTGCTGCTGGCCGCTGCTGGCGCTCTGCTGCTGCGCCGCGGCCGGGA	pcdtk-3
1		pmelk-2
1		phdtk-2
152	ATTCCAACGGGATCAAGAACCCTGCCCCACCGCTGGGTGGTGGTGGGGGGCAGCCGGG..	pmelk-1
141	GGGAGCAGTGGGCACTAACCAGTCTGGAGAGGTGGACACAIAAGGACTGTGAICAGC..	phdtk-1
181	TGACCAACTCCAACCTCCAICAAGAATGTGCCGGCGGCACCAAGCAGGTCAGCCCATTTGCT	pRNdtk-1
192	TCAGCTACCCGCGAGGAGGAGGTCACCCCTCAATGAGATGTCGGCGAGGTGGAGGACTGA	phdtk-3
124	GCGGCGGGCGGGCGGCGAGCGGCAAGCCTGGGCGAGATGCTGGGGAGGAGGAGGCGCTGA	pcdtk-3
1	TGCAAGGCTAIGAACAAGGACTGGGTTCGGCGGCGAGTGAAGAGGGCA	pmelk-2
1	ATACGA	phdtk-2
210	.CTCIGCTGTCAGTGTGGCGCTGGGAGTTCCTAIGAAGGGGGGAACAAGTACCAAGACTC	pmelk-1
199	.GCCCCGGGTCCAAGAGGGCGGGTACCTGGACCTCTGGGTGGCTCAAGCTCTCCCCGAACC	phdtk-1
241	ACTACCCCTGTGAGCGTCAGTCCGGACTCCCTATATGATATGCCAACAAGTACCAACCIC	pRNdtk-1
252	TGGAGGACACGCAGCACAATTTGCGCAGCGCGGGTGGAGAGATGGAGGCAAGAGAGCTG	phdtk-3
184	TGGAGGACACGCAGCACAAGCTGCGCAACGCGCTGCGAGAGATGGAGGCTGAGAGAGAG	pcdtk-3
46	AAAAGCCTGGGGCAGGCTTACCTTGCAGCAGTGAIAAGGAATGTGAAGTGGAGAGTACT	pmelk-2
7	CTCACTAAGGGAAATTTGGCCCTCGAGGCCAAGAAATTCGGCAGAGGGTGGGAGGTATT	phdtk-2
269	TGACCAACTACAGCCCTTACCTTGGCCTGAAGAGAGGAGTGGGCTCTGACGAGTACT	pmelk-1
258	CTTCCCA...CAGCCGTACCGTGCAGAGGAGCAGAGGAGTGGGCGACGATGAGTACT	phdtk-1
301	TGGATGCCIACTCGCTCTACAGTTGCAGGGAAGAGATGACTGTGCTCTGATGAATCT	pRNdtk-1

Fig.2 (cont.)

312	CTGCTAAAGCATCATCAGAAAGTGAACCTGGCAAACTTACCTCCAGCTATCACAATGAGA	phdtkk-3
244	GGGCAAAAAAAGTGTGAGAAAGTAAACITGAAAACTTACCTCCACCCTACCAATAATGAGT	pcdtkk-3
106	GGCACAGTCCC.....CACTCAAGGTTATCAGCCCTGCACTGCTCTGTA	pmakkk-2
67	GGCACAGTCCC.....CACTCAAGGATCTCAGCCCTGCACTGGTGTGTC	phdtkk-2
329	GCTCCAGCCCCAGCCGCGGGGGCAGCCGGCGTGGAGGTGTACAGATCTGCTGGCTTGGC	pmakkk-1
314	GGGCTAGTCCCA.CCCCGCGGAGGGGACCGCGGGCCGTG..CAAAATCTGCTTGGCTTGGCA	phdtkk-1
361	GTACACAGTCCA.....GAAATGGCAACTCTCTGGGTCTGGCTTGGCACTGGC	pRNtkk-1
372	CCAACACAGACAAGGAAGGTTGGAAATAATACCTCCATGTGTACCCTAGAAATTCACAAAGT	phdtkk-3
304	CCAACACAGAAACCAATAATTGGTAATAAAACCTGTTTCAGACTCACTCAAGAAATTTGATAAGG	pcdtkk-3
148	GGAGGAAAAAGAAACGAATGCCACAGAGAAAGGGATGTGTCTGCCCCTGGTACCCGCTGCAATTA	pmakkk-2
109	GGAGAAAAAAGAAAGCGCTGCCACCGAGAAAGCATGTGTCTGCCCCAGTACCCGCTGCAATTA	phdtkk-2
389	GAAGGCGCAGGAAGCGCTGCATGACGCGACGCTATGTGTCTGCCCCGGGAACTACTGCAAAA	pmakkk-1
371	GGAAAGCGCCGAAAAACGCTGCAATGCGTCAACGCTATGTGTCTGCCCCGGGAAATTAATGCAAAA	phdtkk-1
406	GGAAACGCGAGAAAGCGTGGCTGAGGGATGCCAATGTGTCTGCAAGGCAACTACTGTTAGCA	pRNtkk-1
432	T.....	phdtkk-3
364	TTACAGATAACAGAACTGGATCAACAATTTTTCCGAGACAATATTACATCTATAAAGG	pcdtkk-3
208	ATGGAATCTGCACTCCAGTCACGTGAGAGCATCCTCACCCCACATACTCCAG...CTCTGG	pmakkk-2
169	ATGGCAATCTGTATCCAGTTACTGAAAGCATCTTAACCCCTCACATCCCGG...CTCTGG	phdtkk-2
449	ATGGAATATGCACTGCCCTCTGACCACAGCCA.....TTTCTCTCgAgGGGAAATTTG	pmakkk-1
431	ATGGAATATGTGTGTCTTCTGATCAAAATCA.....TTT...CCGAGGAGAAATTTG	phdtkk-1
466	ACGGAATTTGTGTCTTCTGAGGCAAGATCAAGAGCGCTTCCAAACACGAGGGATACCTGG	pRNtkk-1

Fig.2 (cont.)

433		phdtk-3
424	GTGGAGAAAACAAAAGAAATCATGAGTGTATCATTGAATGAAGACIGTGAAACAAGAAAAGT	pcdtk-3
265	ATGGCACCCGGCATAGAGATCGCAACCATGGTCACTATTCCAACCATGACCTGGGATGGC	pmadk-2
226	ATGGTACTCGGCACAGAGATCGAAACCAAGGGTCACTACTCAAACCATGACTGGGATGGC	phdtk-2
500	AGGAAAAGCATCATTGAAGACCTTGGTAATGACCACACGCCGCCGCGGGGATGGATATC	pmadk-1
479	AGGAAAACCATCACTGAAAGCTTGGTAATGATCATAGCACC.....TTGGATGGGTATT	phdtk-1
526	AGGAAAACCATTCCTGGAAATCTATAATAATGCTGATCATGCT...AACAAATGGATACTCATT	pRNadk-1
433		phdtk-3
484	ATTGCCAGTICTCCACCTTTGAATAAAGTGTAGCCCTGTAAAACCCAGCATAACACACT	pcdtk-3
325	AGAAATCTAGGAAGGCCACACTCCAAGATGCTCATATAAAAAGGACATGAAGGAGACCCAT	pmadk-2
206	AGAATCTAGGAAGACCACACACTAAGATGTCATATAAAAAGGCCATGAAGGAGACCCCT	phdtk-2
560	CCAGAGAAACCACTGACTTCAAAAATATATACACCAAGGACAAAGAAAGGATCCGCTCT	pmadk-1
533	CCAGAGAAACCACTTGTGCTTCAAAAATGTAATACACCAAGGACAAAGAAAGGATCCGCTCT	phdtk-1
583	CCAAATTAACCAAGCTCCCATCTGGAAAGCAGCTCTTAAAAGGCTGATGGGATGATCT	pRNadk-1
433		phdtk-3
544	GCTCAGGAGATGTTGAATGCTGCGGAGACCAGCTTGTGTTTGGGGTGAATGAAGGAAAG	pcdtk-3
385	GCTACGGTCAATCAGACIGCAITGAATGGTTTGTGTGTGCTCGCCACTTCTGGATCAAAA	pmadk-2
346	GCTACGATCATCAGACTGCAITGAAGGGTTTGTGTGTGCTCGTCAATCTGGATCAAAA	phdtk-2
620	GCTCCGATCATCAGACTGTGCCGAGGGCTGTGTGTGTGCAAGACCTTCTGGTCCAAAGA	pmadk-1
593	GCTCCGGTCAATCAGACTGTGCTCAGGAATGTGTGTGTGTGCAAGACCTTCTGGTCCAAAGA	phdtk-1
643	GCTCCGATCAACTGACTGTGCGCCAGGCTATGCTGTGCTCGTCAATCTGGTCAAAAGA	pRNadk-1

Fig.2 (cont.)

433		phdtkk-3
604	CCTTCTAAGAGGAGAAAATG.GTACCATTTGTGAGAACCAACATGACTGCAACCCAGGA	pcdtkk-3
445	TCGTGCAAACCAAGTGCCTCCATCAGGGGGAAAGTCTGTACCAAAACACGCAAGAAAGGGTTCCTC	pmcdtkk-2
406	TCGTGCAAACCAAGTGCCTCCATCAGGGGGAAAGTCTGTACCAAAACACGCAAGAAAGGGTTCCTC	phdtkk-2
680	TCGTGCAAACCAAGTGCCTCCATCAGGGGGAAAGTCTGTACCAAAACACGCAAGAAAGGGTTCCTC	pmcdtkk-1
653	TCGTGCAAACCAAGTGCCTCCATCAGGGGGAAAGTCTGTACCAAAACACGCAAGAAAGGGTTCCTC	phdtkk-1
703	TCGTGCAAACCAAGTGCCTCCATCAGGGGGAAAGTCTGTACCAAAACACGCAAGAAAGGGTTCCTC	pRNcdtkk-1
433		phdtkk-3
663	ACCTGCTGAGCTTTTTCAGAAAGAACTTGCCTGTTCCCTGTGTCCTGTTACCCGTAAGAA	pcdtkk-3
505	ACGGGCTGGAGATTTTCCAGAGGTGTGACCTGTGCAAGGGGCTGTCCTGCAAAAGTGTGGAA	pmcdtkk-2
486	ATGGGCTGGAGATTTTCCAGAGGTGTGACCTGTGCAAGGGGCTGTCCTGCAAAAGTGTGGAA	phdtkk-2
740	ACGGGCTGGAGATTTTCCAGAGGTGTGACCTGTGCAAGGGGCTGTCCTGCAAAAGTGTGGAA	pmcdtkk-1
713	ATGGGCTGGAGATTTTCCAGAGGTGTGACCTGTGCAAGGGGCTGTCCTGCAAAAGTGTGGAA	phdtkk-1
763	ACGGGCTGGAGATTTTCCAGAGGTGTGACCTGTGCAAGGGGCTGTCCTGCAAAAGTGTGGAA	pRNcdtkk-1
433		phdtkk-3
723	GGTGAACCTTGCCATGATCTTCAAACAGACTTCTCAACCTGATCACCCTGGGACTGGAA	pcdtkk-3
585	AAGATGCCACCTACCTCTTCCA.....AAGCCAGACTCCAATGTAAGCCAGAAAGATCTGAT	pmcdtkk-2
526	AAGATGCCACCTACCTCTTCCA.....AAGCCAGACTCCAATGTAAGCCAGAAAGATCTGAT	phdtkk-2
800	AAGATGCCACCTACCTCTTCCA.....AAGCCAGACTCCAATGTAAGCCAGAAAGATCTGAT	pmcdtkk-1
773	AAGATGCCACCTACCTCTTCCA.....AAGCCAGACTCCAATGTAAGCCAGAAAGATCTGAT	phdtkk-1
823	AAGGAGAAATTTACAACCTGTCCTAAAACATGAGACTTCACACTTGCCTAAAGACACTAAG	pRNcdtkk-1

Fig.2 (cont.)

433		phdkk-3
783	CCTGATGGAGTACTAGAGCGCTGCCCATGTGCAAGTGGCTTGAIC	pcckk-3
619	AAACACTG.GAAGAGTCATCACTAGCAGACTGTGAATTTGTGTAT	pmckk-2
580	CACCATTGAGGAACATCAATTCAGACTGTGAAGTTGTGTAT	phdkk-2
856	...ACCGACAGIC..TAAAIATGATGGACTCTTTTATCTAAATA	pmckk-1
829		phdkk-1
883	CGAGGCCCTACAGAG..CCTGAAGGACCTTCTCTAAATTAAGCTAA	pRNckk-1
433		phdkk-3
843	AGCCACAGTACTACATCTGTGTGTGAACGTCTCCICCAATGAAACCAAGGAAAAACGA	pcckk-3
670	ATGATGGAAACCTGGATTGGAATGCGGAAGAATGAGGGATGTGGTAAAGAAATGTGG	pmckk-2
640	ATGGTGGAAAAIAAGGTTTCAGATGCAGAAGAAT...GGCTAAAAATAAGAAACG	phdkk-2
910	CTTTATGATTTGTCTAGCTCAATCCCAAGGATGTAGGAATCTTCAGTGTGTAATTAA	pmckk-1
829		phdkk-1
941	CTGCAATGTTATTTTCTCAGTTTACATGAAGTGCTCTGGCTCTCCCTGAACCCGGA	pRNckk-1
433		phdkk-3
903	GAAGATCCCTTGAACATGGATGAGATGCCATTTAICAGTTTAAATACCCAGAGATAITCT	pcckk-3
730	AAGAGGGCAGGACTGAAICAAAGTAGAGTCGACAACAACCAAAGTACTACCACTGCTTCCG	pmckk-2
697	AATATAGATGATCACAIAAAAAAAAAAAAAAAAAAGATGCGGCCGCAAGCTTATCCCTTA	phdkk-2
970	TCCGACAATACTTTCCAAAAAGCTCTGGAAGTGTAAGGACTTTGTTCTTGATGGAACCTCC	pmckk-1
829		phdkk-1
1001	CGCAACTTGTTTCTTTTTTGAAGGAACCTCTAAATTAAGCTAAATACAGTAAATTACTG	pRNckk-1

Fig.2 (cont.)

433		phdtkk-3
963	TCTGATTACGAAGAAAGCAGCGTCATTCAGGAAGTGCCTAAAAGAAITAGAAAAGCCTGGAG	peckk-3
798	TTATGTGCCICATCTATGTAAATAATGTACACATTTGTGAAAAATGCTAITATIAAAAGAA	pmckk-2
757	GTGAGGGTTAAT.....	phdtkk-2
1030	CTGTGATTGCAgTAAATTAAGTGTGTGTGTAATCCTCAgTGTGGCACITACCTGTAAATGC	pmckk-1
829		phdtkk-1
1061	TGTTGTAAATACTACGCAAGGAGACCTGTAAAACTGTAAATACCCGTGTATAGAAAGTG	pRNckk-1
433		phdtkk-3
1023	GACCAAGCAGGTGTGAAAGTCTGAGCATGACCCGGCTCATGACCTATTCTGGGAGATGAA	peckk-3
858	AGCACACCATGGAAATTAACAAAAA.....	pmckk-2
769		phdtkk-2
1090	AgCAAAACTTTTAAATTAATTTCTAgAgGTGTGTACATTGCCITGTITCICITTGCAITGT	pmckk-1
829		phdtkk-1
1121	TACATGATCTTCTCTAATTGTAACCTGCCACCTTGTACATTCCGACGCCTCTTCCCTTTT	pRNckk-1
433		phdtkk-3
1083	ATAATGAAGTTCAAAACACCAGTTTAAGTTAGTCCTAGAAATTTGTTGICTAGTGICTTGGTTA	peckk-3
882		pmckk-2
769		phdtkk-2
1150	aAATTTTTTTTtGTaCACGGTTGATtGTCTTGAaTCATAAAATtCTATAATtGgAgTgAA	pmckk-1
829		phdtkk-1
1181	TATATATATATATATATAAATATATATTATATTATGTAGAGTTTACGICTAGTATGTCTG	pRNckk-1

Fig.2 (cont.)

433		phdtk-3
1143	CATACACCCCTTAACAGATACTGCTGGATAGAAAGTGCATTAACAATCTTCATIGAGCATCC	pcdtk-3
882		pmcdk-2
769		phdtk-2
1210	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	pmcdk-1
829		phdtk-1
1241	TATTTTAAATGAAATGAAACATTCTAAACTTAAAAACAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	prNtkk-1
433		phdtk-3
1203	GTTTTCTGTCACCAAAACCTGCATGTTCAAAATCATGTGAAATCACTCAATCTTGGACC	pcdtk-3
882		pmcdk-2
769		phdtk-2
1227		pmcdk-1
829		phdtk-1
1298		prNtkk-1
433		phdtk-3
1263	AAACTTTCCATCAAAAGACAAATGAGAAAAGGCATCAGTGTTTCCTTGGATTAAATCCTTTC	pcdtk-3
882		pmcdk-2
769		phdtk-2
1227		pmcdk-1
829		phdtk-1
1298		prNtkk-1

Fig.2 (cont.)

433		phckk-3
1323	C T T T G T A C A G C A G A A A T A A A C G T A T C A G T A C T C G T A C T C A I T A A A A A A A C A C A C G G A G C A	pcckk-3
882		pmckk-2
769		phckk-2
1227		pmckk-1
829		phckk-1
1290		pRNdckk-1
433	.	phckk-3
1383	T	pcckk-3
882	.	pmckk-2
769	.	phckk-2
1227	.	pmckk-1
829	.	phckk-1
1290	.	pRNdckk-1

Fig.2 (cont.)

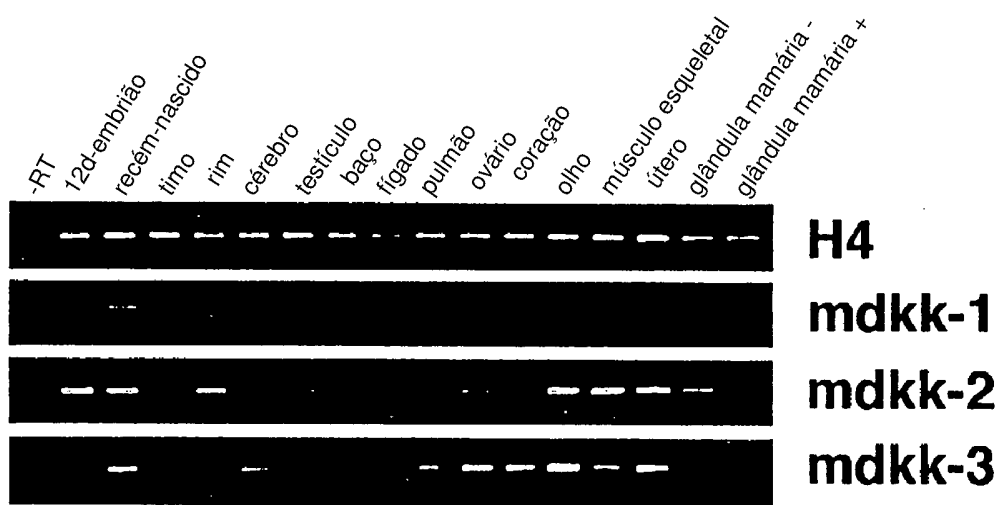


Fig.3

RESUMO

"PROTEÍNA INIBIDORA DA VIA DE SINAL WNT"

A presente invenção refere-se a uma proteína inibidora da via de sinal wnt, a um ADN codificador para uma tal proteína e a um processo para a preparação de uma tal proteína. A invenção refere-se ainda à utilização do ADN e da proteína, bem como a anticorpos dirigidos contra a proteína.