

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
3 février 2005 (03.02.2005)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2005/010047 A2

(51) Classification internationale des brevets⁷ :

C07K 14/78

(74) Mandataires : **GROSSET-FOURNIER, Chantal** etc.;
Grosset-Fournier & Demachy SARL, 54, rue Saint-Lazare,
F-75009 Paris (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2004/001894

(81) États désignés (*sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) Date de dépôt international : 16 juillet 2004 (16.07.2004)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :

03/08816 18 juillet 2003 (18.07.2003) FR

(71) Déposant (*pour tous les États désignés sauf US*) :
I.N.S.E.R.M. [FR/FR]; Institut National de la Santé et de
la Recherche Médicale, 101, rue de Tolbiac, F-75654 Paris
Cedex 13 (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) : **PRATS, Hervé** [FR/FR]; 3 bis, rue Leon Tolstoï, F-31400 Toulouse (FR). **BOSSARD, Carine** [FR/FR]; 77, route de Blagnac, F-31200 Toulouse (FR). **VAN DEN BERGHE, Loïc** [FR/FR]; Latour, F-81700 Bertre (FR). **LAURELL, Henrik** [SE/FR]; 40, rue des Saules, Appt. 114, F-31400 Toulouse (FR). **ABITBOL, Marc** [FR/FR]; 36bis, rue Balard, F-75015 Paris (FR). **PRATS, Anne-Catherine** [FR/FR]; 3 bis rue Léon Tolstoï, F-31400 TOULOUSE (FR).

(84) États désignés (*sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible*) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— *sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport*

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(54) Title: ANTIANGIOGENIC COMPOUNDS, PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING SAID COMPOUNDS AND THE USE THEREOF

(54) Titre : COMPOSES ANTI-ANGIOGENIQUES, COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES LES COMPRENANT, ET LEUR UTILISATION

(57) Abstract: The invention relates to the use of a peptidic sequence comprising consisting of a sequence extending to minimum of residuals: -275 to 366 (SEQ ID NO:4) and/or -367 to 455 (SEQ ID NO:6) and/or -456 to 531 (SEQ ID NO:8) of SEQ ID NO:10, and to maximum to a sequence corresponding to SEQ ID NO:10, for preparing a drug for preventing and treating angiogenesis-related diseases such as cancers, age-related macular retrogradation, retinopathy, psoriasis or rheumatoid arthritis.

(57) Abrégé : La présente invention concerne l'utilisation d'une séquence peptidique comprenant ou étant constituée d'une séquence s'étendant au minimum des résidus : - 275 à 366 (SEQ ID NO : 4), et/ou - 367 à 455 (SEQ ID NO : 6), et/ou - 456 à 531 (SEQ ID NO : 8), de SEQ ID NO : 10, et au maximum à une séquence correspondant à SEQ IL? NO : 10, pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement de maladies liées à l'angiogenèse, telles que les cancers, la dégénérescence maculaire liée à l'âge, la rétinopathie diabétique, le psoriasis, ou l'arthrite rhumatoïde.

WO 2005/010047 A2

COMPOSES ANTI-ANGIOGENIQUES, COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES LES COMPRENANT, ET LEUR UTILISATION

La présente invention concerne des protéines ayant une activité anti-angiogénique, les
5 acides nucléiques les codant, ainsi que les compositions pharmaceutiques les comprenant.

L'angiogenèse est un processus de croissance de nouveaux capillaires sanguins à partir
de vaisseaux préexistants. Trois phénomènes particuliers sont notamment à la base de ce
processus : la prolifération, la migration et la différenciation (la tubulogenèse) des cellules
endothéliales. L'angiogenèse est activée par certains facteurs de croissances, dits facteurs
10 angiogéniques, tels que le VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*, facteur de croissance
endothélial vasculaire), le FGF-1 (*Fibroblast Growth Factor 1*, facteur de croissance des
fibroblastes 1) ou le FGF-2 (*Fibroblast Growth Factor 2*, facteur de croissance des
fibroblastes 2).

En temps normal, l'angiogenèse est essentiellement restreinte au système reproducteur
15 femelle et à la cicatrisation des plaies. Cependant, l'angiogenèse est également impliquée
dans de nombreux cas pathologiques, tels que la rétinopathie diabétique, le psoriasis, l'arthrite
rhumatoïde, la dégénérescence maculaire liée à l'âge, et les cancers. En effet, dans ce dernier
cas il a été montré que la croissance tumorale était grandement favorisée par l'apparition au
sein de ces tumeurs d'une néo-vascularisation sanguine résultant en particulier de la sécrétion
20 par les tumeurs de facteurs angiogéniques.

De nombreuses tentatives de traitements thérapeutiques basées sur l'utilisation de
protéines anti-angiogéniques sont en cours. Parmi ces composés, l'un des plus prometteur est
l'endostatine (O'Reilly *et al.*, *Cell* (1997) **88**:277-285), qui est actuellement en essais
cliniques de phase I (Herbst *et al.*, *J. Clin. Oncol.* (2002) **20**:3804-3814). L'endostatine est
25 une protéine de 20 kDa correspondant à un fragment du collagène XVIII. L'activité anti-
angiogénique de cette protéine est due à une inhibition spécifique des cellules endothéliales.

Un des principaux inconvénients lié à l'utilisation de ces protéines en tant qu'anti-
angiogéniques réside dans les quantités nécessaires au traitement d'un individu. Ainsi, il a été
estimé que dans le cas de l'endostatine jusqu'à plusieurs grammes de protéine recombinante
30 devaient être administrés au patient chaque jour (Cao, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* (2001)
33:357-369). Cet inconvénient pourrait être aboli par exemple en disposant d'inhibiteurs de
l'angiogenèse plus puissants.

La fibronectine est une protéine fibreuse constitutive de la matrice extracellulaire
(Hynes (1990) in *Fibronectins* (Springer, New York)). Certains fragments dérivés de cette

protéine semblent également avoir une activité anti-angiogénique (Yi & Ruoslahti, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (2001) **98**:620-624) et d'autres fragments une activité d'inhibition de la croissance endothéliale *in vitro* (Homandberg et al., *Am. J. Pathol.* (1985) **120**:327-332). Toutefois, dans certains cas il a pu être montré que d'autres fragments de fibronectine favorisaient l'adhésion de cellules métastatiques à la matrice extracellulaire (Mould & Humphries, *EMBO J.* (1991) **10**:4089-4095). Par ailleurs, ces fragments ne sont pas en essais cliniques.

La présente invention a pour objet de fournir des composés ayant une activité anti-angiogénique et/ou anti-tumorale pouvant être dans certains cas supérieure à celles des composés anti-angiogéniques de l'art antérieur.

La présente invention concerne l'utilisation d'une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus :

- 275 à 366 (SEQ ID NO : 4), et/ou

- 367 à 455 (SEQ ID NO : 6), et/ou

- 456 à 531 (SEQ ID NO : 8),

de SEQ ID NO : 10, et au maximum à une séquence correspondant à SEQ ID NO : 10, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2,

pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement de maladies liées à l'angiogenèse, telles que les cancers, la dégénérescence maculaire liée à l'âge, la rétinopathie diabétique, le psoriasis, ou l'arthrite rhumatoïde.

SEQ ID NO : 10 correspond aux acides aminés 1447 à 1991 de la séquence peptidique de la fibronectine (SEQ ID NO : 2) (référence P02751 de la base de données SwissProt) codée par la séquence nucléotidique SEQ ID NO : 1. SEQ ID NO : 4 correspond aux acides aminés 1721 à 1812 de la fibronectine, SEQ ID NO : 6 correspond aux acides aminés 1813 à 1901 de la fibronectine, et SEQ ID NO : 8 correspond aux acides aminés 1902 à 1977 de la fibronectine.

Avantageusement les séquences peptidiques de l'invention possèdent la propriété de se lier au facteur FGF-2, notamment au facteur FGF-2 de poids moléculaire 18 kDa, et d'inhiber son fonctionnement.

Avantageusement, l'activité anti-angiogénique des séquences peptidiques de l'invention peut être due au blocage de l'action du facteur FGF-2, grâce à leur liaison avec ce dernier.

Plusieurs tests permettant de mesurer la liaison des séquences peptidiques de l'invention au facteur FGF-2 sont décrits dans les exemples suivants, ils font notamment appel à des méthodes bien connues de l'homme de l'art tels que le double hybride ou l'ELISA.

Le test de liaison en double hybride peut être réalisé selon la méthodologie générale décrite par Van den Berghe *et al.* (*Mol. Endocrinol.* (2000) Nov, 14(11), 1709-1724).

Un fragment d'ADN codant pour le facteur FGF-2 est introduit dans le plasmide pAS2 (Clontech, numéro d'accès à Genbank : U30497) et un fragment d'ADN codant pour les séquences peptidiques dont on souhaite évaluer la liaison au facteur FGF-2 est introduite dans le plasmide pACT2 (Clontech, numéro d'accès à Genbank : U29899).

Les deux plasmides sont alors introduits dans la souche Y190 de *Saccharomyces cerevisiae* (Clontech ; Harper *et al.*, *Cell*, 1993; 75:805-816 ; Flick & Johnston, *Mol. Cell. Biol.*, 1990; 10(9):4757-4769) dont l'activité β -galactosidase est mesurée. La présence d'une activité β -galactosidase traduit l'existence d'une liaison entre ladite séquence peptidique et le facteur FGF-2.

Le test de liaison en ELISA peut être réalisé comme suit. Les parois des puits d'une plaque de microtitration standard sont recouvertes de facteur FGF-2. Les séquences peptidiques dont on souhaite mesurer la liaison au facteur FGF-2, couplées à une étiquette histidine, sont ajoutées aux puits en concentrations variables, puis un anticorps marqué dirigé contre l'étiquette histidine est ajouté. Après lavage, la quantité d'anticorps par puits est alors déterminée à l'aide du marqueur, qui peut être une enzyme, un chromophore ou bien un composé radioactif. La quantité d'anticorps par puits est représentative de la liaison entre lesdites séquences peptidiques et le facteur FGF-2.

On désigne par « homologie » le pourcentage d'acides aminés similaires pour deux séquences peptidiques alignées acide aminé par acide aminé, tel que cela peut être obtenu par la mise en œuvre de l'algorithme défini par Altschul *et al.*, *Nucleic Acids Res.* (1997) 25:3389-3402 par exemple.

On désigne par « angiogenèse » le phénomène de formation de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de vaisseaux préexistants. Ce phénomène permet notamment la croissance tumorale. L'angiogenèse se trouve sous la dépendance de facteurs angiogéniques tels que le facteur FGF-2 par exemple.

5 L'invention concerne également l'utilisation susmentionnée d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, et/ou possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité anti-angiogénique et ou une activité anti-tumorale.

10 On désigne par activité anti-angiogénique, une activité d'inhibition de l'angiogenèse. Cette activité peut être par exemple mise en évidence *in vitro* en démontrant l'inhibition à la fois de la multiplication, de la migration et de la tubulogenèse, de cellules endothéliales par les séquences peptidiques de l'invention. La mesure de l'inhibition de la multiplication des cellules endothéliales peut être réalisée en cultivant des cellules
15 endothéliales en présence de la séquence peptidique dont on souhaite évaluer l'activité. La mesure de l'inhibition de la migration des cellules endothéliales peut être réalisée en effectuant une « blessure » sur un tapis de cellules endothéliales et en incubant ensuite les cellules en présence de la séquence peptidique à tester. On mesure alors le nombre de cellules ayant migré sur la blessure. La mesure de l'inhibition de la tubulogenèse des
20 cellules endothéliales peut être réalisée en mesurant la longueur de tubules formés par des cellules endothéliales cultivées sur gel en présence de la séquence peptidique à tester.

On désigne par activité anti-tumorale, une activité permettant d'inhiber la croissance tumorale et/ou d'induire la régression voir la disparition de tumeurs. Cette activité peut
25 être par exemple mise en évidence *in vivo* en mesurant la masse de tumeurs, dont on a induit le développement chez la souris par injection de cellules tumorales, en présence et en absence d'administration de séquences peptidiques de l'invention et/ou d'acides nucléiques exprimant les séquences peptidiques de l'invention.

L'invention concerne en particulier l'utilisation telle que définie ci-dessus, d'une
30 séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus :
 - 275 à 366 (SEQ ID NO : 4), et/ou
 - 367 à 455 (SEQ ID NO : 6), et/ou
 - 456 à 531 (SEQ ID NO : 8),

de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 542 (SEQ ID NO : 26) de SEQ ID NO : 10, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou
- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2.

SEQ ID NO : 26 correspond aux acides aminés 1447 à 1988 de la fibronectine.

L'invention concerne notamment l'utilisation telle que définie ci-dessus, d'une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus :

- 275 à 366 (SEQ ID NO : 4), et/ou

- 367 à 455 (SEQ ID NO : 6), et/ou

- 456 à 531 (SEQ ID NO : 8),

de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 535 (SEQ ID NO : 12) de SEQ ID NO : 10, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou
- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2.

SEQ ID NO : 12 correspond aux acides aminés 1447 à 1981 de la fibronectine.

L'invention concerne notamment l'utilisation telle que définie ci-dessus, d'une séquence peptidique comprenant ou étant constituée

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 456 à 531 (SEQ ID NO : 8) de SEQ ID NO : 10, et au maximum à une séquence correspondant à SEQ ID NO : 10, en particulier correspondant à SEQ ID NO : 26, et plus particulièrement correspondant à SEQ ID NO : 12,

- d'une séquence dérivée de la séquence définie ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2.

L'invention concerne en particulier l'utilisation telle que définie ci-dessus, d'une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 367 à 531 (SEQ ID NO : 14) de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 542 (SEQ ID NO : 26) de SEQ ID NO : 10, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2.

SEQ ID NO : 14 correspond aux acides aminés 1813 à 1977 de la fibronectine.

L'invention concerne plus particulièrement l'utilisation telle que définie ci-dessus, d'une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 367 à 531 (SEQ ID NO : 14) de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 535 (SEQ ID NO : 12) de SEQ ID NO : 10, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2.

L'invention concerne tout particulièrement l'utilisation telle que définie ci-dessus, d'une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 270 à 531 (SEQ ID NO : 16) de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 542 (SEQ ID NO : 26) de SEQ ID NO : 10, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2.

SEQ ID NO : 16 correspond aux acides aminés 1716 à 1977 de la fibronectine.

5 L'invention concerne encore plus particulièrement l'utilisation telle que définie ci-dessus, d'une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 270 à 531 (SEQ ID NO : 16) de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 535 (SEQ ID NO : 12) de SEQ ID NO : 10, ou

10 - d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

15 - d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2.

L'invention concerne préférentiellement l'utilisation telle que définie ci-dessus, d'une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- de SEQ ID NO : 4, ou

- de SEQ ID NO : 6, ou

20 - de SEQ ID NO : 8, ou

- de SEQ ID NO : 10, ou

- de SEQ ID NO : 12, ou

- de SEQ ID NO : 14, ou

- de SEQ ID NO : 16, ou

25 - de SEQ ID NO : 18, ou

- de SEQ ID NO : 20, ou

- de SEQ ID NO : 22, ou

- de SEQ ID NO : 24, ou

- de SEQ ID NO : 26, ou

30 - de SEQ ID NO : 28, ou

- de SEQ ID NO : 30.

SEQ ID NO : 18 correspond à la séquence peptidique du clone A dans la suite, elle correspond aux acides aminés 1 à 531 de SEQ ID NO : 10 et aux acides aminés 1447 à 1977 de la fibronectine.

SEQ ID NO : 20 est désignée fibstatine (Fib) dans la suite, elle correspond aux acides aminés 270 à 535 de SEQ ID NO : 10 et aux acides aminés 1716 à 1981 de la fibronectine.

SEQ ID NO : 22 correspond aux acides aminés 275 à 455 de SEQ ID NO : 10 et 1721 à 1901 de la fibronectine, elle correspond à la séquence peptidique du clone C dans la suite.

SEQ ID NO : 24 correspond aux acides aminés 275 à 531 de SEQ ID NO : 10 et 1721 à 1977 de la fibronectine.

SEQ ID NO : 28 correspond à la séquence peptidique du clone D dans la suite, elle correspond aux acides aminés 367 à 535 de SEQ ID NO : 10 et 1813 à 1981 de la fibronectine.

SEQ ID NO : 30 correspond à la séquence peptidique du clone E dans la suite, elle correspond aux acides aminés 367 à 545 de SEQ ID NO : 10 et 1813 à 1991 de la fibronectine.

L'utilisation des séquences peptidiques SEQ ID NO : 14 et 28 est avantageuse, car ces séquences présentent une taille inférieure à celle de SEQ ID NO : 20 et peuvent s'avérer plus solubles et plus stables que cette dernière.

SEQ ID NO : 30 peut exercer une activité anti-angiogénique suite à sa digestion partielle par une protéase *in vitro* ou *in vivo* pour générer une protéine ayant une activité anti-angiogénique de SEQ ID NO : 14 ou 28 par exemple.

SEQ ID NO : 22 peut exercer une activité anti-angiogénique suite à son association avec une ou plusieurs séquences peptidiques, *in vitro* ou *in vivo*, pour former un complexe protéique ayant une organisation semblable à une protéine ayant une activité anti-angiogénique de SEQ ID NO : 20 ou 24 par exemple.

La présente invention concerne également l'utilisation d'un acide nucléique codant pour une séquence peptidique telle que définie ci-dessus, ou de son complémentaire, pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement de maladies liées à l'angiogenèse, telles que les cancers, la dégénérescence maculaire liée à l'âge, la rétinopathie diabétique, le psoriasis, ou l'arthrite rhumatoïde.

La présente invention concerne également l'utilisation d'un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- au minimum aux séquences s'étendant des nucléotides :

- 823 à 1098 (SEQ ID NO : 3), et/ou

- 1099 à 1365 (SEQ ID NO : 5), et/ou

- 1366 à 1593 (SEQ ID NO : 7),

de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 9, ou

- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un nucléotide, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- à une séquence possédant une homologie d'au moins 75 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2,

ou son complémentaire, pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement de maladies liées à l'angiogenèse, telles que les cancers, la dégénérescence maculaire liée à l'âge, la rétinopathie diabétique, le psoriasis, ou l'arthrite rhumatoïde.

On désigne par « homologie » le pourcentage de nucléotides identiques pour deux séquences nucléotidiques alignées nucléotide par nucléotide, tel que cela peut être obtenu par la mise en œuvre de l'algorithme défini par Altschul *et al.*, *Nucleic Acids Res.* (1997) 25:3389-3402 par exemple.

Les séquences nucléotidiques SEQ ID NO : 3, 5, 7 et 9 codent respectivement pour les séquences peptidiques SEQ ID NO : 4, 6, 8 et 10.

Selon un mode de réalisation avantageux, l'invention concerne l'utilisation d'un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- au minimum aux séquences s'étendant des nucléotides :

- 823 à 1098 (SEQ ID NO : 3), et/ou

- 1099 à 1365 (SEQ ID NO : 5), et/ou

- 1366 à 1593 (SEQ ID NO : 7),

de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 25, ou

- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou à une séquence homologue.

SEQ ID NO : 25 correspond à la séquence s'étendant des nucléotides 1 à 1626 de la séquence SEQ ID NO : 9 et à la séquence s'étendant des nucléotides 4339 à 5964 de la fibronectine.

SEQ ID NO : 25 code pour SEQ ID NO : 26.

Selon un autre mode de réalisation avantageux, l'invention concerne l'utilisation d'un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- au minimum aux séquences s'étendant des nucléotides :

- 823 à 1098 (SEQ ID NO : 3), et/ou

- 1099 à 1365 (SEQ ID NO : 5), et/ou

- 1366 à 1593 (SEQ ID NO : 7),

5 de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 11, ou

- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou à une séquence homologue.

SEQ ID NO : 11 correspond à la séquence s'étendant des nucléotides 1 à 1605 de la séquence SEQ ID NO : 9 et à la séquence s'étendant des nucléotides 4339 à 5943 de la
10 fibronectine.

SEQ ID NO : 11 code pour SEQ ID NO : 12.

Selon un autre mode de réalisation avantageux, l'invention concerne l'utilisation d'un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- au minimum à la séquence s'étendant des nucléotides 1366 à 1593 (SEQ ID NO : 7)

15 de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 9, en particulier à SEQ ID NO : 25, et plus particulièrement à SEQ ID NO : 11, ou

- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou à une séquence homologue.

Selon un autre mode de réalisation avantageux, l'invention concerne l'utilisation d'un
20 acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- au minimum à la séquence s'étendant des nucléotides 1099 à 1593 (SEQ ID NO : 13) de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 25, ou

- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou à une séquence homologue.

25 SEQ ID NO : 13 code pour SEQ ID NO : 14.

Selon un autre mode de réalisation avantageux, l'invention concerne l'utilisation d'un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- au minimum à la séquence s'étendant des nucléotides 1099 à 1593 (SEQ ID NO : 13) de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 11, ou

30 - à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou à une séquence homologue.

Selon un autre mode de réalisation avantageux, l'invention concerne l'utilisation d'un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- au minimum à la séquence s'étendant des nucléotides 808 à 1593 (SEQ ID NO : 15) de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 25, ou

- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou à une séquence homologue.

5 SEQ ID NO : 15 code pour SEQ ID NO : 16.

Selon un autre mode de réalisation avantageux, l'invention concerne l'utilisation d'un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- au minimum à la séquence s'étendant des nucléotides 808 à 1593 (SEQ ID NO : 15) de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 11, ou

10 - à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou à une séquence homologue.

Selon encore un autre mode de réalisation avantageux, l'invention concerne l'utilisation d'un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- à SEQ ID NO : 3, ou

15 - à SEQ ID NO : 5, ou

- à SEQ ID NO : 7, ou

- à SEQ ID NO : 9, ou

- à SEQ ID NO : 11, ou

- à SEQ ID NO : 13, ou

20 - à SEQ ID NO : 15, ou

- à SEQ ID NO : 17, ou

- à SEQ ID NO : 19, ou

- à SEQ ID NO : 21, ou

- à SEQ ID NO : 23, ou

25 - à SEQ ID NO : 25, ou

- à SEQ ID NO : 27, ou

- à SEQ ID NO : 29,

ou son complémentaire.

SEQ ID NO : 17 correspond à la séquence s'étendant des nucléotides 4339 à 5931 de la
30 fibronectine.

SEQ ID NO : 19 correspond à la séquence s'étendant des nucléotides 5146 à 5943 de la fibronectine.

SEQ ID NO : 21 correspond à la séquence s'étendant des nucléotides 5161 à 5703 de la fibronectine.

SEQ ID NO : 23 correspond à la séquence s'étendant des nucléotides 5161 à 5931 de la fibronectine.

SEQ ID NO : 27 correspond à la séquence s'étendant des nucléotides 5437 à 5943 de la fibronectine.

5 SEQ ID NO : 29 correspond à la séquence s'étendant des nucléotides 5437 à 5973 de la fibronectine.

La présente invention concerne également une composition pharmaceutique comprenant à titre de substance active une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus :

10 - 275 à 366 (SEQ ID NO : 4), et/ou

- 367 à 455 (SEQ ID NO : 6), et/ou

- 456 à 531 (SEQ ID NO : 8),

de SEQ ID NO : 10, et au maximum à une séquence correspondant à SEQ ID NO : 10, ou

15 - d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente

20 une activité de liaison au facteur FGF-2,

en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

Les véhicules pharmaceutiquement acceptables pouvant être utilisés pour des séquences peptidiques dans le cadre de l'invention sont bien connus de l'homme de l'art.

25 Les compositions pharmaceutiques de l'invention peuvent également comprendre d'autres composés, notamment protéiques, ayant une action anti-angiogénique, tels que l'endostatine, l'angiostatine, PF-4, la thrombospondine ou le fragment de prolactine de 16 kDa par exemple, ces protéines sont notamment définies dans Cao *Int. J. Biochem. Cell Biol.* (2001) 33:357-369.

30 Les compositions pharmaceutiques selon l'invention conviennent notamment pour l'administration à un patient d'une dose de 15 à 600 mg/m²/jour d'une séquence peptidique selon l'invention.

Les compositions pharmaceutiques selon l'invention conviennent également pour une administration par voie topique, transdermique, intrapéritonéale, intracrânienne, intracérébroventriculaire, intracérébrale, intravaginale, intra-utérine, orale, rectale ou

parentérale (par exemple, par voie intraveineuse, intrarachidienne, sous-cutanée ou intramusculaire).

Les compositions avantageuses selon la présente invention, destinées à une administration parentérale, comprennent des solutions d'injections stériles aqueuses et non aqueuses qui peuvent contenir des anti-oxydants, des tampons, des agents bactériostatiques et des solutés qui rendent la composition isotonique ; ainsi que des suspensions stériles aqueuses et non aqueuses qui peuvent comprendre des agents de suspension et des épaississants.

Selon un mode de réalisation avantageux, la composition pharmaceutique selon l'invention comprend, à titre de substance active, une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus :

- 275 à 366 (SEQ ID NO : 4), et/ou

- 367 à 455 (SEQ ID NO : 6), et/ou

- 456 à 531 (SEQ ID NO : 8),

de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 542 (SEQ ID NO : 26) de SEQ ID NO : 10, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou d'une séquence homologue.

Selon autre un mode de réalisation avantageux, la composition pharmaceutique selon l'invention comprend, à titre de substance active, une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus :

- 275 à 366 (SEQ ID NO : 4), et/ou

- 367 à 455 (SEQ ID NO : 6), et/ou

- 456 à 531 (SEQ ID NO : 8),

de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 535 (SEQ ID NO : 12) de SEQ ID NO : 10, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou d'une séquence homologue.

Selon un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, la composition pharmaceutique comprend, à titre de substance active, une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 456 à 531 (SEQ ID NO : 8) de SEQ ID NO : 10, et au correspondant au maximum à SEQ ID NO : 10, en particulier à SEQ ID NO : 26, et plus particulièrement à SEQ ID NO : 12, ou
- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou d'une séquence homologue.

Selon un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, la composition pharmaceutique comprend, à titre de substance active, une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 367 à 531 (SEQ ID NO : 14) de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 542 (SEQ ID NO : 262) de SEQ ID NO : 10, ou
- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou d'une séquence homologue.

Selon un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, la composition pharmaceutique comprend, à titre de substance active, une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 367 à 531 (SEQ ID NO : 14) de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 535 (SEQ ID NO : 12) de SEQ ID NO : 10, ou
- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou d'une séquence homologue.

Selon un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, la composition pharmaceutique comprend, à titre de substance active, une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 270 à 531 (SEQ ID NO : 16) de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 542 (SEQ ID NO : 26), ou
- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou d'une séquence homologue.

Selon un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, la composition pharmaceutique comprend, à titre de substance active, une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 270 à 531 (SEQ ID NO : 16) de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 535 (SEQ ID NO : 12), ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou d'une séquence homologue.

Selon encore un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, la composition pharmaceutique comprend, à titre de substance active, une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- de SEQ ID NO : 4, ou
- de SEQ ID NO : 6, ou
- de SEQ ID NO : 8, ou
- de SEQ ID NO : 10, ou
- de SEQ ID NO : 12, ou
- de SEQ ID NO : 14, ou
- de SEQ ID NO : 16, ou
- de SEQ ID NO : 18, ou
- de SEQ ID NO : 20, ou
- de SEQ ID NO : 22, ou
- de SEQ ID NO : 24, ou
- de SEQ ID NO : 26, ou
- de SEQ ID NO : 28, ou
- de SEQ ID NO : 30.

La présente invention concerne également une composition pharmaceutique comprenant à titre de substance active un acide nucléique codant pour une séquence peptidique telle que définie dans les compositions pharmaceutiques ci-dessus, ou son complémentaire, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

Les véhicules pharmaceutiquement acceptables pouvant être utilisés pour des acides nucléiques dans le cadre de l'invention sont bien connus de l'homme de l'art.

Les compositions pharmaceutiques de l'invention peuvent également comprendre d'autres acides nucléiques, ayant une action anti-angiogénique, soit directement, soit par le biais d'une protéine pour laquelle ils codent, telle que l'endostatine, l'angiostatine, PF-4, la thrombospondine ou le fragment de prolactine de 16 kDa par exemple, ces protéines sont notamment définies dans Cao *Int. J. Biochem. Cell Biol.* (2001) 33:357-369.

Avantageusement, les compositions pharmaceutiques selon l'invention conviennent pour l'administration d'une dose unitaire de 0,5 à 20 mg d'acide nucléique.

L'administration des compositions pharmaceutiques peut être en particulier réalisée par injection intramusculaire puis électrotransfert selon des méthodologies bien connues de l'homme de l'art.

La présente invention concerne également une composition pharmaceutique comprenant à titre de substance active un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- au minimum aux séquences s'étendant des nucléotides :

- 823 à 1098 (SEQ ID NO : 3), et/ou

- 1099 à 1365 (SEQ ID NO : 5), et/ou

- 1366 à 1593 (SEQ ID NO : 7),

de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 9, ou

- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un nucléotide, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- à une séquence possédant une homologie d'au moins 75 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2,

ou son complémentaire, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

Selon un mode de réalisation avantageux, la composition pharmaceutique selon l'invention comprend, à titre de substance active, un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- au minimum aux séquences s'étendant des nucléotides :

- 823 à 1098 (SEQ ID NO : 3), et/ou

- 1099 à 1365 (SEQ ID NO : 5), et/ou

- 1366 à 1593 (SEQ ID NO : 7),

de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 25, ou

- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou à une séquence homologue.

Selon un autre mode de réalisation avantageux, la composition pharmaceutique selon l'invention comprend, à titre de substance active, un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- au minimum aux séquences s'étendant des nucléotides :

- 823 à 1098 (SEQ ID NO : 3), et/ou
- 1099 à 1365 (SEQ ID NO : 5), et/ou
- 1366 à 1593 (SEQ ID NO : 7),

de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 11, ou

- 5 - à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou à une séquence homologue.

Selon un autre mode de réalisation avantageux, la composition pharmaceutique selon l'invention comprend, à titre de substance active, un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- 10 - au minimum à la séquence s'étendant des nucléotides 1366 à 1593 (SEQ ID NO : 7) de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 9, en particulier à SEQ ID NO : 25, et plus particulièrement à SEQ ID NO : 11, ou
- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou à une séquence homologue.

- 15 Selon un autre mode de réalisation avantageux, la composition pharmaceutique selon l'invention comprend, à titre de substance active, un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- au minimum à la séquence s'étendant des nucléotides 1099 à 1593 (SEQ ID NO : 13) de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 25, ou
- 20 - à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou à une séquence homologue.

Selon un autre mode de réalisation avantageux, la composition pharmaceutique selon l'invention comprend, à titre de substance active, un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- 25 - au minimum à la séquence s'étendant des nucléotides 1099 à 1593 (SEQ ID NO : 13) de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 11, ou
- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou à une séquence homologue.

- 30 Selon un autre mode de réalisation avantageux, la composition pharmaceutique selon l'invention comprend, à titre de substance active, un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- au minimum à la séquence s'étendant des nucléotides 808 à 1593 (SEQ ID NO : 15) de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 25, ou

- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou à une séquence homologue.

Selon un autre mode de réalisation avantageux, la composition pharmaceutique selon l'invention comprend, à titre de substance active, un acide nucléique comprenant ou

5 étant constituée d'une séquence correspondant :

- au minimum à la séquence s'étendant des nucléotides 808 à 1593 (SEQ ID NO : 15) de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 11, ou
- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus ou à une séquence homologue.

10 Selon encore un autre mode de réalisation avantageux, la composition pharmaceutique selon l'invention comprend, à titre de substance active, un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- à SEQ ID NO : 3, ou
- à SEQ ID NO : 5, ou
- 15 - à SEQ ID NO : 7, ou
- à SEQ ID NO : 9, ou
- à SEQ ID NO : 11, ou
- à SEQ ID NO : 13, ou
- à SEQ ID NO : 15, ou
- 20 - à SEQ ID NO : 17, ou
- à SEQ ID NO : 19, ou
- à SEQ ID NO : 21, ou
- à SEQ ID NO : 23, ou
- à SEQ ID NO : 25, ou
- 25 - à SEQ ID NO : 27, ou
- à SEQ ID NO : 29,

ou son complémentaire.

Selon une autre mode de réalisation la présente invention concerne une composition pharmaceutique telle que définie ci-dessus, comprenant à titre de substance active un

30 vecteur d'expression eucaryote comprenant un acide nucléique tel que défini dans les compositions pharmaceutiques ci-dessus, ou son complémentaire, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

Les vecteurs d'expression selon l'invention peuvent également comprendre en plus des acides nucléiques codant pour des séquences peptidiques ayant également une activité

anti-angiogénique, telles que l'endostatine ou l'angiostatine ou PF₄ ou le fragment de prolactine de 16 kDa par exemple

Selon encore un autre mode de réalisation la présente invention concerne une composition pharmaceutique comprenant à titre de substance active une cellule eucaryote ou procaryote transformée par un acide nucléique tel que défini dans les compositions ci-dessus, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

Les cellules susceptibles d'être transformées comprennent notamment *E. coli*, HeLa, CHO et NIH3T3.

La présente invention concerne également une composition pharmaceutique comprenant à titre substance active un anticorps anti-idiotypique dirigé contre le paratope d'un anticorps dirigé contre une séquence peptidique telle que définie dans l'une des utilisations ci-dessus, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

On désigne par paratope la partie d'un anticorps responsable de son interaction avec un épitope d'un antigène reconnu par ledit anticorps.

Un anticorps anti-idiotypique selon l'invention peut être préparé selon des méthodes bien connues de l'homme de l'art, notamment par injection d'un anticorps dirigé contre une séquence peptidique selon l'invention à un animal, tel qu'un lapin ou une souris par exemple.

Avantageusement, l'anticorps anti-idiotypique selon l'invention, possède des propriétés de liaison au FGF-2.

L'anticorps anti-idiotypique de l'invention peut être humanisé, par des méthodes bien connues de l'homme de l'art. Des fragments de cet anticorps peuvent également être utilisés dans les compositions pharmaceutiques de l'invention, tels que des fragments scFv, Fab ou F(ab)'₂ bien connu de l'homme de l'art.

La présente invention concerne également une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 367 à 531 (SEQ ID NO : 14) de SEQ ID NO : 10 et au maximum des résidus 1 à 542 (SEQ ID NO : 26) de SEQ ID NO : 10, les séquences adjacentes aux extrémités de SEQ ID NO : 26 dans la séquence totale de ladite séquence peptidique étant différentes de celles qui sont adjacentes à SEQ ID NO : 12 dans la séquence de la fibronectine humaine, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou
- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2.

La présente invention concerne en particulier une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 367 à 531 (SEQ ID NO : 14) de SEQ ID NO : 10 et au maximum des résidus 1 à 535 (SEQ ID NO : 12) de SEQ ID NO : 10, les séquences adjacentes aux extrémités de SEQ ID NO : 12 dans la séquence totale de ladite séquence peptidique étant différentes de celles qui sont adjacentes à SEQ ID NO : 12 dans la séquence de la fibronectine humaine, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou
- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2.

La présente invention concerne également une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 270 à 531 (SEQ ID NO : 16) de SEQ ID NO : 10 et au maximum des résidus 1 à 535 (SEQ ID NO : 12) de SEQ ID NO : 10, les séquences adjacentes aux extrémités de SEQ ID NO : 12 dans la séquence totale de ladite séquence peptidique étant différentes de celles qui sont adjacentes à SEQ ID NO : 12 dans la séquence de la fibronectine humaine, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou
- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2.

L'invention concerne notamment une séquence peptidique telle que définie ci-dessus, comprenant ou étant constituée :

- de SEQ ID NO : 12, ou
- de SEQ ID NO : 14, ou
- 5 - de SEQ ID NO : 16, ou
- de SEQ ID NO : 18, ou
- de SEQ ID NO : 20, ou
- de SEQ ID NO : 24, ou
- de SEQ ID NO : 26, ou
- 10 - de SEQ ID NO : 28,

les séquences adjacentes aux extrémités des SEQ ID NO : 12, 14, 16, 18, 20, 24, 26 et 28 dans la séquence totale de ladite séquence peptidique étant différentes de celles qui sont respectivement adjacentes à SEQ ID NO : 12, 14, 16, 18, 20, 24, 26 et 28 dans la séquence de la fibronectine humaine.

15 La présente invention concerne également un acide nucléique, comprenant ou étant constitué d'une séquence codant pour l'une des séquence peptidiques telles que définies ci-dessus, ou son complémentaire.

L'invention concerne aussi un acide nucléique s'hybridant à un acide nucléique tel que définis ci-dessus, ou à son complémentaire, dans les conditions d'hybridation
20 suivantes : 0,75 M NaCl, 0,75 mM citrate de sodium, 60°C .

La présente invention concerne également un acide nucléique comprenant ou étant constitué d'une séquence correspondant :

- au minimum à la séquence s'étendant des nucléotides 1099 à 1593 (SEQ ID NO : 13) de SEQ ID NO : 9 et au maximum à la séquence SEQ ID NO : 25, les
25 séquences adjacentes aux extrémités de SEQ ID NO : 25 dans ledit acide nucléique étant différentes de celles qui sont adjacentes à SEQ ID NO : 11 dans la séquence de la fibronectine humaine, ou
- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un nucléotide, sous réserve que ledit acide
30 nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou
- à une séquence possédant une homologie d'au moins 75 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2,

ou son complémentaire.

La présente invention concerne également un acide nucléique comprenant ou étant constitué d'une séquence correspondant :

- au minimum à la séquence s'étendant des nucléotides 1099 à 1593 (SEQ ID NO : 13) de SEQ ID NO : 9 et au maximum à la séquence SEQ ID NO : 11, les séquences adjacentes aux extrémités de SEQ ID NO : 11 dans ledit acide nucléique étant différentes de celles qui sont adjacentes à SEQ ID NO : 11 dans la séquence de la fibronectine humaine, ou

- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un nucléotide, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- à une séquence possédant une homologie d'au moins 75 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2,

ou son complémentaire.

La présente invention concerne également un acide nucléique comprenant ou étant constitué d'une séquence correspondant :

- au minimum à la séquence s'étendant des nucléotides 808 à 1593 (SEQ ID NO : 15) de SEQ ID NO : 9 et au maximum à la séquence SEQ ID NO : 11, les séquences adjacentes aux extrémités de SEQ ID NO : 11 dans ledit acide nucléique étant différentes de celles qui sont adjacentes à SEQ ID NO : 11 dans la séquence de la fibronectine humaine, ou

- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un nucléotide, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- à une séquence possédant une homologie d'au moins 75 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2,

ou son complémentaire.

L'invention concerne plus particulièrement un acide nucléique tel que défini ci-dessus, comprenant ou étant constitué d'une séquence correspondant :

- à SEQ ID NO : 11, ou

- à SEQ ID NO : 13, ou
- à SEQ ID NO : 15, ou
- à SEQ ID NO : 17, ou
- à SEQ ID NO : 19, ou
- à SEQ ID NO : 23, ou
- à SEQ ID NO : 25, ou
- à SEQ ID NO : 27,

les séquences adjacentes aux extrémités de SEQ ID NO : 11, 13, 15, 17, 19, 23, 25 et 27 dans ledit acide nucléique étant respectivement différentes de celles qui sont adjacentes aux SEQ ID NO : 11, 13, 15, 17, 19, 23, 25 et 27 dans la séquence de la fibronectine humaine,

ou son complémentaire.

L'invention concerne notamment un vecteur d'expression eucaryote ou procaryote comprenant un acide nucléique tel que défini ci-dessus.

Selon un autre mode de réalisation la présente invention concerne une cellule eucaryote ou procaryote transformée par un acide nucléique tel que défini dans les compositions décrites ci-dessus.

L'invention concerne également un anticorps dirigé contre une séquence peptidique telle que définie dans l'une des utilisations ci-dessus.

Cet anticorps peut notamment être préparé selon des méthodes bien connues de l'homme de l'art, par injection des séquences peptidiques selon l'invention à des animaux tels que des chevaux, des lapins, des rats ou des souris et l'extraction du sérum desdits animaux.

Un tel anticorps est notamment utile pour la fabrication de kits permettant de doser les séquences peptidiques selon l'invention, par exemples dans des fluides ou des tissus naturels, tels que du sang, du sérum, du plasma ou des extraits de muscles par exemple. Le dosage peut par exemple être réalisé selon la méthode ELISA.

L'invention concerne également des fragments de l'anticorps ci-dessus, tels que des fragments Fab, F(ab)'₂ ou scFv par exemple.

L'invention concerne également un anticorps anti-idiotypique dirigé contre le paratope de l'anticorps défini ci-dessus.

DESCRIPTION DES FIGURES

Figure 1

La Figure 1 représente les résultats d'un test ELISA mesurant l'interaction établie entre le
facteur FGF-2 fixé sur les parois des puits d'une plaque de microtitration et la fibstatine, la
présence de fibstatine étant révélée par un anticorps marqué à la peroxydase de raifort. L'axe
des ordonnées représente la densité optique à 490 nm. L'axe des abscisses représente la
concentration en fibstatine (en $\mu\text{g/ml}$).

Figure 2

La Figure 2 représente l'effet de milieu conditionné dilué au 3/4 (colonne noire) ou au 1/2
(colonne blanche) contenant de la fibstatine (Fib) ou de l'endostatine (Endo) sur la croissance
de cellules endothéliales en culture, par comparaison avec des cellules endothéliales témoins
(colonne hachurée). L'axe des ordonnées représente le pourcentage de croissance par rapport
à la croissance des cellules témoins.

Figure 3

La Figure 3 représente l'effet de la fibstatine recombinante (colonnes noires) ou de
l'endostatine recombinante (colonnes blanches) sur la croissance de cellules endothéliales en
culture. L'axe des ordonnées représente le pourcentage d'inhibition de croissance par rapport
à la croissance de cellules témoins, l'axe des abscisses représente la concentration en protéine
recombinante (en $\mu\text{g/ml}$).

Figure 4

La Figure 4 représente l'effet de la fibstatine (colonne blanche) sur la croissance de cellules
non-endothéliales B16 et NIH-3T3 par rapport à un témoin (colonne noire). L'axe des
ordonnées représente le pourcentage de croissance cellulaire.

Figure 5

La Figure 5 représente l'effet de la fibstatine sur la migration cellulaire de cellules
endothéliales. L'effet de la fibstatine et du FGF-2 est comparé à l'effet du FGF-2 seul. L'axe
des ordonnées représente le nombre de cellules ayant migré.

Figure 6A, Figure 6B, Figure 6C et Figure 6D

Les Figures 6A, B, C et D représentent l'effet de la fibstatine sur la différenciation cellulaire en tubules des cellules endothéliales.

La Figure 6A est une photographie représentant des cellules endothéliales (points noirs) cultivées en MatriGel™ (Becton et Dickinson, Bedford, MA) en absence de FGF-2 et de fibstatine.

La Figure 6B est une photographie représentant des cellules endothéliales (traits noirs) cultivées en MatriGel™ en présence de FGF-2 et en absence de fibstatine.

La Figure 6C est une photographie représentant des cellules endothéliales (points noirs) cultivées en MatriGel™ en présence de FGF-2 et de fibstatine.

La Figure 6D représente la tailles des tubules formés à partir des cellules endothéliales cultivées en absence de FGF-2 et de fibstatine (colonne de gauche), en présence de FGF-2 et en absence de fibstatine (colonne du milieu) et en présence de FGF-2 et de fibstatine (colonne de droite). L'axe des ordonnées représente la taille des tubules (en unités arbitraires).

Figure 7

La Figure 7 représente l'effet de la fibstatine sur la migration de cellules endothéliales *in vivo*. Le nombre de cellules endothéliales ($\times 10^4$) ayant colonisé 100 mg de MatriGel™ est représenté en ordonnée, en fonction de l'ajout dans le gel de FGF-2 (colonne noire), de FGF-2 et de fibstatine (colonne hachurée) et de FGF-2 et d'endostatine (colonne blanche).

Figure 8

La Figure 8 représente le schéma du plasmide pSCT-Fib. Les sites de restriction sont représentés avec leur localisation en kb. Amp représente le gène de résistance à l'ampicilline, CMV représente le promoteur du cytomégalo virus, pT7 représente le promoteur du phage T7, PS représente la séquence codant le peptide signal du VEGF, HA représente la séquence codant un épitope dérivé de l'hémagglutinine A, Fib His représente la séquence codante de la fibstatine fusionnée avec une étiquette hexahistidine, IVS2- β représente l'intron de la β -globine de lapin, Ori SV40 représente l'origine de réplication du virus SV40 et ORI représente une origine de réplication bactérienne.

Figure 9A et Figure 9B

La Figure 9A représente l'activité β -galactosidase (en ordonnées, unités arbitraires) exprimée par un plasmide co-injecté dans un muscle de souris avec un plasmide codant pour la

fibstatine (colonne hachurée), l'endostatine (colonne blanche) ou un plasmide témoin (colonne noire).

La Figure 9B représente la concentration sérique en endostatine (en ordonnée, ng/ml) pour une souris témoins (colonne noire) ou ayant reçu une injection de plasmide codant pour l'endostatine (colonne blanche).

Figure 10

La Figure 10 représente l'effet de la fibstatine sur la croissance tumorale. La masse de tumeurs de mélanome B16 (en ordonnées, mg) a été mesurée pour des souris ayant reçu une injection de cellules B16 et ayant été traitées par l'injection d'un plasmide témoin (colonne noire), ou d'un plasmide codant pour la fibstatine (colonne hachurée) ou l'endostatine (colonne blanche).

Figure 11

La Figure 11 représente la quantité d'activité β -galactosidase (en pourcentage de l'activité mesurée pour la fibstatine) (axe des abscisses) résultant de l'association en double hybride de fragments de la fibronectine et du facteur FGF-2.

Figure 12A et Figure 12B

La Figure 12A représente des sections de tumeurs marquées par un anticorps anti-CD31 pour une souris témoins (en haut, droite et gauche), une souris traitées à l'endostatine (au milieu, droite et gauche) et une souris traitée à la fibstatine (en bas, droite et gauche). Les flèches blanches représentent des segments, des embranchements et des lumières de vaisseaux sanguins.

La Figure 12B représente le pourcentage de vaisseaux sanguins marqués par un anticorps anti-CD31 pour une souris témoins (colonne hachurée), une souris traitées à l'endostatine (colonne blanche) et une souris traitée à la fibstatine (colonne noire).

EXEMPLES

EXEMPLE 1

Identification de fragments de fibronectine se liant au facteur FGF-2 par la méthode du double hybride

Le système de clonage et d'expression double-hybride a été réalisé comme décrit par Van den Berghe *et al. Mol. Endocrinol.* (2000) Nov, 14(11), 1709-1724. Brièvement la forme de 18 kDa du facteur FGF-2 a été utilisée comme appât, et l'ADNc correspondant a été inséré dans le vecteur pAS2 (Clontech). Une banque humaine de placenta (Clontech, Palo Alto, CA) clonée dans le vecteur pACT2 (Clontech) a été criblée dans la souche Y190 (Clontech) de *Saccharomyces cerevisiae*. L'activité β -galactosidase d'extraits obtenus à partir de 10 colonies de levures poussées sur la nuit dans 4 ml de milieu de sélection (DOB-Trp/-Leu) (milieu "Drop Out Base" : sans tryptophane, sans leucine), a été mesurée à l'aide du test Galacto-Light (Tropix Inc. Bedford, MA) dans les conditions décrites par le fabriquant.

Le criblage de la banque de placenta en utilisant comme appât la forme du FGF-2 de 18 kDa (155 a.a.) a permis d'isoler deux clones A et B contenant chacun un ADNc codant pour une protéine susceptible d'interagir avec le FGF-2. Après séquençage et recherche d'homologie dans les banques de données, il a pu être mis en évidence que les deux ADNc isolés étaient identiques à 100 % à une région particulière de l'ADNc codant pour la fibronectine

L'un des fragments clonés, le fragment A, présente une taille de 1593 paires de bases et code pour un fragment de fibronectine de 531 acides aminés tandis que le fragment B de 798 paires de bases code pour un fragment de 266 acides aminés, qui a été nommé fibstatine (Fib). Ces deux clones correspondent à la même région de la fibronectine. Le clone A correspond aux acides aminés 1447 à 1977 de la fibronectine (SEQ ID NO : 2) et le clone B aux acides aminés 1716 à 1981.

Afin de définir plus précisément la région responsable de la liaison au FGF-2, divers fragments dérivés du clone B ont été générés par PCR, clonés dans le plasmide pACT2 et testés en double hybride comme décrit ci-dessus. Ces fragments sont les suivants:

- un fragment issu d'un clone C correspondant aux résidus 1721 à 1901 de la fibronectine,

- un fragment issu d'un clone D correspondant aux résidus 1813 à 1981 de la fibronectine,
- un fragment issu d'un clone E correspondant aux résidus 1813 à 1991 de la fibronectine,
- un fragment issu d'un clone F correspondant aux résidus 1721 à 1812 de la fibronectine
- un fragment issu d'un clone G correspondant aux résidus 1812 à 1901 de la fibronectine
- 5 - un fragment issu d'un clone H correspondant aux résidus 1902 à 1981 de la fibronectine.

Les résultats obtenus sont portés dans le tableau 1 ci-dessous :

Clone testé	Interaction avec FGF-2
A	++
B	+++
C	-
D	+++
E	-
F	-
G	-
H	+

Tableau 1 : résultat du test en double hybride de l'interaction entre des fragments de fibronectine et le facteur FGF-2

Ces résultats sont également présentés dans la **Figure 11**.

Le sous-fragment D de la fibstatine semble donc être porteur de l'activité de liaison au FGF-2.

Par ailleurs, il est envisageable que *in vivo* le fragment E ait une activité de liaison à FGF-2 suite à une coupure protéolytique, *a contrario* il semble également possible que les fragments C, F et G puissent s'associer à un autre fragment protéique pour reconstituer un fragment actif.

Afin de vérifier la spécificité d'interaction du FGF-2 avec la fibstatine, l'interaction de ce fragment avec d'autres membres de la famille des FGF : le FGF-1, le FGF-3 et le FGF-6, a été testée en double hybride. Pour cela, les ADNc codant pour différents membres de la famille des FGF et la fibstatine ont été fusionnés au domaine de liaison à l'ADN (DB) ou au domaine d'activation (AD) de Gal4 et co-transfectés dans la levure. Les intensités

d'interactions évaluées par la mesure de l'activité β -galactosidase ont révélé que la fibstatine interagissait de manière spécifique avec le FGF-2.

EXEMPLE 2

5 Effets anti-angiogénique *in vitro* de fragments de fibronectine se liant au facteur FGF-2

1. Clonage du gène de la Fibstatine

La séquence codante de la fibstatine a été amplifiée par PCR à partir du plasmide pACT2 contenant l'ADNc de la fibstatine isolé par le criblage en double-hybride. L'amorce sens était
10 5'-AAACTCGAGACCATGGGAACCCAGTCCACAGCT-3' (SEQ ID NO : 31) et l'amorce antisense 5'-AAAGGATCCTTACTTCAGGGCAATGACATA-3' (SEQ ID NO : 32). La séquence codante de l'endostatine (Endo) a été amplifiée par RT-PCR à partir d'ARN de cellules NIH-3T3. L'amorce sens était 5'-AAACCATGGGAATTCATACTCATCAGGAC
15 TTTTCAGCC-3' (SEQ ID NO : 33) et l'amorce antisens 5'-GGATCCTTAC TATTTGGAGAAAGAGGTCATGAAGC-3' (SEQ ID NO : 34). Les séquences codantes de la fibstatine et de l'endostatine ont alors été insérées dans le plasmide pET-15b (Novagen) en phase avec l'étiquette histidine pour la production de protéines recombinantes dans *Escherichia coli*, pour donner les plasmides pET-Fib et pET-Endo. Les ADNc de la fibstatine et de l'endostatine ont également été clonés dans les vecteurs d'expression eucaryotes,
20 pUHD10-3 (Grossen & Bujard, 1992, *PNAS* (1992) June 15 ; 89(12) 5547-5551) pour former pUHD-Fib et pUHD-Endo, et pSCT (Prats, 1992, *Mol. Cell. Biol.* (1992) Octobre ; 12(10) 4796-4805), pour former pSCT-Fib (**Figure 8**) et pSCT-Endo, en phase avec le peptide signal de VEGF-A (Huez *et al.*, 2001, *Mol. Endocrinol.* (2001) décembre 15(12) 2197-2210) et l'épitope HA (épitope hémagglutinine), utilisables respectivement pour une expression en
25 milieu conditionné et en électrotransfert. Toutes les séquences ont été vérifiées par séquençage à l'aide du kit ABI Prism Dye Terminator (Applied Biosystems, Foster City, CA).

2. Production de la fibstatine

a. Production en milieu conditionné

30 Des cellules HeLa HT (Cayrol, *Journal of Virology*, July 1995 ; 69(7) 4206-4212) ensemencées à $1,2 \times 10^6$ par boîte de diamètre 100 mm ont été transfectées au Fugene (Roche, Allemagne) le lendemain, par 17 μ g de plasmide pUHD-Fib, pUHD-Endo ou pUHD10-3. 24h après la transfection, les cellules ont été incubées dans 6 ml de milieu DMEM (Dulbecco Modified Eagle Medium)(Invitrogen) + 1 % SVF (Sérum de Veau Fœtal). Le milieu

conditionné a été récupéré 24h après, centrifugé 5 min à 1700 tpm, filtré (sur filtre de 45 µm) et congelé à - 80°C.

b. Production par Escherichia coli

5 Des bactéries *E. coli* BL21 ont été transformées avec les plasmides pET-Fib, pET-Endo ou un plasmide contrôle permettant l'expression de la GST (Glutathion S Transférase) fusionnée aux 6 histidines. 100 ml de culture bactérienne sur la nuit a ensuite été diluée dans un litre de milieu LB (Luria-Bertani). L'expression des protéines a été induite à une DO_{600 nm} de 0,6-0,8 par addition d'IPTG (isopropyl-β-D-thiogalactopyranoside) à la concentration de 0,5 mM.

10 Après 4h d'expression à 37°C, les bactéries ont été récupérées par centrifugation 10 min à 5000 tpm. Le culot bactérien a alors été lysé par resuspension dans 30 ml de tampon A (Tris 20 mM pH 7,4, NaCl 0,5 M, chlorure de guanidinium 6 M, octylglucoside 4 mM, imidazole 10 mM). La suspension de bactéries a été soniquée puis centrifugée à 13000 tpm durant 30 min. Le surnageant obtenu a été incubé avec 0,75 ml de billes de nickel-agarose préalablement

15 équilibrées dans le tampon A. Après 2 h d'incubation sur une roue à 4°C, les billes ont été lavées successivement par 50 ml de Tampon B (Tris 20 mM pH 7,4, NaCl 2 M, urée 6 M, imidazole 20 mM) puis par 100 ml de Tampon C (Tris 20 mM pH 7,4, NaCl 0,15 M, imidazole 20 mM). Après le dernier lavage, les billes ont été déposées sur une colonne de chromatographie Polyprep (Biorad) et éluées avec des fractions de 500 µl de Tampon C

20 contenant 200 mM d'imidazole. La présence de protéine a été vérifiée par dosage de Bradford (BioRad 500-0114, Californie) et SDS-PAGE suivi d'une coloration au bleu de Coomassie.

c. Production en cellules d'insecte

Les ADNc codant pour la fibstatine et l'endostatine fusionnées avec 6 histidines ont été

25 clonés dans un vecteur permettant leur expression et leur sécrétion par le système Baculovirus. Les protéines sécrétées dans le milieu de culture des cellules d'insecte, dépourvu de sérum, ont été purifiées par précipitations successives au sulfate d'ammonium (20, 50 puis 80 %). La majorité des protéines recombinantes se trouvant dans la fraction 50 %, celle-ci a été dialysée dans du PBS à 4°C et les protéines ont été purifiées sur colonne de nickel

30 agarose. Après plusieurs lavages au PBS + 20 mM imidazole, les protéines ont été éluées par du PBS + 200 mM imidazole. La présence de protéine est vérifiée par dosage de Bradford et SDS-PAGE suivi d'une coloration au bleu de Coomassie.

3. Interaction de la fibstatine avec le facteur FGF-2

Une plaque de 96 puits a été tapissée sur la nuit à 4°C par du FGF-2 ou de la SAB (Sérum Albumine Bovine) à 10 µg/ml. La plaque a été rincée avec du PBS-tween 0,2% et 100 µl de solution de blocage ont été ajoutés par puits pendant 1 h à 37°C. La solution de blocage a été évacuée et la plaque rincée. Des concentrations variables de fibstatine avec une étiquette histidine ont été ajoutées pendant 2 h à 37°C. Après trois rinçages, des anticorps dirigés contre l'étiquette histidine conjugués à de la peroxydase de raifort (1/1000) ont été ajoutés pendant 1 h à 37°C. Trois rinçages ont alors été effectués et les complexes ont été révélés à l'aide de 100 µl par puits de o-phénylènediamine (4 mg/ml) contenant 0,03% (v/v) de peroxyde d'hydrogène dans 0,1 M de tampon citrate, pH 5,0. Après 20 minutes, les réactions ont été arrêtées avec 50 µl de H₂SO₄ 2 M et l'absorbance a été mesurée à 490 nm.

Les résultats obtenus après soustraction du signal non spécifique (interaction Fib/BSA) révèlent que la fibstatine est capable d'interagir de manière directe et dose dépendante avec le FGF-2 (**Figure 1**).

4. Effets de la fibstatine sur les cellules endothéliales

a. Culture des cellules

Les cellules ont été cultivées dans du DMEM supplémenté en glutamine (1 %), amphotéricine B (1 %), gentamicine (0,5 %) et par 10 % SVF ou 10 % SV (Sérum de Veau nouveau né) pour les cellules HeLa (numéro ATCC : CCL2) et ABAE respectivement (Couderc, 1991, *Cell. Regul.*, vol 2, pages 709-718). Les cellules ABAE ont par ailleurs été cultivées en présence de 1 ng/ml de FGF-2. Les cellules B16 (ATCC CRL6475) ont été cultivées en RPMI (Roswell Park Memorial Institute) supplémenté en glutamine (1 %), amphotéricine B (1 %), gentamicine (0,5 %) et en 10 % SV. Les cellules ont été cultivées dans des étuves à 5 % CO₂ pour les cellules HeLa et B16 et 10 % CO₂ pour les ABAE.

b. Inhibition de la prolifération

Pour le test de prolifération, les cellules ABAE ont étéensemencées à 5×10^4 cellules/ml de milieu. Le lendemain le milieu a été changé et les cellules ont été incubées en présence de milieu conditionné préparé selon le paragraphe 2a et dilué au 1/4 ou au 1/2 en présence de 0,5 ng/ml de FGF-2. 72h après, les cellules ont été trypsinées et comptées.

Les résultats obtenus représentés **Figure 2** montrent que la présence de Fib dans le milieu inhibe la prolifération des ABAE de manière comparable à celle de l'endostatine.

Des expériences similaires ont été réalisées avec de la fibstatine recombinante préparée chez *E. coli*.

Les résultats obtenus après comptage des cellules et représentés **Figure 3** confirment l'effet inhibiteur et dose-dépendant de la fibstatine sur la prolifération des ABAE stimulées par FGF-2. En effet, à 1 µg/ml Fib inhibe à 50% la prolifération des cellules induite par FGF-2. De plus, dans nos conditions expérimentales, l'effet de la fibstatine paraît supérieur à celui de l'endostatine.

Les fragments anti-angiogéniques décrits jusqu'à présent inhibent de manière spécifique la prolifération des cellules endothéliales. Afin de vérifier si Fib présente cette même caractéristique, l'effet de Fib a été testé sur la prolifération de fibroblastes NIH-3T3 et sur celle de cellules de mélanome B16. Les résultats présentés **Figure 4** révèlent que la fibstatine ne provoque aucune inhibition de la prolifération de ces cellules, suggérant que l'effet anti-prolifératif de Fib est spécifique des cellules endothéliales.

c. Inhibition de la migration

3×10^5 cellules ABAE ont étéensemencées dans des boîtes de diamètre 35 mm dans leur milieu de culture supplémenté en FGF-2 (1 ng/ml). Après 48h, les cellules ont été cultivées en absence de sérum durant 24h. Une "blessure" a ensuite été réalisée sur le tapis cellulaire à l'aide d'un cône, les cellules ont été lavées et incubées dans du milieu sans sérum supplémenté en FGF-2 (5 ng/ml) en présence ou non de 1 µg/ml de Fib ou d'endostatine. Les cellules ayant migré sur la "blessure" ont été comptabilisées 14 h plus tard.

Les résultats présentés **Figure 5** montrent que la fibstatine inhibe fortement l'effet activateur du FGF-2 sur la migration des ABAE.

d. Inhibition de la différenciation

La fibstatine a été testée dans un modèle d'angiogenèse *in vitro* permettant d'évaluer le niveau de tubulogénèse de cellules endothéliales.

Des plaques de 24 puits ont été tapissées avec 300 µl de MatriGel™ par puits (mélange de protéines issues de membranes basales de sarcomes murins à teneur réduite en facteurs de croissance, liquide à 4°C et solide à 37°C (Becton et Dickinson, Bedford, MA)), et laissées à polymériser pendant 1 h à 37°C. Des cellules ABAE (2×10^5 cellules/ml) en suspension dans 500 µl de milieu de culture ont été ajoutées dans chaque puits. Du FGF-2 (0,5 ng/ml) avec ou sans fibstatine (1 µg/ml) a été ajouté aux puits et les plaques ont été incubées sur la nuit à

37°C. Après le retrait du milieu, la culture a été fixée et la longueur du réseau de tubules a été mesurée à l'aide du système Q Win de Leica (Leica microsystem, Rueil-Malmaison, France).

Les résultats présentés **Figures 6A, B, C et D** révèlent que l'addition de 1 µg de Fib inhibe la formation des tubules. L'absence de toxicité dans ces conditions a été vérifiée par mesure de LDH (Lactate déhydrogénase) libérée dans le milieu de culture à l'aide du Kit CytoTox 96 (Promega).

Alternativement, le protocole suivant a également été utilisé.

Des gel tridimensionnels de collagène ont été préparés en mélangeant 7,5 volumes d'une solution de collagène de type I de tendons de queues de rats (2 mg/ml, Sigma) avec un volume de milieu minimum essentiel 10X (Gibco), 1,5 volumes de bicarbonate de sodium (15,6 mg/ml) et 0,1 volume de NaOH 1M, sur la glace. 400 µl de ce mélange ont été répartis dans des puits de culture de cellules de 18 mm et ont été laissés former un gel à 37°C pendant 30 min. Des cellules BAE ou ACE ont alors étéensemencées sur les gels de collagène à 1,0x10⁵ cellules/puits dans 500 µl de DMEM F12 supplémentés par 10% de sérum de veau nouveau né et ont été laissés à croître jusqu'à confluence (2 à 3 jours). Ensuite, la concentration de sérum a été réduite à 2% et les cellules ont été traitées par du FGF-1 (20 ng/ml) + héparine (500 ng/ml), du FGF-2 (20 ng/ml), ou du VEGF (20 ng/ml), ou n'ont pas été traitées (témoins), en présence ou en absence de fibstatine ou d'endostatine.

Les milieux et les traitements ont été renouvelés après 2 et 4 jours. Les cellules ont été photographiées après 4 à 7 jours.

EXEMPLE 3

Effets anti-angiogénique et anti-tumoral *in vivo* de fragments de fibronectine se liant au facteur FGF-2

1. Animaux utilisés

Des souris C57Bl/6 âgées de 6 à 10 semaines ont été maintenues dans des cages en acier inoxydable en groupe de 5, à température contrôlée avec des cycles jour-nuit de 12 heures, et nourries avec de la nourriture de laboratoire standard. Toutes les procédures ont été réalisées selon les recommandations de l'*European Accreditation of Laboratory Animal Care*.

2. Inhibition de l'angiogenèse *in vivo*

300 µl de MatriGel™ supplémentés avec 100 ng de FGF-2 en présence ou non de 10 µg de fibstatine ou d'endostatine (préparés dans des cellules d'insectes), ont été injectés en sous-cutané à des souris femelles C57Bl/6. 1 semaine après, les implants de MatriGel™ ont été
5 récupérés, dissous par du MatriSpere (Beckton et Dickinson) et les cellules endothéliales comptées à la cellule de Malassez.

Comme le montre la **Figure 7**, la fibstatine inhibe à 50 % l'angiogenèse induite par FGF-2, cet effet est supérieur à celui induit par l'endostatine.

3. Inhibition de la croissance tumorale *in vivo*

Afin d'évaluer l'effet anti-tumoral de la fibstatine, le plasmide l'exprimant a été électrotransféré *in vivo* à des souris porteuses de mélanomes B16.

Des souris femelles C57Bl/6 anesthésiées par injection intra-péritonéale de kétamine (150 mg/kg) ont reçu une injection sous cutanée de 10⁶ cellules tumorales B16 dans 100 µl de PBS
15 (temps d'incubation : environ 10 minutes avant injection des plasmides). 50 µg de plasmide (5µg de plasmide LacZ + 45 µg de pSCT Fib (**Figure 8**), pSCT Endo ou pSCT) préparés à l'aide du kit Maxiprep Endofree (Qiagen, France) et dilués dans 50 µl de PBS ont été injectés dans le quadriceps des souris avec une seringue 26G 0,45x10. Les plasmides injectés ont alors été immédiatement électrotransférés par deux électrodes de 10 mm de diamètre, séparées de 4
20 mm, en contact avec la peau à l'aide d'un appareil ElectroSquare Porator ECM830 (BTX, Genetronics, San Diego, CA) par 8 impulsions de 20 ms à 80V. L'efficacité de l'électroporation a été favorisée par l'utilisation d'un gel à ultrason appliqué sur la patte. L'injection suivie de l'électrotransfert des plasmides a été recommencée 5 jours plus tard. 10 jours après la première injection, les tumeurs et les muscles électrotransférés ont été récupérés
25 et pesés. Les muscles ont ensuite été lysés dans 350 µl de tampon de lyse β-Gal (Tropix) et homogénéisés à l'aide d'un ultra-turax (Polylabo). La suspension a été centrifugée à 13000 tpm durant 10 min. Le dosage de l'activité β-galactosidase a alors été réalisé sur 20 µl de surnageant à l'aide du kit Galacto Light™ (Tropix). Le sérum des souris a également été récupéré à l'aide de tubes Capiject (Terumo) contenant un gel de silice facilitant la
30 récupération du sérum. L'endostatine circulante a été dosée à l'aide du kit ELISA Mouse Endostatine Accucyte (Cytimmune).

Les résultats présentés **Figure 9A** confirment que les plasmides codant pour LacZ, co-injectés avec pSCT-Fib, pSCT-Endo ou pSCT, ont bien été injectés dans le muscle et étaient

correctement exprimés. Les résultats obtenus pour l'endostatine circulante dans le sérum des souris électrotransférées avec pSCT-Endo confirment que la protéine est bien exprimée et sécrétée, atteignant une concentration moyenne de 15 ng/ml dans le sérum des souris (**Figure 9B**).

5 L'analyse des tumeurs a permis de montrer que les souris ayant reçu une injection du plasmide pSCT-Fib présentent une masse tumorale diminuée de moitié par rapport aux souris injectées avec le plasmide contrôle. Les souris ayant reçu une injection du plasmide pSCT-Endo présentent également une diminution de leur masse tumorale mais statistiquement non significative (**Figure 10**). Les résultats ont été obtenus en utilisant 14 souris par groupe.

10

Par ailleurs ces résultats ont été complétés par une expérience similaire réalisée avec un plasmide pSCT-D exprimant le fragment D de l'Exemple I, correspondant aux résidus 1813 à 1981 de la fibronectine. Les résultats obtenus indiquent que l'injection intramusculaire de ce plasmide, suivie d'un électrotransfert, induit également une diminution de la masse tumorale
15 par rapport à des souris n'ayant reçu que le plasmide pSCT.

Afin de confirmer que l'effet du transfert du gène codant la fibstatine était dû à une inhibition de l'angiogenèse, des capillaires tumoraux ont été examinés par immunomarquage anti-CD31. Brièvement, la densité des microvaisseaux tumoraux a été analysée sur des sections congelées
20 (5 µm) de mélanomes B16 en utilisant un anticorps monoclonal de rat anti-CD31 de souris (Pharmingen, San Diego, CA). Après fixation dans du paraformaldéhyde pendant 1h à 4°C, les sections ont été lavées 3 fois par du PBS et ont été perméabilisées à l'aide d'un mélange PBS-0,25% Triton X100-3% SAB pendant une heure. Après un blocage à l'aide d'un mélange sérum de lapin 5% / PBS-Tween 0,1% pendant 1h à température ambiante, les
25 sections ont été incubées sur la nuit avec l'anticorps anti-CD31 de souris, dilué au 1/50 dans une solution de dilution d'anticorps (DAKO, Carpinteria, CA). Les sections ont été lavées trois fois à l'aide de PBS et incubées avec des IgG anti-rat (Vector Labs, Burlingame, CA) dilués au 1/200 dans une solution de dilution d'anticorps pendant 2h à température ambiante. Après trois lavages au PBS, un conjugué Streptavidine Alexa Fluor 488 (Molecular probes,
30 Eugene, OR) dilué au 1/200 dans une solution de dilution d'anticorps a été utilisé pour la détection des anticorps liés. Le logiciel Visolab 2000 (Biocom, Paris, France) a été utilisé pour quantifier la surface anti-CD31 marquée.

Comme représenté dans la **Figure 12A**, des sections représentatives de tumeurs de souris traitées par la fibstatine et l'endostatine présentent une diminution significative du marquage

de CD31, en comparaison de sections de tumeurs de souris contrôles. La quantification des microvaisseaux à un grossissement de 200 fois, indique que la surface positive au marquage de CD31 dans les tumeurs des souris contrôles était de $2,2\% \pm 0,58$ (moyenne $\pm$ écart type), à comparer à $0,74\% \pm 0,58$ et $0,94\% \pm 0,58$ pour les tumeurs traitées à la fibstatine et à l'endostatine respectivement (**Figure 12B**). Ensemble, ces résultats démontrent que le transfert du gène de la fibstatine inhibe la réponse angiogénique *in vivo*.

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus :

- 275 à 366 (SEQ ID NO : 4), et/ou

- 367 à 455 (SEQ ID NO : 6), et/ou

- 456 à 531 (SEQ ID NO : 8),

de SEQ ID NO : 10, et au maximum à une séquence correspondant à SEQ ID NO : 10, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2,

pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement de maladies liées à l'angiogenèse, telles que les cancers, la dégénérescence maculaire liée à l'âge, la rétinopathie diabétique, le psoriasis, ou l'arthrite rhumatoïde.

2. Utilisation selon la revendication 1, d'une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus :

- 275 à 366 (SEQ ID NO : 4), et/ou

- 367 à 455 (SEQ ID NO : 6), et/ou

- 456 à 531 (SEQ ID NO : 8),

de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 535 (SEQ ID NO : 12) de SEQ ID NO : 10, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2.

3. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, d'une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 367 à 531 (SEQ ID NO : 14) de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 535 (SEQ ID NO : 12) de SEQ ID NO : 10, ou
- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou
- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2.

4. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 3, d'une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 270 à 531 (SEQ ID NO : 16) de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 535 (SEQ ID NO : 12) de SEQ ID NO : 10, ou
- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou
- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2.

5. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, d'une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- de SEQ ID NO : 4, ou
- de SEQ ID NO : 6, ou
- de SEQ ID NO : 8, ou
- de SEQ ID NO : 10, ou
- de SEQ ID NO : 12, ou
- de SEQ ID NO : 14, ou
- de SEQ ID NO : 16, ou
- de SEQ ID NO : 18, ou

- de SEQ ID NO : 20, ou
- de SEQ ID NO : 22, ou
- de SEQ ID NO : 24, ou
- de SEQ ID NO : 26, ou
- de SEQ ID NO : 28, ou
- de SEQ ID NO : 30.

6. Utilisation d'un acide nucléique codant pour une séquence peptidique telle que définie dans l'une des revendications 1 à 5, ou de son complémentaire, pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement de maladies liées à l'angiogenèse, telles que les cancers, la dégénérescence maculaire liée à l'âge, la rétinopathie diabétique, le psoriasis, ou l'arthrite rhumatoïde.

7. Composition pharmaceutique comprenant à titre de substance active une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus :

- 275 à 366 (SEQ ID NO : 4), et/ou
- 367 à 455 (SEQ ID NO : 6), et/ou
- 456 à 531 (SEQ ID NO : 8),

de SEQ ID NO : 10, et au maximum à une séquence correspondant à SEQ ID NO : 10, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2,

en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

8. Composition pharmaceutique selon la revendication 7, comprenant à titre de substance active une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus :

- 275 à 366 (SEQ ID NO : 4), et/ou
- 367 à 455 (SEQ ID NO : 6), et/ou

- 456 à 531 (SEQ ID NO : 8),

de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 535 (SEQ ID NO : 12) de
SEQ ID NO : 10, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion,
suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite
séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des
séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente
une activité de liaison au facteur FGF-2,

en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

9. Composition pharmaceutique selon la revendication 7 ou 8, comprenant à titre de
substance active une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 367 à 531 (SEQ ID NO : 14)
de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 535 (SEQ ID NO : 12) de
SEQ ID NO : 10, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion,
suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite
séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des
séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente
une activité de liaison au facteur FGF-2,

en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

10. Composition pharmaceutique selon l'une des revendications 7 à 9, comprenant à
titre de substance active une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 270 à 531 (SEQ ID NO : 16)
de SEQ ID NO : 10, et au maximum des résidus 1 à 535 (SEQ ID NO : 12) de
SEQ ID NO : 10, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion,
suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite
séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2,
en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

5

11. Composition pharmaceutique selon l'une des revendications 7 à 10, comprenant à titre de substance active une séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- de SEQ ID NO : 4, ou
- de SEQ ID NO : 6, ou
- 10 - de SEQ ID NO : 8, ou
- de SEQ ID NO : 10, ou
- de SEQ ID NO : 12, ou
- de SEQ ID NO : 14, ou
- de SEQ ID NO : 16, ou
- 15 - de SEQ ID NO : 18, ou
- de SEQ ID NO : 20, ou
- de SEQ ID NO : 22, ou
- de SEQ ID NO : 24, ou
- de SEQ ID NO : 26, ou
- 20 - de SEQ ID NO : 28, ou
- de SEQ ID NO : 30.

en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

12. Composition pharmaceutique comprenant à titre de substance active un acide nucléique codant pour une séquence peptidique telle que définie dans l'une des revendications 7 à 11, ou son complémentaire, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

25

13. Composition pharmaceutique comprenant à titre de substance active un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

30

- au minimum aux séquences s'étendant des nucléotides :
 - 823 à 1098 (SEQ ID NO : 3), et/ou
 - 1099 à 1365 (SEQ ID NO : 5), et/ou
 - 1366 à 1593 (SEQ ID NO : 7),

de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 9, ou

- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un nucléotide, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- à une séquence possédant une homologie d'au moins 75 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2,

ou son complémentaire, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

14. Composition pharmaceutique selon la revendication 13, comprenant à titre de substance active un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- au minimum aux séquences s'étendant des nucléotides :

- 823 à 1098 (SEQ ID NO : 3), et/ou

- 1099 à 1365 (SEQ ID NO : 5), et/ou

- 1366 à 1593 (SEQ ID NO : 7),

de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 11, ou

- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un nucléotide, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

- à une séquence possédant une homologie d'au moins 75 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2,

ou son complémentaire, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

15. Composition pharmaceutique selon la revendication 13 ou 14, comprenant à titre de substance active un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

- au minimum à la séquence s'étendant des nucléotides 1099 à 1593 (SEQ ID NO : 13) de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 11, ou

- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un nucléotide, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

5 - à une séquence possédant une homologie d'au moins 75 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou son complémentaire, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

10

16. Composition pharmaceutique selon l'une des revendications 12 à 15, comprenant à titre de substance active un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

15

- au minimum à la séquence s'étendant des nucléotides 808 à 1593 (SEQ ID NO : 15) de SEQ ID NO : 9, et au maximum à SEQ ID NO : 11, ou

- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un nucléotide, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou

20

- à une séquence possédant une homologie d'au moins 75 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2,

ou son complémentaire, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

25

17. Composition pharmaceutique selon l'une des revendications 12 à 16, comprenant à titre de substance active un acide nucléique comprenant ou étant constituée d'une séquence correspondant :

30

- à SEQ ID NO : 3, ou

- à SEQ ID NO : 5, ou

- à SEQ ID NO : 7, ou

- à SEQ ID NO : 9, ou

- à SEQ ID NO : 11, ou

- à SEQ ID NO : 13, ou

- à SEQ ID NO : 15, ou
- à SEQ ID NO : 17, ou
- à SEQ ID NO : 19, ou
- à SEQ ID NO : 21, ou
- à SEQ ID NO : 23, ou
- à SEQ ID NO : 25, ou
- à SEQ ID NO : 27, ou
- à SEQ ID NO : 29,

ou son complémentaire, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

18. Composition pharmaceutique selon l'une des revendications 12 à 17, comprenant à titre de substance active un vecteur d'expression eucaryote comprenant un acide nucléique tel que défini dans l'une des revendications 12 à 17, ou son complémentaire, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

19. Composition pharmaceutique comprenant à titre de substance active une cellule eucaryote ou procaryote transformée par un acide nucléique tel que défini dans l'une des revendications 12 à 18, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

20. Composition pharmaceutique comprenant à titre substance active un anticorps anti-idiotypique dirigé contre le paratope d'un anticorps dirigé contre une séquence peptidique telle que définie dans l'une des revendications 1 à 5, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

21. Séquence peptidique comprenant ou étant constituée :

- d'une séquence s'étendant au minimum des résidus 367 à 531 (SEQ ID NO : 14) de SEQ ID NO : 10 et au maximum à une séquence correspondant à SEQ ID NO : 12, les séquences adjacentes aux extrémités de SEQ ID NO : 12 dans la séquence totale de ladite séquence peptidique étant différentes de celles qui sont adjacentes à SEQ ID NO : 12 dans la séquence de la fibronectine humaine, ou

- d'une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un acide aminé, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou
- d'une séquence possédant une homologie d'au moins 85 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ladite séquence peptidique présente une activité de liaison au facteur FGF-2.

22. Séquence peptidique selon la revendication 21, comprenant ou étant constituée :

- de SEQ ID NO : 12, ou
- de SEQ ID NO : 14, ou
- de SEQ ID NO : 16, ou
- de SEQ ID NO : 18, ou
- de SEQ ID NO : 20, ou
- de SEQ ID NO : 24, ou
- de SEQ ID NO : 28,

les séquences adjacentes aux extrémités des SEQ ID NO : 12, 14, 16, 18, 20, 24 et 28 dans la séquence totale de ladite séquence peptidique étant différentes de celles qui sont respectivement adjacentes à SEQ ID NO : 12, 14, 16, 18, 20, 24 et 28 dans la séquence de la fibronectine humaine.

23. Acide nucléique, comprenant ou étant constitué d'une séquence codant pour l'une des séquence peptidiques définies dans les revendications 21 et 22, ou son complémentaire.

24. Acide nucléique s'hybridant à un acide nucléique selon la revendication 23, ou à son complémentaire, dans les conditions d'hybridation suivantes : 0,75 M NaCl, 0,75 mM citrate de sodium, 60°C.

25. Acide nucléique comprenant ou étant constitué d'une séquence correspondant :

- au minimum à la séquence s'étendant des nucléotides 1099 à 1593 (SEQ ID NO : 13) de SEQ ID NO : 9 et au maximum à la séquence SEQ ID NO : 11, les séquences adjacentes aux extrémités de SEQ ID NO : 11 dans ledit acide nucléique étant différentes de celles qui sont adjacentes à SEQ ID NO : 11 dans la séquence de la fibronectine humaine, ou

- à une séquence dérivée des séquences définies ci-dessus par insertion, suppression ou mutation d'au moins un nucléotide, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou
- 5 - à une séquence possédant une homologie d'au moins 75 % avec l'une des séquences définies ci-dessus, sous réserve que ledit acide nucléique code une séquence peptidique qui présente une activité de liaison au facteur FGF-2, ou son complémentaire.

10 **26.** Acide nucléique selon la revendication 25, comprenant ou étant constitué d'une séquence correspondant :

- à SEQ ID NO : 11, ou
- à SEQ ID NO : 13, ou
- à SEQ ID NO : 15, ou
- 15 - à SEQ ID NO : 17, ou
- à SEQ ID NO : 19, ou
- à SEQ ID NO : 23, ou
- à SEQ ID NO : 27,

les séquences adjacentes aux extrémités de SEQ ID NO : 11, 13, 15, 17, 19, 23 et 27 dans ledit acide nucléique étant respectivement différentes de celles qui sont adjacentes aux SEQ ID NO : 11, 13, 15, 17, 19, 23 et 27 dans la séquence de la fibronectine humaine,

20 ou son complémentaire.

25 **27.** Vecteur d'expression eucaryote ou procaryote comprenant un acide nucléique tel que défini dans l'une des revendications 23 à 26.

28. Cellule eucaryote ou procaryote transformée par un acide nucléique tel que défini dans l'une des revendications 23 à 26.

30 **29.** Anticorps dirigé contre une séquence peptidique telle que définie dans l'une des revendications 1 à 5.

30. Anticorps anti-idiotypique dirigé contre le paratope de l'anticorps défini dans la revendication 29.

1/12

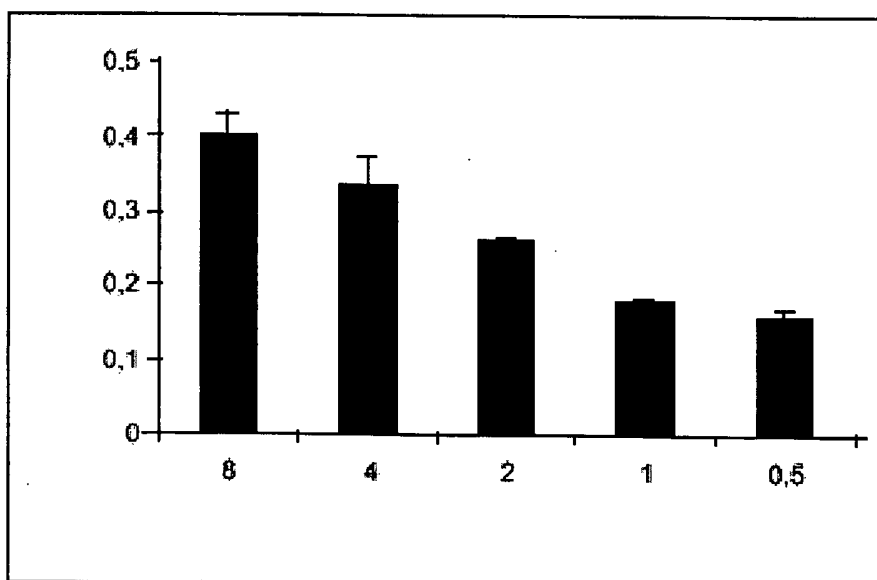


Figure 1

2/12

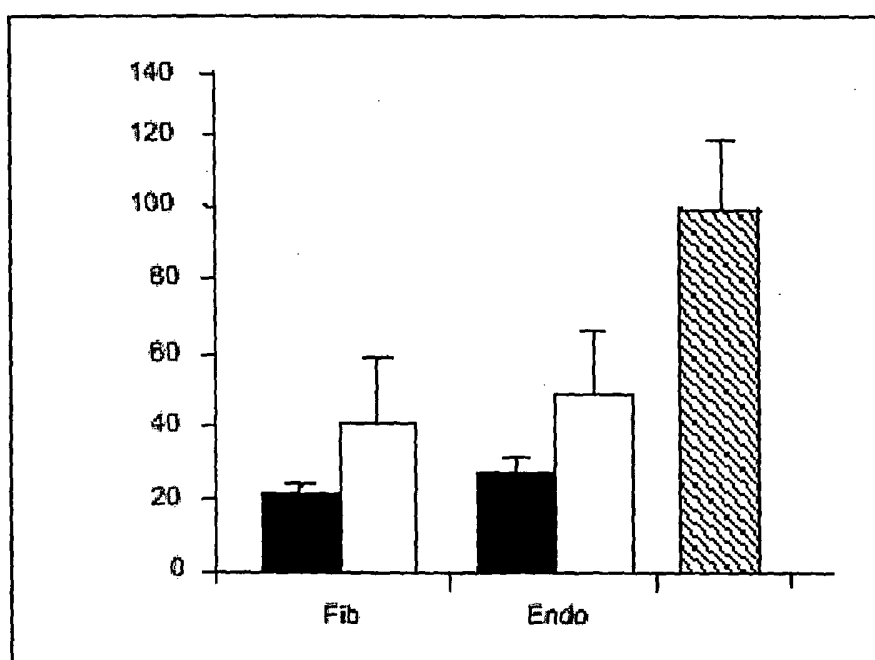


Figure 2

3/12

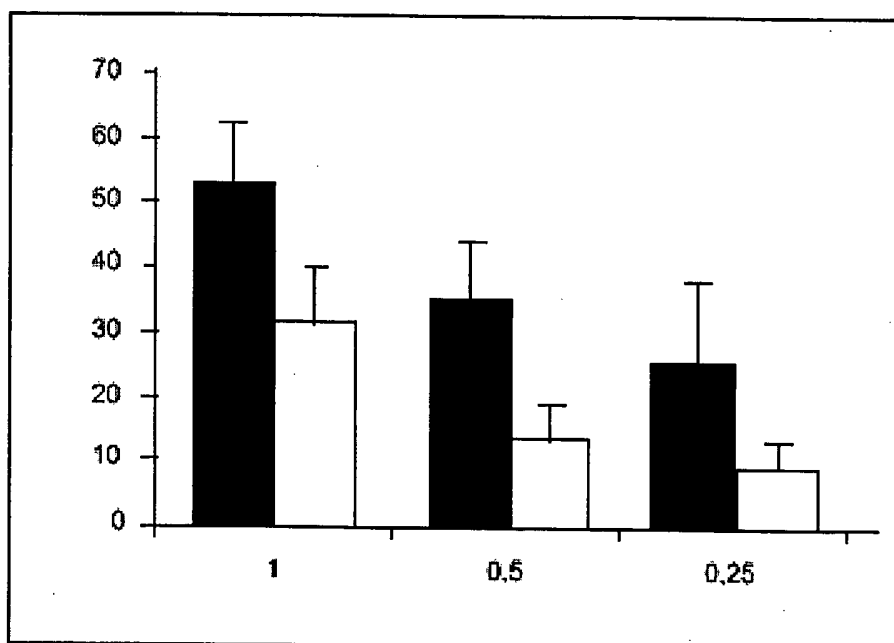


Figure 3

4/12

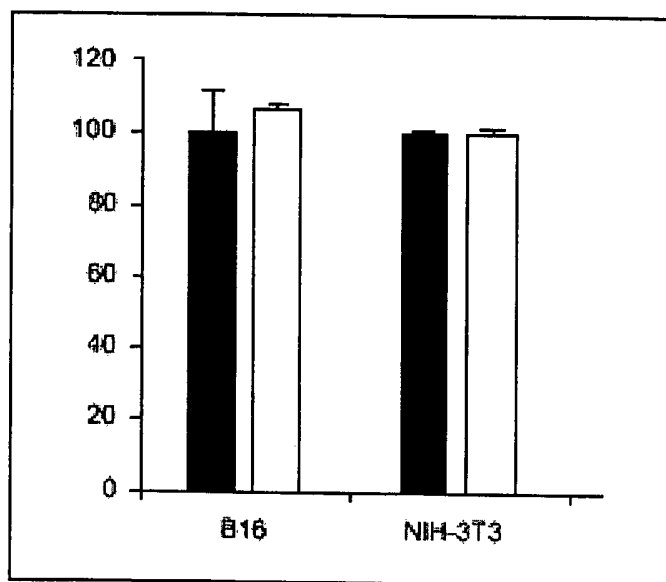


Figure 4

5/12

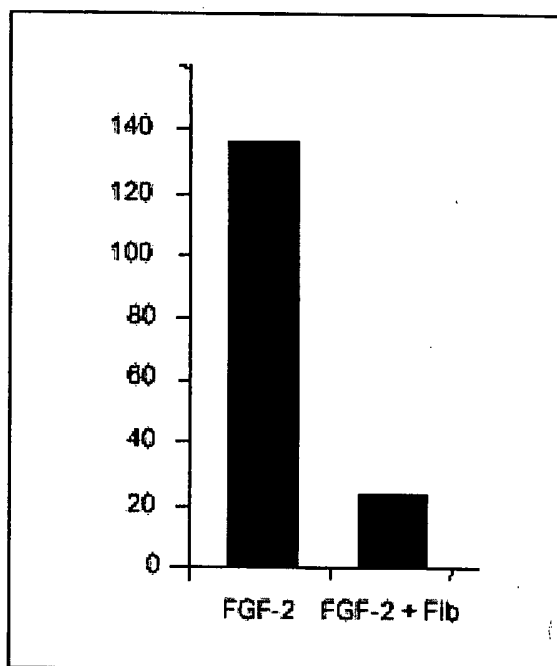


Figure 5

6/12

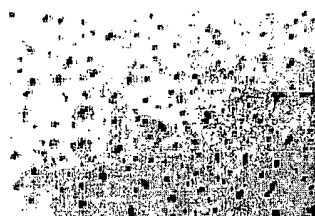


Figure 6A



Figure 6B

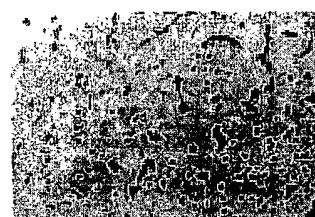


Figure 6C

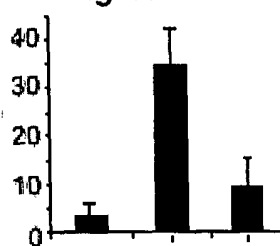


Figure 6D

7/12

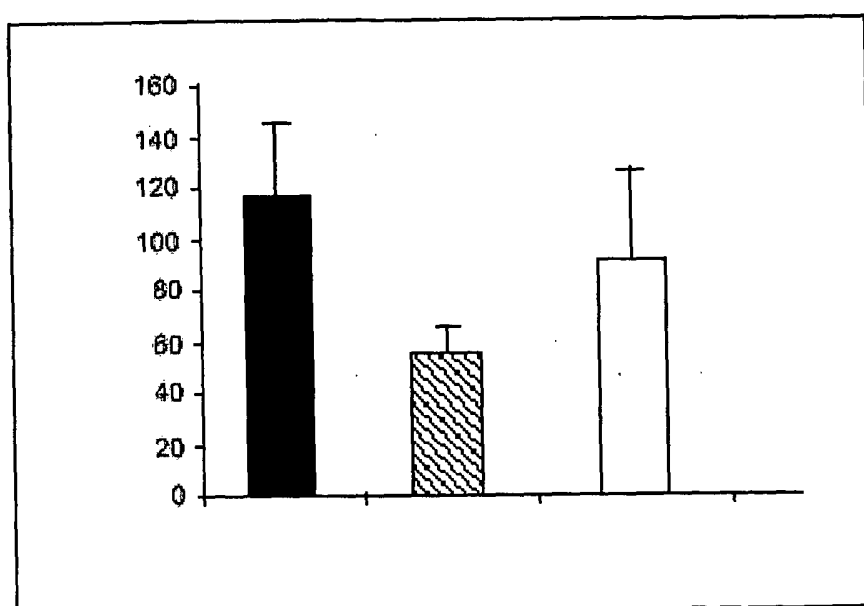


Figure 7

8/12

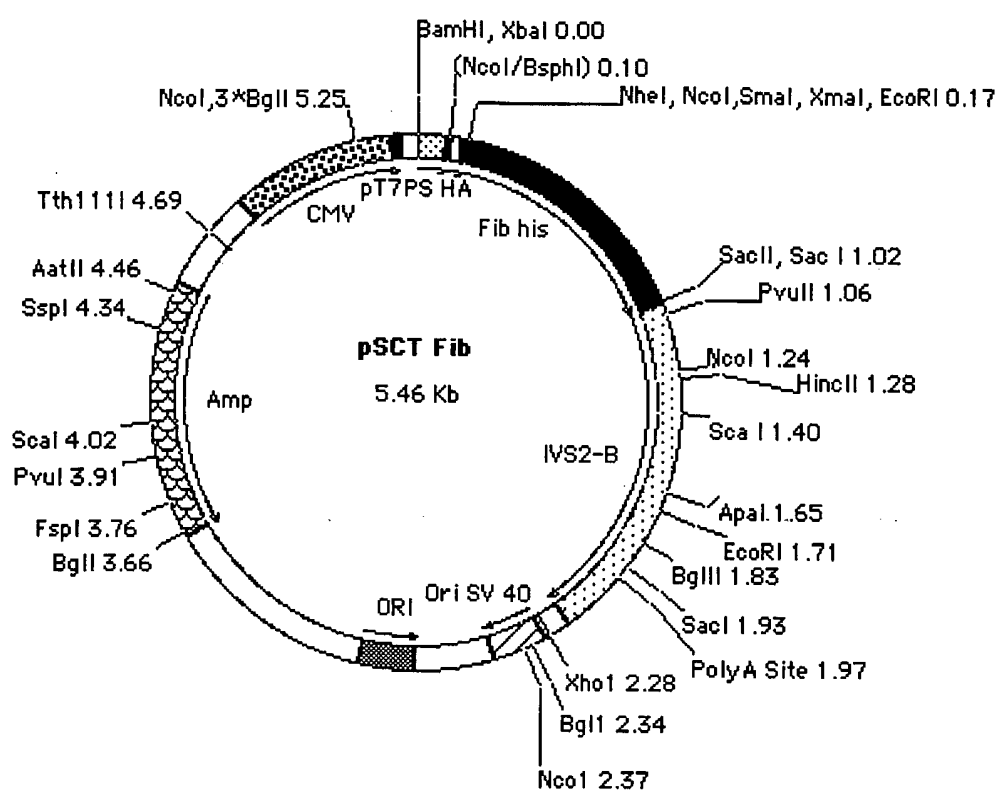
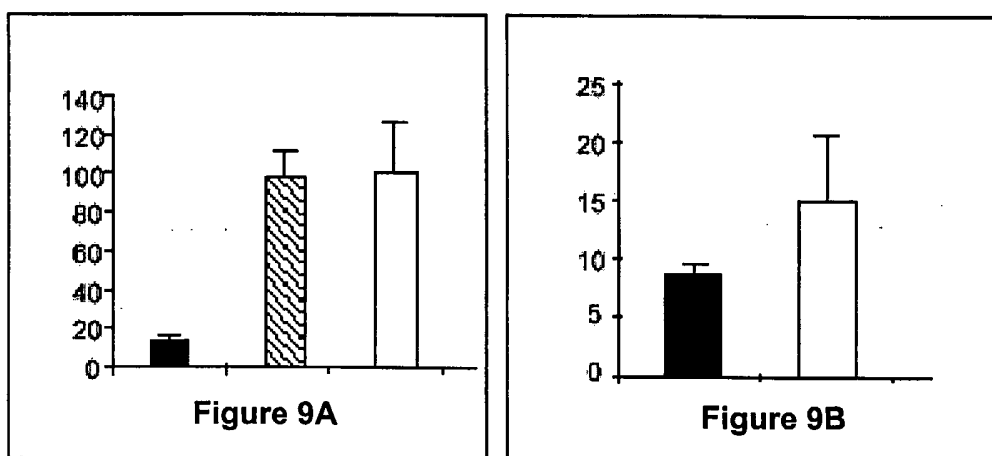


Figure 8

9/12



10/12

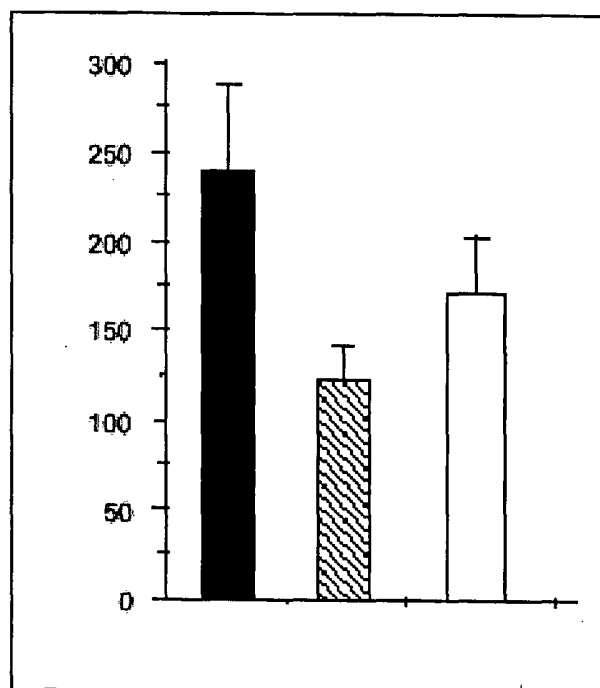


Figure 10

11/12

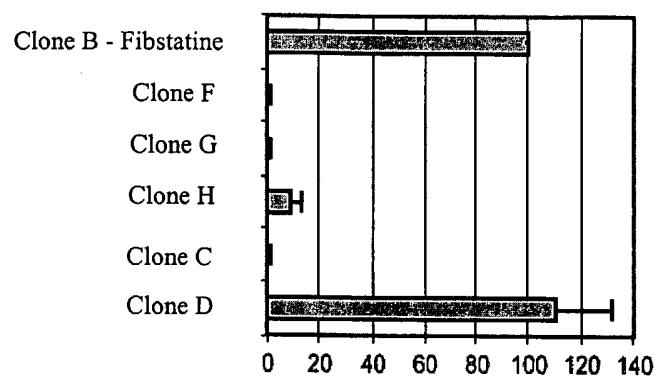


Figure 11

12/12

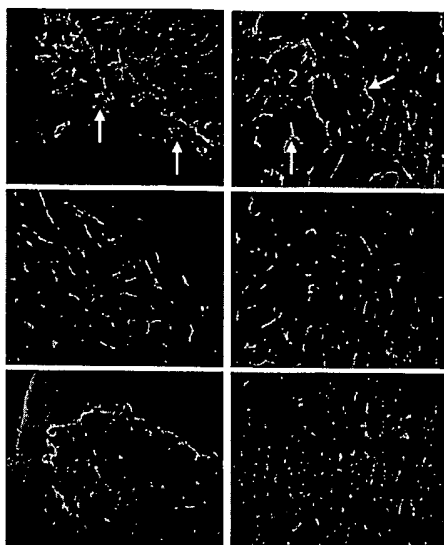


Figure 12A

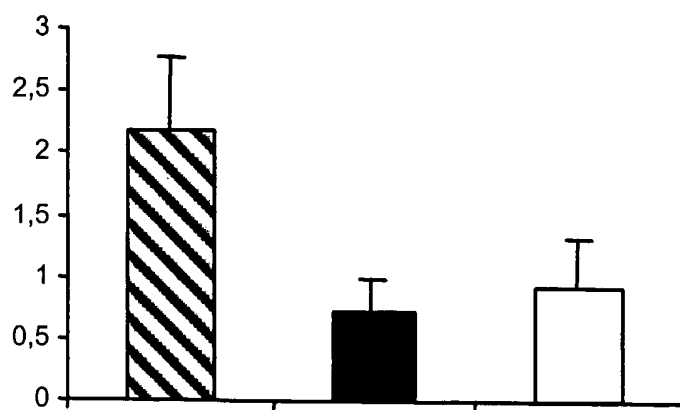


Figure 12B

- 1 -

LISTE DE SEQUENCES

<110> I.N.S.E.R.M.

<120> COMPOSES ANTI-ANGIOGENIQUES, COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES
LES COMPRENANT ET LEUR UTILISATION

<130> WOB 03 BN INS FIBS

<160> 34

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 7161

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 1

atgcttaggg	gtccggggcc	cgggctgctg	ctgctggccg	tcctgtgcct	ggggacagcg	60
gtgccctcca	cgggagcctc	gaagagcaag	aggcaggctc	agcaaattgt	tcagcccag	120
tccccgtgg	ctgtcagtc	aagcaagccc	ggttgttatg	acaatggaaa	acactatcag	180
ataaatcaac	agtgggagcg	gacctaccta	ggtaattgtg	tggttgtac	ttgttatgga	240
ggaagccgag	gttttaactg	cgaaagtaaa	cctgaagctg	aagagacttg	ctttgacaag	300
tacactggga	acacttaccg	agtgggtgac	acttatgagc	gtcctaaaga	ctccatgatc	360
tgggactgta	cctgcacog	ggctgggcga	gggagaataa	gctgtaccat	cgcaaaccgc	420
tgccatgaag	ggggtcagtc	ctacaagatt	ggtagacac	ggaggagacc	acatgagact	480
ggtggttaca	tgttagagt	tgtgtgtcct	ggtaattgga	aaggagaatg	gacctgcaag	540
cccatagctg	agaagtgtt	tgatcatgct	gctgggactt	cctatgtggt	cggagaaacg	600
tgggagaagc	cctaccaagg	ctggatgatg	gtagattgta	cttgccctggg	agaaggcagc	660
ggacgcatca	cttgcacttc	tagaaataga	tgcaacgatc	aggacacaag	gacatcctat	720
agaattggag	acacctggag	caagaaggat	aatcgaggaa	acctgctcca	gtgcatctgc	780
acaggcaacg	gcccaggaga	gtggaagtgt	gagaggcaca	cctctgtgca	gaccacatcg	840
agcggatctg	gccccctcac	ctagtgtcgt	gcagctgttt	accaaccgca	gcctcaccct	900
cagcctcctc	cctatggcca	ctgtgtcaca	gacagtgggt	tggctctact	tgtggggatg	960
cagtggttga	agacacaagg	aaataagcaa	atgctttgca	cgtgcctggg	caacggagtc	1020
agctgccaag	agacagctgt	aaccagact	tacgggtggc	acttaaatgg	agagccatgt	1080
gtcttaccat	tcacctacaa	tggcaggacg	ttctactcct	gcaccacgga	agggcgacag	1140
gacggacatc	tttgggtgcg	cacaacttcg	aattatgagc	aggaccagaa	atactctttc	1200
tgcacagacc	acactgtttt	ggttcagact	caaggaggaa	attccaatgg	tgccctgtgc	1260
cacttccct	tcctatacaa	caaccacaat	tacactgatt	gcacttctga	gggcagaaga	1320
gacaacatga	agtgggtgtg	gaccacacag	aactatgatg	ccgaccagaa	gtttgggttc	1380
tgccccatgg	ctgcccacga	ggaaatctgc	acaaccaatg	aaggggtcat	gtaccgcatt	1440
ggagatcagt	gggataagca	gcatgacatg	ggtcacatga	tgagggtgc	gtgtgttggg	1500
aatggtcgtg	gggaatggac	atgcattgcc	tactcgcaac	ttcgagatca	gtgcattgtt	1560
gatgacatca	cttacaatgt	gaacgacaca	ttccacaagc	gtcatgaaga	ggggcacatg	1620
ctgaactgta	catgcttcgg	tcagggtcgg	ggcagggtgga	agtgtgatcc	cgtcgaccac	1680
tgccaggatt	cagagactgg	gacgttttat	caaattggag	attcatggga	gaagtatgtg	1740
catggtgtca	gataccagtg	ctactgctat	ggcgtggca	ttggggagtg	gcattgcca	1800
cctttacaga	cctatccaag	ctcaagtgg	cctgtcgaag	tattttatcac	tgagactccg	1860
agtcagccca	actcccaccc	catccagtgg	aatgcaccac	agccatctca	catttccaag	1920
tacattctca	ggtggagacc	taaaaattct	gtaggccgtt	ggaaggaagc	taccatacca	1980
ggccacttaa	actcctacac	catcaaaggc	ctgaagcctg	gtgtggtata	cgagggccag	2040
ctcatcagca	tccagcagta	cggccaccaa	gaagtgactc	gctttgactt	caccaccacc	2100
agcaccagca	cacctgtgac	cagcaacacc	gtgacaggag	agacgactcc	cttttctcct	2160
cttgtggcca	cttctgaatc	tgtgaccgaa	atcacagcca	gtagctttgt	ggtctcctgg	2220
gtctcagctt	ccgacaccgt	gtcgggattc	cgggtggaa	atgagctgag	tgaggaggga	2280
gatgagccac	agtacctgga	tcttccaagc	acagccactt	ctgtgaacat	ccctgacctg	2340
cttcctggcc	gaaaatacat	tgtaaatgtc	tatcagatat	ctgaggatgg	ggagcagagt	2400
ttgatcctgt	ctacttcaca	aacaacagcg	cctgatgccc	ctcctgacct	gactgtggac	2460
caagttgatg	acacctcaat	tgttgttcgc	tggagcagac	cccaggctcc	catcacaggg	2520
tacagaatag	tctattcgcc	atcagtagaa	ggtagcagca	cagaactcaa	ccttcctgaa	2580
actgcaaact	cgtcaccct	cagtgacttg	caacctgggt	ttcagtataa	catcactatc	2640
tatgctgtgg	aagaaaatca	agaaagtaca	cctgttgtca	ttcaacaaga	aacctctggc	2700
acccacgcgt	cagatacagt	gccctctccc	agggacctgc	agtttgtgga	agtgacagac	2760

- 2 -

gtgaagggtca	ccatcatgtg	gacaccgcct	gagagtgcag	tgaccggcta	ccgtgtggat	2820
gtgatccccg	tcaacctgcc	tggcgagcac	gggcagaggc	tgcccatcag	caggaacacc	2880
tttgacagaag	tcaccgggct	gtccccctggg	gtcacctatt	acttcaaagt	ctttgcagt	2940
agccatggga	gggagagcaa	gcctctgact	gctcaacaga	caaccaaact	ggatgctccc	3000
actaacctcc	agtttgtcaa	tgaactgat	tctactgtcc	tggtagatg	gactccacct	3060
cgggccaga	taacaggata	ccgactgacc	gtgggcctta	cccgaagagg	ccagcccagg	3120
cagtacaatg	tgggtccctc	tgtctccaag	tacccccctga	ggaatctgca	gcctgcattct	3180
gagtacaccg	tatccctcgt	ggccataaag	ggcaaccaag	agagcccaa	agccactgga	3240
gtctttacca	cactgcagcc	tgggagctct	attccacctt	acaacaccga	ggtgactgag	3300
accaccatcg	tgatcacatg	gacgcctgct	ccaagaattg	gttttaagct	gggtgtacga	3360
ccaagccagg	gaggagaggc	accacgagaa	gtgacttcag	actcaggaag	catcgttgtg	3420
tccggcttga	ctccaggagt	agaatacgtc	tacaccatcc	aagtcctgag	agatggacag	3480
gaagagatg	cgcaaatgt	aaacaaagt	gtgacacat	tgtctccacc	aacaaacttg	3540
catctggagg	caaaccctga	cactggagt	ctcacagtct	cctgggagag	gagcaccacc	3600
ccagacatta	ctggttatag	aattaccaca	acccctacaa	acggccagca	gggaaattct	3660
ttggaagaag	tgggtccatg	tgatcagagc	tcctgcactt	ttgataacct	gagtcccggc	3720
ctggagtaca	atgtcagtgt	ttacactgtc	aaggatgaca	aggaaagtgt	ccctatctct	3780
gataccatca	tcccagctgt	tcctcctccc	actgacctgc	gattcaccaa	cattgggtcca	3840
gacaccatgc	gtgtcacctg	ggctccaccc	ccatccattg	atttaaccaa	cttctgggtg	3900
cgttactcac	ctgtgaaaaa	tgaggaaagt	gttgacagt	tgtcaatttc	tccttcagac	3960
aatgcagtgg	tccttaacaaa	tcctcctgct	ggtacagaat	atgtagttag	tgtctccagt	4020
gtctacgaac	aacatgagag	cacacctctt	agagggaagc	agaaaacagg	tcttgattcc	4080
ccaactggca	ttgacttttc	tgatattact	gccaactctt	ttactgtgca	ctggattgct	4140
cctcgagcca	ccatcactgg	ctacaggatc	cgccatcatc	ccgagcactt	cagtgggaga	4200
cctcgagaag	atcgggtgcc	ccactctcgg	aattccatca	ccctcaccaa	cctcactcca	4260
ggcacagagt	atgtggtcag	catcgttgct	cttaatggca	gagaggaaa	tcccttattg	4320
attggccaac	aatcaacagt	ttctgatgtt	cggagggacc	tggaaagtgt	tgctgcgacc	4380
cccaccagcc	tactgatcag	ctgggatgct	cctgctgtca	cagttagata	ttacaggatc	4440
acttacggag	aaacaggagg	aaatagccct	gtccaggagt	tactgtgccc	tgggagcaag	4500
tctacagcta	ccatcagcgg	ccttaaacct	ggagttgatt	ataccatcac	tgtgtatgct	4560
gtcactggcc	gtggagacag	ccccgcaagc	agcaagccaa	tttccattaa	ttaccgaaca	4620
gaaattgaca	aaccatccca	gatgcaagt	accgatgttc	aggacaacag	cattagtgtc	4680
aagtggctgc	cttcaagttc	ccctgttact	ggttacagag	taaccaccac	tcccaaaaaa	4740
ggaccaggag	caacaaaaac	taaaactgca	ggtccagatc	aaacagaaat	gactattgaa	4800
ggcttgacgc	ccacagtgg	gtatgtggtt	agtgtctatg	ctcagaatcc	aagcggagag	4860
agtcagcctc	tgggttcagac	tgcatgaacc	aacattgata	gccctaaagg	actggcattc	4920
actgatgtgg	atgtcgattc	catcaaaatt	gcttgggaaa	gcccacaggg	gcaagtttcc	4980
aggtacaggg	tgacctactc	gagccctgag	gatggaatcc	atgagctatt	ccctgcacct	5040
gatggtgaag	aagacactgc	agagctgcaa	ggcctcagac	cgggttctga	gtacacagtc	5100
agtgtgggtg	ccttgacaga	tgatatggag	agccagcccc	tgattggaac	ccagtccaca	5160
gctattcctg	caccaactga	cctgaagttc	actcaggtca	caccacaaag	cctgagcgcc	5220
cagtggacac	caaccaatgt	tcagctcact	ggatctcag	tgcgggtgac	ccccaggag	5280
aagaccggac	caatgaaaga	aatcaacctt	gctcctgaca	gctcatccgt	ggttgtatca	5340
ggacttatgg	tggccaccaa	atatgaagt	agtgtctatg	ctcttaagga	cactttgaca	5400
agcagaccag	ctcagggtgt	tgtcaccact	ctggagaatg	tcagcccacc	aagaagggtc	5460
cgtgtgacag	atgctactga	gaccaccatc	accattagct	ggagaaccaa	gactgagacg	5520
atcactggct	tccaagttga	tgccgttcca	gccaatggcc	agactccaat	ccagagaacc	5580
atcaagccag	atgtcagaag	ctacaccatc	acaggtttac	aaccaggcac	tgactacaag	5640
atctaccctg	acaccttgaa	tgacaatgct	cggagctccc	ctgtggtcat	cgacgcctcc	5700
actgacattg	atgcaccatc	caacctgcgt	ttcctggcca	ccacacccaa	ttccttgctg	5760
gtatcatggc	agccgccacg	tgccaggatt	accggctaca	tcatcaagta	tgagaagcct	5820
gggtctcctc	ccagagaagt	ggtcctctcg	ccccgcctg	gtgtcacaga	ggctactatt	5880
actggcctgg	aaccgggaac	cgaatatata	atztatgtca	ttgccctgaa	gaataatcag	5940
aagagcgagc	ccctgattgg	aaggaaaaag	acagacgagc	ttccccaact	ggtaacctct	6000
ccacacccca	atcttcatgg	accagagatc	ttggatgttc	cttcacagct	tcaaaagacc	6060
cctttcgtca	cccacctggg	gtatgacact	ggaaattgga	ttcagcttcc	tggcacttct	6120
ggtcagcaac	ccagtgttgg	gcaacaaatg	atctttgagg	aacatggttt	taggcggacc	6180
acaccgcccc	caacggccac	ccccataagg	cataggccaa	gaccataccc	gccgaatgta	6240
ggtgagggaaa	tccaaattgg	tcacattccc	aggggaagatg	tagactatca	cctgtaccca	6300
cacgggtccgg	ggctcaatcc	aaatgcctct	acaggacaag	aagctctctc	tcagacaacc	6360
atctcatggg	ccccattcca	ggacacttct	gagtacatca	tttcatgtca	tcctgttggc	6420
actgatgaag	aacctttaca	gttcagggtt	cctggaactt	ctaccagtgc	cactctgaca	6480
ggcctacca	gaggtgccac	ctacaacatc	atagtggagg	cactgaaaga	ccagcagagg	6540
cataaggttc	gggaagaggt	tgttaccgtg	ggcaactctg	tcaacgaagg	cttgaaccaa	6600
cctacggatg	actcgtgctt	tgacccctac	acagtttccc	attatgccgt	tggagatgag	6660

- 3 -

tggaacgaa	tgtctgaatc	aggctttaaa	ctgttggtgcc	agtgttagg	ctttggaagt	6720
ggtcatttca	gatgtgattc	atctagatgg	tgccatgaca	atgggtgtgaa	ctacaagatt	6780
ggagagaagt	gggaccgtca	gggagaaaat	ggccagatga	tgagctgcac	atgtcttggg	6840
aacggaaaag	gagaattcaa	gtgtgaccct	catgaggcaa	cgtgttacga	tgatgggaag	6900
acataccacg	taggagaaca	gtggcagaag	gaatatctcg	gtgccatttg	ctcctgcaca	6960
tgctttggag	gccagcgggg	ctggcgctgt	gacaactgcc	gcagacctgg	gggtgaaccc	7020
agtcccgaag	gcactactgg	ccagtcctac	aaccagtatt	ctcagagata	ccatcagaga	7080
acaaacacta	atgttaattg	cccaattgag	tgcttcatgc	cttttagatgt	acaggctgac	7140
agagaagatt	cccagagagta	a				7161

<210> 2
 <211> 2386
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 2

Met	Leu	Arg	Gly	Pro	Gly	Pro	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Ala	Val	Gln	Cys	
1				5				10						15		
Leu	Gly	Thr	Ala	Val	Pro	Ser	Thr	Gly	Ala	Ser	Lys	Ser	Lys	Arg	Gln	
			20					25					30			
Ala	Gln	Gln	Met	Val	Gln	Pro	Gln	Ser	Pro	Val	Ala	Val	Ser	Gln	Ser	
	35						40					45				
Lys	Pro	Gly	Cys	Tyr	Asp	Asn	Gly	Lys	His	Tyr	Gln	Ile	Asn	Gln	Gln	
	50					55					60					
Trp	Glu	Arg	Thr	Tyr	Leu	Gly	Asn	Ala	Leu	Val	Cys	Thr	Cys	Tyr	Gly	
65					70					75					80	
Gly	Ser	Arg	Gly	Phe	Asn	Cys	Glu	Ser	Lys	Pro	Glu	Ala	Glu	Glu	Thr	
			85						90					95		
Cys	Phe	Asp	Lys	Tyr	Thr	Gly	Asn	Thr	Tyr	Arg	Val	Gly	Asp	Thr	Tyr	
			100					105					110			
Glu	Arg	Pro	Lys	Asp	Ser	Met	Ile	Trp	Asp	Cys	Thr	Cys	Ile	Gly	Ala	
		115					120					125				
Gly	Arg	Gly	Arg	Ile	Ser	Cys	Thr	Ile	Ala	Asn	Arg	Cys	His	Glu	Gly	
	130					135					140					
Gly	Gln	Ser	Tyr	Lys	Ile	Gly	Asp	Thr	Trp	Arg	Arg	Pro	His	Glu	Thr	
145				150					155						160	
Gly	Gly	Tyr	Met	Leu	Glu	Cys	Val	Cys	Leu	Gly	Asn	Gly	Lys	Gly	Glu	
			165						170					175		
Trp	Thr	Cys	Lys	Pro	Ile	Ala	Glu	Lys	Cys	Phe	Asp	His	Ala	Ala	Gly	
			180					185					190			
Thr	Ser	Tyr	Val	Val	Gly	Glu	Thr	Trp	Glu	Lys	Pro	Tyr	Gln	Gly	Trp	
		195					200					205				
Met	Met	Val	Asp	Cys	Thr	Cys	Leu	Gly	Glu	Gly	Ser	Gly	Arg	Ile	Thr	
	210					215					220					
Cys	Thr	Ser	Arg	Asn	Arg	Cys	Asn	Asp	Gln	Asp	Thr	Arg	Thr	Ser	Tyr	
225				230						235					240	
Arg	Ile	Gly	Asp	Thr	Trp	Ser	Lys	Lys	Asp	Asn	Arg	Gly	Asn	Leu	Leu	
			245					250						255		

- 4 -

Gln Cys Ile Cys Thr Gly Asn Gly Arg Gly Glu Trp Lys Cys Glu Arg
 260 265 270
 His Thr Ser Val Gln Thr Thr Ser Ser Gly Ser Gly Pro Phe Thr Asp
 275 280 285
 Val Arg Ala Ala Val Tyr Gln Pro Gln Pro His Pro Gln Pro Pro Pro
 290 295 300
 Tyr Gly His Cys Val Thr Asp Ser Gly Val Val Tyr Ser Val Gly Met
 305 310 315 320
 Gln Trp Leu Lys Thr Gln Gly Asn Lys Gln Met Leu Cys Thr Cys Leu
 325 330 335
 Gly Asn Gly Val Ser Cys Gln Glu Thr Ala Val Thr Gln Thr Tyr Gly
 340 345 350
 Gly Asn Ser Asn Gly Glu Pro Cys Val Leu Pro Phe Thr Tyr Asn Gly
 355 360 365
 Arg Thr Phe Tyr Ser Cys Thr Thr Glu Gly Arg Gln Asp Gly His Leu
 370 375 380
 Trp Cys Ser Thr Thr Ser Asn Tyr Glu Gln Asp Gln Lys Tyr Ser Phe
 385 390 395 400
 Cys Thr Asp His Thr Val Leu Val Gln Thr Gln Gly Gly Asn Ser Asn
 405 410 415
 Gly Ala Leu Cys His Phe Pro Phe Leu Tyr Asn Asn His Asn Tyr Thr
 420 425 430
 Asp Cys Thr Ser Glu Gly Arg Arg Asp Asn Met Lys Trp Cys Gly Thr
 435 440 445
 Thr Gln Asn Tyr Asp Ala Asp Gln Lys Phe Gly Phe Cys Pro Met Ala
 450 455 460
 Ala His Glu Glu Ile Cys Thr Thr Asn Glu Gly Val Met Tyr Arg Ile
 465 470 475 480
 Gly Asp Gln Trp Asp Lys Gln His Asp Met Gly His Met Met Arg Cys
 485 490 495
 Thr Cys Val Gly Asn Gly Arg Gly Glu Trp Thr Cys Ile Ala Tyr Ser
 500 505 510
 Gln Leu Arg Asp Gln Cys Ile Val Asp Asp Ile Thr Tyr Asn Val Asn
 515 520 525
 Asp Thr Phe His Lys Arg His Glu Glu Gly His Met Leu Asn Cys Thr
 530 535 540
 Cys Phe Gly Gln Gly Arg Gly Arg Trp Lys Cys Asp Pro Val Asp Gln
 545 550 555 560
 Cys Gln Asp Ser Glu Thr Gly Thr Phe Tyr Gln Ile Gly Asp Ser Trp
 565 570 575
 Glu Lys Tyr Val His Gly Val Arg Tyr Gln Cys Tyr Cys Tyr Gly Arg
 580 585 590
 Gly Ile Gly Glu Trp His Cys Gln Pro Leu Gln Thr Tyr Pro Ser Ser

- 5 -

595					600					605					
Ser	Gly	Pro	Val	Glu	Val	Phe	Ile	Thr	Glu	Thr	Pro	Ser	Gln	Pro	Asn
610					615						620				
Ser	His	Pro	Ile	Gln	Trp	Asn	Ala	Pro	Gln	Pro	Ser	His	Ile	Ser	Lys
625					630					635					640
Tyr	Ile	Leu	Arg	Trp	Arg	Pro	Lys	Asn	Ser	Val	Gly	Arg	Trp	Lys	Glu
				645						650				655	
Ala	Thr	Ile	Pro	Gly	His	Leu	Asn	Ser	Tyr	Thr	Ile	Lys	Gly	Leu	Lys
			660					665					670		
Pro	Gly	Val	Val	Tyr	Glu	Gly	Gln	Leu	Ile	Ser	Ile	Gln	Gln	Tyr	Gly
			675				680					685			
His	Gln	Glu	Val	Thr	Arg	Phe	Asp	Phe	Thr	Thr	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr
690					695							700			
Pro	Val	Thr	Ser	Asn	Thr	Val	Thr	Gly	Glu	Thr	Thr	Pro	Phe	Ser	Pro
705					710					715					720
Leu	Val	Ala	Thr	Ser	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Ile	Thr	Ala	Ser	Ser	Phe
				725					730					735	
Val	Val	Ser	Trp	Val	Ser	Ala	Ser	Asp	Thr	Val	Ser	Gly	Phe	Arg	Val
			740					745					750		
Glu	Tyr	Glu	Leu	Ser	Glu	Glu	Gly	Asp	Glu	Pro	Gln	Tyr	Leu	Asp	Leu
		755					760					765			
Pro	Ser	Thr	Ala	Thr	Ser	Val	Asn	Ile	Pro	Asp	Leu	Leu	Pro	Gly	Arg
		770					775				780				
Lys	Tyr	Ile	Val	Asn	Val	Tyr	Gln	Ile	Ser	Glu	Asp	Gly	Glu	Gln	Ser
785					790					795					800
Leu	Ile	Leu	Ser	Thr	Ser	Gln	Thr	Thr	Ala	Pro	Asp	Ala	Pro	Pro	Asp
				805					810					815	
Pro	Thr	Val	Asp	Gln	Val	Asp	Asp	Thr	Ser	Ile	Val	Val	Arg	Trp	Ser
			820					825					830		
Arg	Pro	Gln	Ala	Pro	Ile	Thr	Gly	Tyr	Arg	Ile	Val	Tyr	Ser	Pro	Ser
			835				840					845			
Val	Glu	Gly	Ser	Ser	Thr	Glu	Leu	Asn	Leu	Pro	Glu	Thr	Ala	Asn	Ser
			850				855					860			
Val	Thr	Leu	Ser	Asp	Leu	Gln	Pro	Gly	Val	Gln	Tyr	Asn	Ile	Thr	Ile
865					870					875					880
Tyr	Ala	Val	Glu	Glu	Asn	Gln	Glu	Ser	Thr	Pro	Val	Val	Ile	Gln	Gln
				885					890					895	
Glu	Thr	Thr	Gly	Thr	Pro	Arg	Ser	Asp	Thr	Val	Pro	Ser	Pro	Arg	Asp
			900					905					910		
Leu	Gln	Phe	Val	Glu	Val	Thr	Asp	Val	Lys	Val	Thr	Ile	Met	Trp	Thr
		915					920					925			
Pro	Pro	Glu	Ser	Ala	Val	Thr	Gly	Tyr	Arg	Val	Asp	Val	Ile	Pro	Val
							935					940			

- 6 -

Asn Leu Pro Gly Glu His Gly Gln Arg Leu Pro Ile Ser Arg Asn Thr
 945 950 955 960
 Phe Ala Glu Val Thr Gly Leu Ser Pro Gly Val Thr Tyr Tyr Phe Lys
 965 970 975
 Val Phe Ala Val Ser His Gly Arg Glu Ser Lys Pro Leu Thr Ala Gln
 980 985 990
 Gln Thr Thr Lys Leu Asp Ala Pro Thr Asn Leu Gln Phe Val Asn Glu
 995 1000 1005
 Thr Asp Ser Thr Val Leu Val Arg Trp Thr Pro Pro Arg Ala Gln
 1010 1015 1020
 Ile Thr Gly Tyr Arg Leu Thr Val Gly Leu Thr Arg Arg Gly Gln
 1025 1030 1035
 Pro Arg Gln Tyr Asn Val Gly Pro Ser Val Ser Lys Tyr Pro Leu
 1040 1045 1050
 Arg Asn Leu Gln Pro Ala Ser Glu Tyr Thr Val Ser Leu Val Ala
 1055 1060 1065
 Ile Lys Gly Asn Gln Glu Ser Pro Lys Ala Thr Gly Val Phe Thr
 1070 1075 1080
 Thr Leu Gln Pro Gly Ser Ser Ile Pro Pro Tyr Asn Thr Glu Val
 1085 1090 1095
 Thr Glu Thr Thr Ile Val Ile Thr Trp Thr Pro Ala Pro Arg Ile
 1100 1105 1110
 Gly Phe Lys Leu Gly Val Arg Pro Ser Gln Gly Gly Glu Ala Pro
 1115 1120 1125
 Arg Glu Val Thr Ser Asp Ser Gly Ser Ile Val Val Ser Gly Leu
 1130 1135 1140
 Thr Pro Gly Val Glu Tyr Val Tyr Thr Ile Gln Val Leu Arg Asp
 1145 1150 1155
 Gly Gln Glu Arg Asp Ala Pro Ile Val Asn Lys Val Val Thr Pro
 1160 1165 1170
 Leu Ser Pro Pro Thr Asn Leu His Leu Glu Ala Asn Pro Asp Thr
 1175 1180 1185
 Gly Val Leu Thr Val Ser Trp Glu Arg Ser Thr Thr Pro Asp Ile
 1190 1195 1200
 Thr Gly Tyr Arg Ile Thr Thr Thr Pro Thr Asn Gly Gln Gln Gly
 1205 1210 1215
 Asn Ser Leu Glu Glu Val Val His Ala Asp Gln Ser Ser Cys Thr
 1220 1225 1230
 Phe Asp Asn Leu Ser Pro Gly Leu Glu Tyr Asn Val Ser Val Tyr
 1235 1240 1245
 Thr Val Lys Asp Asp Lys Glu Ser Val Pro Ile Ser Asp Thr Ile
 1250 1255 1260

- 7 -

Ile	Pro	Ala	Val	Pro	Pro	Pro	Thr	Asp	Leu	Arg	Phe	Thr	Asn	Ile
1265						1270					1275			
Gly	Pro	Asp	Thr	Met	Arg	Val	Thr	Trp	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Ile
1280						1285					1290			
Asp	Leu	Thr	Asn	Phe	Leu	Val	Arg	Tyr	Ser	Pro	Val	Lys	Asn	Glu
1295						1300					1305			
Glu	Asp	Val	Ala	Glu	Leu	Ser	Ile	Ser	Pro	Ser	Asp	Asn	Ala	Val
1310						1315					1320			
Val	Leu	Thr	Asn	Leu	Leu	Pro	Gly	Thr	Glu	Tyr	Val	Val	Ser	Val
1325						1330					1335			
Ser	Ser	Val	Tyr	Glu	Gln	His	Glu	Ser	Thr	Pro	Leu	Arg	Gly	Arg
1340						1345					1350			
Gln	Lys	Thr	Gly	Leu	Asp	Ser	Pro	Thr	Gly	Ile	Asp	Phe	Ser	Asp
1355						1360					1365			
Ile	Thr	Ala	Asn	Ser	Phe	Thr	Val	His	Trp	Ile	Ala	Pro	Arg	Ala
1370						1375					1380			
Thr	Ile	Thr	Gly	Tyr	Arg	Ile	Arg	His	His	Pro	Glu	His	Phe	Ser
1385						1390					1395			
Gly	Arg	Pro	Arg	Glu	Asp	Arg	Val	Pro	His	Ser	Arg	Asn	Ser	Ile
1400						1405					1410			
Thr	Leu	Thr	Asn	Leu	Thr	Pro	Gly	Thr	Glu	Tyr	Val	Val	Ser	Ile
1415						1420					1425			
Val	Ala	Leu	Asn	Gly	Arg	Glu	Glu	Ser	Pro	Leu	Leu	Ile	Gly	Gln
1430						1435					1440			
Gln	Ser	Thr	Val	Ser	Asp	Val	Pro	Arg	Asp	Leu	Glu	Val	Val	Ala
1445						1450					1455			
Ala	Thr	Pro	Thr	Ser	Leu	Leu	Ile	Ser	Trp	Asp	Ala	Pro	Ala	Val
1460						1465					1470			
Thr	Val	Arg	Tyr	Tyr	Arg	Ile	Thr	Tyr	Gly	Glu	Thr	Gly	Gly	Asn
1475						1480					1485			
Ser	Pro	Val	Gln	Glu	Phe	Thr	Val	Pro	Gly	Ser	Lys	Ser	Thr	Ala
1490						1495					1500			
Thr	Ile	Ser	Gly	Leu	Lys	Pro	Gly	Val	Asp	Tyr	Thr	Ile	Thr	Val
1505						1510					1515			
Tyr	Ala	Val	Thr	Gly	Arg	Gly	Asp	Ser	Pro	Ala	Ser	Ser	Lys	Pro
1520						1525					1530			
Ile	Ser	Ile	Asn	Tyr	Arg	Thr	Glu	Ile	Asp	Lys	Pro	Ser	Gln	Met
1535						1540					1545			
Gln	Val	Thr	Asp	Val	Gln	Asp	Asn	Ser	Ile	Ser	Val	Lys	Trp	Leu
1550						1555					1560			
Pro	Ser	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Gly	Tyr	Arg	Val	Thr	Thr	Thr	Pro
1565						1570					1575			
Lys	Asn	Gly	Pro	Gly	Pro	Thr	Lys	Thr	Lys	Thr	Ala	Gly	Pro	Asp

- 8 -

1580		1585		1590
Gln Thr Glu Met Thr Ile	Glu Gly Leu Gln Pro	Thr Val Glu Tyr		
1595	1600	1605		
Val Val Ser Val Tyr Ala	Gln Asn Pro Ser Gly	Glu Ser Gln Pro		
1610	1615	1620		
Leu Val Gln Thr Ala Val	Thr Asn Ile Asp Arg	Pro Lys Gly Leu		
1625	1630	1635		
Ala Phe Thr Asp Val Asp	Val Asp Ser Ile Lys	Ile Ala Trp Glu		
1640	1645	1650		
Ser Pro Gln Gly Gln Val	Ser Arg Tyr Arg Val	Thr Tyr Ser Ser		
1655	1660	1665		
Pro Glu Asp Gly Ile His	Glu Leu Phe Pro Ala	Pro Asp Gly Glu		
1670	1675	1680		
Glu Asp Thr Ala Glu Leu	Gln Gly Leu Arg Pro	Gly Ser Glu Tyr		
1685	1690	1695		
Thr Val Ser Val Val Ala	Leu His Asp Asp Met	Glu Ser Gln Pro		
1700	1705	1710		
Leu Ile Gly Thr Gln Ser	Thr Ala Ile Pro Ala	Pro Thr Asp Leu		
1715	1720	1725		
Lys Phe Thr Gln Val Thr	Pro Thr Ser Leu Ser	Ala Gln Trp Thr		
1730	1735	1740		
Pro Pro Asn Val Gln Leu	Thr Gly Tyr Arg Val	Arg Val Thr Pro		
1745	1750	1755		
Lys Glu Lys Thr Gly Pro	Met Lys Glu Ile Asn	Leu Ala Pro Asp		
1760	1765	1770		
Ser Ser Ser Val Val Val	Ser Gly Leu Met Val	Ala Thr Lys Tyr		
1775	1780	1785		
Glu Val Ser Val Tyr Ala	Leu Lys Asp Thr Leu	Thr Ser Arg Pro		
1790	1795	1800		
Ala Gln Gly Val Val Thr	Thr Leu Glu Asn Val	Ser Pro Pro Arg		
1805	1810	1815		
Arg Ala Arg Val Thr Asp	Ala Thr Glu Thr Thr	Ile Thr Ile Ser		
1820	1825	1830		
Trp Arg Thr Lys Thr Glu	Thr Ile Thr Gly Phe	Gln Val Asp Ala		
1835	1840	1845		
Val Pro Ala Asn Gly Gln	Thr Pro Ile Gln Arg	Thr Ile Lys Pro		
1850	1855	1860		
Asp Val Arg Ser Tyr Thr	Ile Thr Gly Leu Gln	Pro Gly Thr Asp		
1865	1870	1875		
Tyr Lys Ile Tyr Leu Tyr	Thr Leu Asn Asp Asn	Ala Arg Ser Ser		
1880	1885	1890		
Pro Val Val Ile Asp Ala	Ser Thr Ala Ile Asp	Ala Pro Ser Asn		
1895	1900	1905		

- 9 -

Leu Arg 1910	Phe Leu Ala Thr Thr 1915	Pro Asn Ser Leu Leu Val Ser Trp 1920
Gln Pro 1925	Pro Arg Ala Arg Ile 1930	Thr Gly Tyr Ile Ile Lys Tyr Glu 1935
Lys Pro 1940	Gly Ser Pro Pro Arg 1945	Glu Val Val Pro Arg Pro Arg Pro 1950
Gly Val 1955	Thr Glu Ala Thr Ile 1960	Thr Gly Leu Glu Pro Gly Thr Glu 1965
Tyr Thr 1970	Ile Tyr Val Ile Ala 1975	Leu Lys Asn Asn Gln Lys Ser Glu 1980
Pro Leu 1985	Ile Gly Arg Lys Lys 1990	Thr Asp Glu Leu Pro Gln Leu Val 1995
Thr Leu 2000	Pro His Pro Asn Leu 2005	His Gly Pro Glu Ile Leu Asp Val 2010
Pro Ser 2015	Thr Val Gln Lys Thr 2020	Pro Phe Val Thr His Pro Gly Tyr 2025
Asp Thr 2030	Gly Asn Gly Ile Gln 2035	Leu Pro Gly Thr Ser Gly Gln Gln 2040
Pro Ser 2045	Val Gly Gln Gln Met 2050	Ile Phe Glu Glu His Gly Phe Arg 2055
Arg Thr 2060	Thr Pro Pro Thr Thr 2065	Ala Thr Pro Ile Arg His Arg Pro 2070
Arg Pro 2075	Tyr Pro Pro Asn Val 2080	Gly Glu Glu Ile Gln Ile Gly His 2085
Ile Pro 2090	Arg Glu Asp Val Asp 2095	Tyr His Leu Tyr Pro His Gly Pro 2100
Gly Leu 2105	Asn Pro Asn Ala Ser 2110	Thr Gly Gln Glu Ala Leu Ser Gln 2115
Thr Thr 2120	Ile Ser Trp Ala Pro 2125	Phe Gln Asp Thr Ser Glu Tyr Ile 2130
Ile Ser 2135	Cys His Pro Val Gly 2140	Thr Asp Glu Glu Pro Leu Gln Phe 2145
Arg Val 2150	Pro Gly Thr Ser Thr 2155	Ser Ala Thr Leu Thr Gly Leu Thr 2160
Arg Gly 2165	Ala Thr Tyr Asn Ile 2170	Ile Val Glu Ala Leu Lys Asp Gln 2175
Gln Arg 2180	His Lys Val Arg Glu 2185	Glu Val Val Thr Val Gly Asn Ser 2190
Val Asn 2195	Glu Gly Leu Asn Gln 2200	Pro Thr Asp Asp Ser Cys Phe Asp 2205
Pro Tyr 2210	Thr Val Ser His Tyr 2215	Ala Val Gly Asp Glu Trp Glu Arg 2220

- 10 -

Met Ser Glu Ser Gly Phe Lys Leu Leu Cys Gln Cys Leu Gly Phe
 2225 2230 2235

Gly Ser Gly His Phe Arg Cys Asp Ser Ser Arg Trp Cys His Asp
 2240 2245 2250

Asn Gly Val Asn Tyr Lys Ile Gly Glu Lys Trp Asp Arg Gln Gly
 2255 2260 2265

Glu Asn Gly Gln Met Met Ser Cys Thr Cys Leu Gly Asn Gly Lys
 2270 2275 2280

Gly Glu Phe Lys Cys Asp Pro His Glu Ala Thr Cys Tyr Asp Asp
 2285 2290 2295

Gly Lys Thr Tyr His Val Gly Glu Gln Trp Gln Lys Glu Tyr Leu
 2300 2305 2310

Gly Ala Ile Cys Ser Cys Thr Cys Phe Gly Gly Gln Arg Gly Trp
 2315 2320 2325

Arg Cys Asp Asn Cys Arg Arg Pro Gly Gly Glu Pro Ser Pro Glu
 2330 2335 2340

Gly Thr Thr Gly Gln Ser Tyr Asn Gln Tyr Ser Gln Arg Tyr His
 2345 2350 2355

Gln Arg Thr Asn Thr Asn Val Asn Cys Pro Ile Glu Cys Phe Met
 2360 2365 2370

Pro Leu Asp Val Gln Ala Asp Arg Glu Asp Ser Arg Glu
 2375 2380 2385

<210> 3
 <211> 276
 <212> ADN

<213> séquence artificielle

<220>

<223> séquence nucléotidique s'étendant des nucléotides 5161 à 5436
 de la séquence SEQ ID NO : 1 (domaine XII)

<400> 3
 gctattcctg caccaactga cctgaagttc actcaggtca caccacaag cctgagcgcc 60
 cagtggacac cacccaatgt tcagctcact ggatatcgag tgcgggtgac cccaaggag 120
 aagaccggac caatgaaaga aatcaacctt gctcctgaca gctcatccgt ggttgatatca 180
 ggacttatgg tggccaccaa atatgaagtg agtgtctatg ctcttaagga cactttgaca 240
 agcagaccag ctcagggtgt tgtcaccact ctggag 276

<210> 4
 <211> 92
 <212> PRT
 <213> séquence artificielle

<220>

<223> protéine s'étendant des résidus 1721 à 1812 de
 la séquence SEQ ID NO : 2 (domaine XII)

<400> 4
 Ala Ile Pro Ala Pro Thr Asp Leu Lys Phe Thr Gln Val Thr Pro Thr
 1 5 10 15

- 11 -

Ser Leu Ser Ala Gln Trp Thr Pro Pro Asn Val Gln Leu Thr Gly Tyr
 20 25 30

Arg Val Arg Val Thr Pro Lys Glu Lys Thr Gly Pro Met Lys Glu Ile
 35 40 45

Asn Leu Ala Pro Asp Ser Ser Ser Val Val Val Ser Gly Leu Met Val
 50 55 60

Ala Thr Lys Tyr Glu Val Ser Val Tyr Ala Leu Lys Asp Thr Leu Thr
 65 70 75 80

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

<210> 5
 <211> 267
 <212> ADN
 <213> séquence artificielle

<220>
 <223> séquence nucléotidique s'étendant des nucléotides 5437 à 5703
 de la séquence SEQ ID NO : 1 (domaine XIII)

<400> 5
 aatgtcagcc caccaagaag ggctcgtgtg acagatgcta ctgagaccac catcaccatt 60
 agctggagaa ccaagactga gacgatcact ggcttccaag ttgatgccgt tccagccaat 120
 ggccagactc caatccagag aaccatcaag ccagatgtca gaagctacac catcacaggt 180
 ttacaaccag gcactgacta caagatctac ctgtacacct tgaatgacaa tgctcggagc 240
 tcccctgtgg tcatcgacgc ctccact 267

<210> 6
 <211> 89
 <212> PRT
 <213> séquence artificielle

<220>
 <223> protéine s'étendant des résidus résidus 1813 à 1901
 de la séquence SEQ ID NO : 2 (domaine XIII)

<400> 6
 Asn Val Ser Pro Pro Arg Arg Ala Arg Val Thr Asp Ala Thr Glu Thr
 1 5 10 15

Thr Ile Thr Ile Ser Trp Arg Thr Lys Thr Glu Thr Ile Thr Gly Phe
 20 25 30

Gln Val Asp Ala Val Pro Ala Asn Gly Gln Thr Pro Ile Gln Arg Thr
 35 40 45

Ile Lys Pro Asp Val Arg Ser Tyr Thr Ile Thr Gly Leu Gln Pro Gly
 50 55 60

Thr Asp Tyr Lys Ile Tyr Leu Tyr Thr Leu Asn Asp Asn Ala Arg Ser
 65 70 75 80

Ser Pro Val Val Ile Asp Ala Ser Thr
 85

<210> 7
 <211> 228

- 12 -

<212> ADN

<213> séquence artificielle

<220>

<223> séquence nucléotidique s'étendant des nucléotides 5704 à 5931
de la séquence SEQ ID NO : 1 (domaine XIV)

<400> 7

gccattgatg	caccatccaa	cctgcgtttc	ctggccacca	cacccaattc	cttgctggta	60
tcatggcagc	cgccacgtgc	caggattacc	ggctacatca	tcaagtatga	gaagcctggg	120
tctctcccca	gagaagtggg	ccctcggccc	cgccctgggtg	tcacagaggc	tactattact	180
ggcctggaac	cggaaccga	atatacaatt	tatgtcattg	ccctgaag		228

<210> 8

<211> 76

<212> PRT

<213> séquence artificielle

<220>

<223> protéine s'étendant des résidus 1902 à 1977
de la séquence SEQ ID NO : 2 (domaine XIV)

<400> 8

Ala Ile Asp	Ala Pro Ser	Asn Leu Arg	Phe Leu Ala	Thr Thr Pro	Asn
1	5	10	15		

Ser Leu Leu	Val Ser Trp	Gln Pro Pro	Arg Ala Arg	Ile Thr Gly	Tyr
20	25	30			

Ile Ile Lys	Tyr Glu Lys	Pro Gly Ser	Pro Pro Arg	Glu Val Val	Pro
35	40	45			

Arg Pro Arg	Pro Gly Val	Thr Glu Ala	Thr Ile Thr	Gly Leu Glu	Pro
50	55	60			

Gly Thr Glu	Tyr Thr Ile	Tyr Val Ile	Ala Leu Lys
65	70	75	

<210> 9

<211> 1635

<212> ADN

<213> séquence artificielle

<220>

<223> séquence nucléotidique s'étendant des nucléotides 4339 à 5973
de la séquence SEQ ID NO : 1

<400> 9

gtttctgatg	ttccgagggg	cctggaagtt	gttgctgcga	ccccaccag	cctactgatc	60
agctgggatg	ctcctgctgt	cacagtgaga	tattacagga	tcacttacgg	agaaacagga	120
ggaaatagcc	ctgtccagga	gttactgtg	cctgggagca	agtctacagc	taccatcagc	180
ggccttaaac	ctggagttga	ttataccatc	actgtgtatg	ctgtcactgg	ccgtggagac	240
agccccgcaa	gcagcaagcc	aatttccatt	aattaccgaa	cagaaattga	caaaccatcc	300
cagatgcaag	tgaccgatgt	tcaggacaac	agcattagtg	tcaagtggct	gccttcaagt	360
tcccctgtta	ctggttacag	agtaaccacc	actcccaaaa	atggaccagg	accaacaaaa	420
actaaaactg	caggtccaga	tcaaacagaa	atgactattg	aaggcttgca	gcccacagtg	480
gagtatgtgg	ttagtgtcta	tgctcagaat	ccaagcggag	agagtcagcc	tctggttcag	540
actgcagtaa	ccaacattga	tcgccctaaa	ggactggcat	tcactgatgt	ggatgtcgat	600
tccatcaaaa	ttgcttgagg	aagcccacag	gggcaagttt	ccaggtacag	ggtgacctac	660
tcgagccctg	aggatggaat	ccatgagcta	ttccctgcac	ctgatggtga	agaagacact	720

- 13 -

```

gcagagctgc aaggcctcag accgggttct gactacacag tcagtgtggt tgccttgac 780
gatgatattg agagccagcc cctgattgga acccagtcca cagctattcc tgcaccaact 840
gacctgaagt tcaactcaggt cacaccacaca agcctgagcg cccagtggac accacccaat 900
gttcagctca ctggatatcg agtgccgggtg acccccaagg agaagaccgg accaatgaaa 960
gaaatcaacc ttgctcctga cagctcatcc gtggttgat caggacttat ggtggccacc 1020
aaatatgaag tgagtgtcta tgctcttaag gacactttga caagcagacc agctcagggt 1080
gttgtcacca ctctggagaa tgtcagccca ccaagaaggg ctctgtgtgac agatgctact 1140
gagaccacca tcaccattag ctggagaacc aagactgaga cgatcactgg cttccaagtt 1200
gatgccgttc cagccaatgg ccagactcca atccagagaa ccatcaagcc agatgtcaga 1260
agctacacca tcacagggtt acaaccaggc actgactaca agatctacct gtacaccttg 1320
aatgacaatg ctcgagctc ccctgtgggt atcgagcct ccactgccat tgatgcacca 1380
tccaacctgc gtttcctggc caccacaccc aattccttgc tggatcatg gcagccgcca 1440
cgtgccagga ttaccggcta catcatcaag tatgagaagc ctgggtctcc tcccagagaa 1500
gtggtcctc ggcccgcgc tggtgtcaca gaggtacta ttactggcct ggaaccggga 1560
accgaatata caatttatgt cattgccctg aagaataatc agaagagcga gccctgatt 1620
ggaaggaaaa agaca 1635

```

<210> 10
 <211> 545
 <212> PRT
 <213> séquence artificielle

<220>
 <223> protéine s'étendant des résidus 1447 à 1991
 de la séquence SEQ ID NO : 2

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

- 14 -

195					200					205					
Pro	Gln	Gly	Gln	Val	Ser	Arg	Tyr	Arg	Val	Thr	Tyr	Ser	Ser	Pro	Glu
210					215					220					
Asp	Gly	Ile	His	Glu	Leu	Phe	Pro	Ala	Pro	Asp	Gly	Glu	Glu	Asp	Thr
225					230					235					240
Ala	Glu	Leu	Gln	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly	Ser	Glu	Tyr	Thr	Val	Ser	Val
				245					250					255	
Val	Ala	Leu	His	Asp	Asp	Met	Glu	Ser	Gln	Pro	Leu	Ile	Gly	Thr	Gln
			260					265					270		
Ser	Thr	Ala	Ile	Pro	Ala	Pro	Thr	Asp	Leu	Lys	Phe	Thr	Gln	Val	Thr
		275					280					285			
Pro	Thr	Ser	Leu	Ser	Ala	Gln	Trp	Thr	Pro	Pro	Asn	Val	Gln	Leu	Thr
		290				295					300				
Gly	Tyr	Arg	Val	Arg	Val	Thr	Pro	Lys	Glu	Lys	Thr	Gly	Pro	Met	Lys
305					310					315					320
Glu	Ile	Asn	Leu	Ala	Pro	Asp	Ser	Ser	Ser	Val	Val	Val	Ser	Gly	Leu
				325					330					335	
Met	Val	Ala	Thr	Lys	Tyr	Glu	Val	Ser	Val	Tyr	Ala	Leu	Lys	Asp	Thr
			340					345					350		
Leu	Thr	Ser	Arg	Pro	Ala	Gln	Gly	Val	Val	Thr	Thr	Leu	Glu	Asn	Val
		355					360					365			
Ser	Pro	Pro	Arg	Arg	Ala	Arg	Val	Thr	Asp	Ala	Thr	Glu	Thr	Thr	Ile
		370				375					380				
Thr	Ile	Ser	Trp	Arg	Thr	Lys	Thr	Glu	Thr	Ile	Thr	Gly	Phe	Gln	Val
385					390					395					400
Asp	Ala	Val	Pro	Ala	Asn	Gly	Gln	Thr	Pro	Ile	Gln	Arg	Thr	Ile	Lys
				405					410					415	
Pro	Asp	Val	Arg	Ser	Tyr	Thr	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln	Pro	Gly	Thr	Asp
			420					425					430		
Tyr	Lys	Ile	Tyr	Leu	Tyr	Thr	Leu	Asn	Asp	Asn	Ala	Arg	Ser	Ser	Pro
		435					440					445			
Val	Val	Ile	Asp	Ala	Ser	Thr	Ala	Ile	Asp	Ala	Pro	Ser	Asn	Leu	Arg
		450				455					460				
Phe	Leu	Ala	Thr	Thr	Pro	Asn	Ser	Leu	Leu	Val	Ser	Trp	Gln	Pro	Pro
465					470					475					480
Arg	Ala	Arg	Ile	Thr	Gly	Tyr	Ile	Ile	Lys	Tyr	Glu	Lys	Pro	Gly	Ser
				485					490					495	
Pro	Pro	Arg	Glu	Val	Val	Pro	Arg	Pro	Arg	Pro	Gly	Val	Thr	Glu	Ala
			500				505						510		
Thr	Ile	Thr	Gly	Leu	Glu	Pro	Gly	Thr	Glu	Tyr	Thr	Ile	Tyr	Val	Ile
		515					520					525			
Ala	Leu	Lys	Asn	Asn	Gln	Lys	Ser	Glu	Pro	Leu	Ile	Gly	Arg	Lys	Lys
		530				535					540				

- 15 -

Thr
545

<210> 11
<211> 1605
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> séquence nucléotidique s'étendant des nucléotides 4339 à 5943
de la séquence SEQ ID NO : 1

```

<400> 11
gtttctgatg ttccgagggg cctggaagtt gttgctgcga ccccaccag cctactgatc 60
agctgggatg ctcctgctgt cacagtgaga tattacagga tcacttacgg agaaacagga 120
ggaaatagcc ctgtccagga gttcactgtg cctgggagca agtctacagc taccatcagc 180
ggccttaaac ctggagttga ttataccatc actgtgtatg ctgtcactgg ccgtggagac 240
agccccgcaa gcagcaagcc aatttccatt aattaccgaa cagaaattga caaaccatcc 300
cagatgcaag tgaccgatgt tcaggacaac agcattagtg tcaagtggct gccttcaagt 360
tcccctgtta ctggttacag agtaaccacc actcccaaaa atggaccagg accaacaaaa 420
actaaaactg cagggtccaga tcaaacagaa atgactattg aaggcttgca gccacagtgc 480
gagtatgtgg ttagtgtcta tgctcagaat ccaagcggag agagtcagcc tctggttcag 540
atgacgataa ccaacattga tcgcccataa ggactggcat tcactgatgt ggatgtcgat 600
tccatcaaaa ttgcttggga aagcccacag gggcaagttt ccaggtacag ggtgacctac 660
tcgagccctg aggatggaat ccatgagcta ttccctgcac ctgatggtga agaagacact 720
gcagagctgc aaggcctcag accgggttct gactacacag tcagtgtggt tgccttgcac 780
gatgatatgg agagccagcc cctgattgga acccagtcca cagctattcc tgcaccaact 840
gacctgaagt tcactcaggt cacaccacac agcctgagcg cccagtggac accaccaat 900
gttcagctca ctggatatcg agtgcggtg acccccaagg agaagaccgg accaatgaaa 960
gaaatcaacc ttgctcctga cagctcatcc gtggttgtat caggacttat ggtggccacc 1020
aaatatgaag tgagtgtcta tgctcttaag gacactttga caagcagacc agctcagggt 1080
gttgtcacca ctctggagaa tgcagcccca ccaagaaggg ctctgtgtgac agatgtact 1140
gagaccacca tcaccattag ctggagaacc aagactgaga cgatcactgg cttccaagtt 1200
gatgccgttc cagccaatgg ccagactcca atccagagaa ccatcaagcc agatgtcaga 1260
agctacacca tcacaggttt acaaccaggc actgactaca agatctacct gtacaccttg 1320
aatgacaatg ctcggagctc ccctgtgggt atcgacgcct ccactgccat tgatgcacca 1380
tccaacctgc gtttcctggc caccacaccc aattccttgc tggatcatg gcagccgcca 1440
cgtgccagga ttaccggcta catcatcaag tatgagaagc ctgggtctcc tcccagagaa 1500
gtggtccctc ggcccgcgcc tgggtgtcaca gaggctacta ttactggcct ggaaccggga 1560
accgaatata caatttatgt cattgccctg aagaataatc agaag 1605

```

<210> 12
<211> 535
<212> PRT
<213> séquence artificielle

<220>
<223> protéine s'étendant des résidus 1447 à 1981
de la séquence SEQ ID NO : 2

```

<400> 12
Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr
1          5          10          15

Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr
20          25          30

Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe
35          40          45

Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro
50          55          60

```

- 16 -

Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Gly Arg Gly Asp
 65 70 75 80
 Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile
 85 90 95
 Asp Lys Pro Ser Gln Met Gln Val Thr Asp Val Gln Asp Asn Ser Ile
 100 105 110
 Ser Val Lys Trp Leu Pro Ser Ser Ser Pro Val Thr Gly Tyr Arg Val
 115 120 125
 Thr Thr Thr Pro Lys Asn Gly Pro Gly Pro Thr Lys Thr Lys Thr Ala
 130 135 140
 Gly Pro Asp Gln Thr Glu Met Thr Ile Glu Gly Leu Gln Pro Thr Val
 145 150 155 160
 Glu Tyr Val Val Ser Val Tyr Ala Gln Asn Pro Ser Gly Glu Ser Gln
 165 170 175
 Pro Leu Val Gln Thr Ala Val Thr Asn Ile Asp Arg Pro Lys Gly Leu
 180 185 190
 Ala Phe Thr Asp Val Asp Val Asp Ser Ile Lys Ile Ala Trp Glu Ser
 195 200 205
 Pro Gln Gly Gln Val Ser Arg Tyr Arg Val Thr Tyr Ser Ser Pro Glu
 210 215 220
 Asp Gly Ile His Glu Leu Phe Pro Ala Pro Asp Gly Glu Glu Asp Thr
 225 230 235 240
 Ala Glu Leu Gln Gly Leu Arg Pro Gly Ser Glu Tyr Thr Val Ser Val
 245 250 255
 Val Ala Leu His Asp Asp Met Glu Ser Gln Pro Leu Ile Gly Thr Gln
 260 265 270
 Ser Thr Ala Ile Pro Ala Pro Thr Asp Leu Lys Phe Thr Gln Val Thr
 275 280 285
 Pro Thr Ser Leu Ser Ala Gln Trp Thr Pro Pro Asn Val Gln Leu Thr
 290 295 300
 Gly Tyr Arg Val Arg Val Thr Pro Lys Glu Lys Thr Gly Pro Met Lys
 305 310 315 320
 Glu Ile Asn Leu Ala Pro Asp Ser Ser Ser Val Val Val Ser Gly Leu
 325 330 335
 Met Val Ala Thr Lys Tyr Glu Val Ser Val Tyr Ala Leu Lys Asp Thr
 340 345 350
 Leu Thr Ser Arg Pro Ala Gln Gly Val Val Thr Thr Leu Glu Asn Val
 355 360 365
 Ser Pro Pro Arg Arg Ala Arg Val Thr Asp Ala Thr Glu Thr Thr Ile
 370 375 380
 Thr Ile Ser Trp Arg Thr Lys Thr Glu Thr Ile Thr Gly Phe Gln Val
 385 390 395 400

Asp	Ala	Val	Pro	Ala 405	Asn	Gly	Gln	Thr	Pro 410	Ile	Gln	Arg	Thr	Ile 415	Lys
Pro	Asp	Val	Arg 420	Ser	Tyr	Thr	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln	Pro	Gly	Thr	Asp
Tyr	Lys	Ile 435	Tyr	Leu	Tyr	Thr	Leu	Asn	Asp	Asn	Ala	Arg 445	Ser	Ser	Pro
Val	Val	Ile 450	Asp	Ala	Ser	Thr 455	Ala	Ile	Asp	Ala	Pro 460	Ser	Asn	Leu	Arg
Phe 465	Leu	Ala	Thr	Thr	Pro 470	Asn	Ser	Leu	Leu	Val 475	Ser	Trp	Gln	Pro	Pro 480
Arg	Ala	Arg	Ile 485	Thr	Gly	Tyr	Ile	Ile	Lys 490	Tyr	Glu	Lys	Pro	Gly 495	Ser
Pro	Pro	Arg	Glu 500	Val	Val	Pro	Arg	Pro 505	Arg	Pro	Gly	Val	Thr 510	Glu	Ala
Thr	Ile	Thr 515	Gly	Leu	Glu	Pro	Gly 520	Thr	Glu	Tyr	Thr	Ile 525	Tyr	Val	Ile
Ala	Leu	Lys 530	Asn	Asn	Gln	Lys 535									

<220>
<223> séquence nucléotidique s'étendant des nucléotides 5437 à 5931
de la séquence SEQ ID NO : 1

<400>	13						
aatgtcagcc	caccaagaag	ggctcgtgtg	acagatgcta	ctgagaccac	catcaccatt		60
agctggagaa	ccaagactga	gacgatcact	ggcttccaag	ttgatgccgt	tccagccaat		120
ggccagactc	caatccagag	aaccatcaag	ccagatgtca	gaagctacac	catcacaggt		180
ttacaaccag	gcactgacta	caagatctac	ctgtacacct	tgaatgacaa	tgctcggagc		240
tcccctgtgg	tcatcgacgc	ctccactgcc	attgatgcac	catccaacct	gcgtttcctg		300
gccaccacac	ccaattcctt	gctggatatca	tggcagccgc	cacgtgccag	gattaccggc		360
tacatcatca	agtatgagaa	gcctgggtct	cctcccagag	aagtgggtcc	tcggccccgc		420
ctcgggtgtca	cagaggctac	tattactggc	ctggaaccgg	gaaccgaata	tacaatttat		480
gtcattqccc	tgaag						495

```
<220>
<223> protéine s'étendant des résidus 1813 à 1977
de la séquence SEQ ID NO : 2
```

```
<400> 14
Asn Val Ser Pro Pro Arg Arg Ala Arg Val Thr Asp Ala Thr Glu Thr
1          5          10          15

Thr Ile Thr Ile Ser Trp Arg Thr Lys Thr Glu Thr Ile Thr Gly Phe
          20          25          30
```

- 18 -

Gln Val Asp Ala Val Pro Ala Asn Gly Gln Thr Pro Ile Gln Arg Thr
 35 40 45

Ile Lys Pro Asp Val Arg Ser Tyr Thr Ile Thr Gly Leu Gln Pro Gly
 50 55 60

Thr Asp Tyr Lys Ile Tyr Leu Tyr Thr Leu Asn Asp Asn Ala Arg Ser
 65 70 75 80

Ser Pro Val Val Ile Asp Ala Ser Thr Ala Ile Asp Ala Pro Ser Asn
 85 90 95

Leu Arg Phe Leu Ala Thr Thr Pro Asn Ser Leu Leu Val Ser Trp Gln
 100 105 110

Pro Pro Arg Ala Arg Ile Thr Gly Tyr Ile Ile Lys Tyr Glu Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Pro Pro Arg Glu Val Val Pro Arg Pro Arg Pro Gly Val Thr
 130 135 140

Glu Ala Thr Ile Thr Gly Leu Glu Pro Gly Thr Glu Tyr Thr Ile Tyr
 145 150 155 160

Val Ile Ala Leu Lys
 165

<210> 15
 <211> 786
 <212> ADN
 <213> séquence artificielle

<220>
 <223> séquence nucléotidique s'étendant des nucléotides 5146 à 5931
 de la séquence SEQ ID NO : 1

<400> 15
 ggaacccagt ccacagctat tctgcacca actgacctga agttcactca ggtcacaccc 60
 acaagcctga gcgcccagtg gacaccaccc aatgttcagc tcactggata tcgagtgcg 120
 gtgaccccca aggagaagac cggaccaatg aaagaaatca accttgctcc tgacagctca 180
 tccgtggttg tatcaggact tatggtggcc accaaatatg aagtgagtgt ctatgctctt 240
 aaggacactt tgacaagcag accagctcag ggtgttgctca ccactctgga gaatgtcagc 300
 ccaccaagaa gggctcgtgt gacagatgct actgagacca ccatcacat tagctggaga 360
 accaagactg agacgatcac tggcttccaa gttgatgccg ttccagccaa tggccagact 420
 ccaatccaga gaaccatcaa gccagatgtc agaagctaca ccatcacagg tttaacaacca 480
 ggcactgact acaagatcta cctgtacacc ttgaatgaca atgctcggag ctcccctgtg 540
 gtcactgacg cctccactgc cattgatgca ccatccaacc tgcgtttcct ggccaccaca 600
 cccaattcct tgctggtatc atggcagccg ccacgtgcca ggattaccgg ctacatcatc 660
 aagtatgaga agcctgggtc tctcccaga gaagtgggtc ctcggccccg ccctgggtgc 720
 acagaggcta ctattactgg cctggaaccg ggaaccgaat atacaattta tgtcattgcc 780
 ctgaag 786

<210> 16
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> séquence artificielle

<220>
 <223> protéine s'étendant des résidus 1716 à 1977
 de la séquence SEQ ID NO : 2

<400> 16
 Gly Thr Gln Ser Thr Ala Ile Pro Ala Pro Thr Asp Leu Lys Phe Thr

[illegible]

```
<210> 17
<211> 1593
<212> ADN
<213> séquence artificielle
```

<220>
<223> séquence nucléotidique s'étendant des nucléotides 4339 à 5931
de la séquence SEQ ID NO : 1 (clone A)

<400>	17						
gtttctgatg	ttccgagggg	cctggaagtt	gttgctgcga	ccccaccag	cctactgac		60
agctgggatg	ctcctgctgt	cacactgaga	tattacagga	tcacttacgg	agaaacagga		120
ggaatatagc	ctgtccagga	gttactgtg	cctgggagca	agtctacag	taccatcagc		180
gcctttaa	ctggagttag	ttataccatc	actgtgtatg	ctgtcactgg	ccgtggagac		240

- 20 -

```

agccccgcaa gcagcaagcc aatttccatt aattaccgaa cagaaattga caaaccatcc 300
cagatgcaag tgaccgatgt tcaggacaac agcattagt tcaagtggct gccttcaagt 360
tccccgttta ctggttacag agtaaccacc actcccaaaa atggaccagg accaacaaaa 420
actaaaactg caggtccaga tcaaacagaa atgactattg aaggcttgca gcccacagtg 480
gagtatgtgg ttagtgtcta tgctcagaat ccaagcggag agagtcagcc tctggttcag 540
actgcagtaa ccaacattga tcgccctaaa ggactggcat tcactgatgt ggatgtcgat 600
tccatcaaaa ttgcttggga aagcccacag gggcaagttt ccaggtacag ggtgacctac 660
tcgagccctg aggatggaat ccatgagcta ttcctgcac ctgatggtga agaagacact 720
gcagagctgc aaggcctcag accgggttct gagtacacag tcagtgtggt tgccttgac 780
gatgatatgg agagccagcc cctgattgga acccagtcca cagctattcc tgcaccaact 840
gacctgaagt tcactcaggt cacaccacac agcctgagcg cccagtggac accaccaat 900
gttcagctca ctggatatcg agtgccgggtg acccccaagg agaagaccgg accaatgaaa 960
gaaatcaacc ttgctcctga cagctcatcc gtggttggat caggacttat ggtggccacc 1020
aaatatgaag ttgagtgtcta tgctcttaag gcactttga caagcagacc agctcagggt 1080
gttggtcacca ctctggagaa tgtcagccca ccaagaaggg ctctgtgtgac agatgctact 1140
gagaccacca tcaccattag ctggagaacc aagactgaga cgatcactgg cttccaagtt 1200
gatgccgttc cagccaatgg ccagactcca atccagagaa ccatcaagcc agatgtcaga 1260
agctacacca tcacagggtt acaaccaggc actgactaca agatctacct gtacaccttg 1320
aatgacaatg ctccggagctc ccctgtggtc atcgagcct ccactgccat tgatgcacca 1380
tccaacatgc gtttcctggc caccacacc aattccttgc tggatcatg gcagccgcca 1440
cgtgccagga ttaccggcta catcatcaag tatgagaagc ctgggtctcc tcccagagaa 1500
gtggtccttc ggccccgcc tggtgtcaca gaggtacta ttactggcct ggaaccggga 1560
accgaatata caatttatgt cattgccctg aag 1593

```

<210> 18
 <211> 531
 <212> PRT
 <213> séquence artificielle

<220>
 <223> protéine s'étendant des résidus 1447 à 1977
 de la séquence SEQ ID NO : 2 (clone A)

<400> 18
 Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr
 1 5 10 15
 Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr
 20 25 30
 Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe
 35 40 45
 Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro
 50 55 60
 Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Gly Arg Gly Asp
 65 70 75 80
 Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile
 85 90 95
 Asp Lys Pro Ser Gln Met Gln Val Thr Asp Val Gln Asp Asn Ser Ile
 100 105 110
 Ser Val Lys Trp Leu Pro Ser Ser Ser Pro Val Thr Gly Tyr Arg Val
 115 120 125
 Thr Thr Thr Pro Lys Asn Gly Pro Gly Pro Thr Lys Thr Lys Thr Ala
 130 135 140
 Gly Pro Asp Gln Thr Glu Met Thr Ile Glu Gly Leu Gln Pro Thr Val
 145 150 155 160

- 21 -

Glu	Tyr	Val	Val	Ser	Val	Tyr	Ala	Gln	Asn	Pro	Ser	Gly	Glu	Ser	Gln
				165					170					175	
Pro	Leu	Val	Gln	Thr	Ala	Val	Thr	Asn	Ile	Asp	Arg	Pro	Lys	Gly	Leu
			180					185					190		
Ala	Phe	Thr	Asp	Val	Asp	Val	Asp	Ser	Ile	Lys	Ile	Ala	Trp	Glu	Ser
		195					200					205			
Pro	Gln	Gly	Gln	Val	Ser	Arg	Tyr	Arg	Val	Thr	Tyr	Ser	Ser	Pro	Glu
	210					215					220				
Asp	Gly	Ile	His	Glu	Leu	Phe	Pro	Ala	Pro	Asp	Gly	Glu	Glu	Asp	Thr
225					230					235					240
Ala	Glu	Leu	Gln	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly	Ser	Glu	Tyr	Thr	Val	Ser	Val
				245					250					255	
Val	Ala	Leu	His	Asp	Asp	Met	Glu	Ser	Gln	Pro	Leu	Ile	Gly	Thr	Gln
			260					265					270		
Ser	Thr	Ala	Ile	Pro	Ala	Pro	Thr	Asp	Leu	Lys	Phe	Thr	Gln	Val	Thr
		275					280					285			
Pro	Thr	Ser	Leu	Ser	Ala	Gln	Trp	Thr	Pro	Pro	Asn	Val	Gln	Leu	Thr
	290					295					300				
Gly	Tyr	Arg	Val	Arg	Val	Thr	Pro	Lys	Glu	Lys	Thr	Gly	Pro	Met	Lys
305					310					315					320
Glu	Ile	Asn	Leu	Ala	Pro	Asp	Ser	Ser	Ser	Val	Val	Val	Ser	Gly	Leu
				325					330					335	
Met	Val	Ala	Thr	Lys	Tyr	Glu	Val	Ser	Val	Tyr	Ala	Leu	Lys	Asp	Thr
			340					345					350		
Leu	Thr	Ser	Arg	Pro	Ala	Gln	Gly	Val	Val	Thr	Thr	Leu	Glu	Asn	Val
		355					360					365			
Ser	Pro	Pro	Arg	Arg	Ala	Arg	Val	Thr	Asp	Ala	Thr	Glu	Thr	Thr	Ile
	370					375					380				
Thr	Ile	Ser	Trp	Arg	Thr	Lys	Thr	Glu	Thr	Ile	Thr	Gly	Phe	Gln	Val
385					390					395					400
Asp	Ala	Val	Pro	Ala	Asn	Gly	Gln	Thr	Pro	Ile	Gln	Arg	Thr	Ile	Lys
				405					410					415	
Pro	Asp	Val	Arg	Ser	Tyr	Thr	Ile	Thr	Gly	Leu	Gln	Pro	Gly	Thr	Asp
			420					425					430		
Tyr	Lys	Ile	Tyr	Leu	Tyr	Thr	Leu	Asn	Asp	Asn	Ala	Arg	Ser	Ser	Pro
		435					440					445			
Val	Val	Ile	Asp	Ala	Ser	Thr	Ala	Ile	Asp	Ala	Pro	Ser	Asn	Leu	Arg
		450				455					460				
Phe	Leu	Ala	Thr	Thr	Pro	Asn	Ser	Leu	Leu	Val	Ser	Trp	Gln	Pro	Pro
465					470					475					480
Arg	Ala	Arg	Ile	Thr	Gly	Tyr	Ile	Ile	Lys	Tyr	Glu	Lys	Pro	Gly	Ser
				485					490					495	
Pro	Pro	Arg	Glu	Val	Val	Pro	Arg	Pro	Arg	Pro	Gly	Val	Thr	Glu	Ala
			500					505					510		

- 22 -

Thr Ile Thr Gly Leu Glu Pro Gly Thr Glu Tyr Thr Ile Tyr Val Ile
 515 520 525

Ala Leu Lys
 530

<210> 19

<211> 798

<212> ADN

<213> séquence artificielle

<220>

<223> séquence nucléotidique s'étendant des nucléotides 5146 à 5943
 de la séquence SEQ ID NO : 1 (fibstatine)

<400> 19

ggaacccagt	ccacagctat	tcctgcacca	actgacctga	agttcactca	ggtcacaccc	60
acaagcctga	gcgcccagtg	gacaccaccc	aatgttcagc	tcactggata	tcgagtgcgg	120
gtgacccccca	aggagaagac	cggaccaatg	aaagaaatca	accttgctcc	tgacagctca	180
tcctgtggttg	tatcaggact	tatggtggcc	accaaatatg	aagtgagtgt	ctatgctctt	240
aaggacactt	tgacaagcag	accagctcag	ggtgttggtca	ccactctgga	gaatgtcagc	300
ccaccaagaa	gggctcgtgt	gacagatgct	actgagacca	ccatcaccat	tagctggaga	360
accaagactg	agacgatcac	tggtctccaa	ggtgatgccg	ttccagccaa	tggtccagact	420
ccaatccaga	gaaccatcaa	gccagatgtc	agaagctaca	ccatcacagg	tttacaacca	480
ggcactgact	acaagatcta	cctgtacacc	ttgaatgaca	atgctcggag	ctcccctgtg	540
gtcatcgacg	cctccactgc	cattgatgca	ccatccaacc	tgcgtttcct	ggccaccaca	600
cccaattcct	tgctgggtatc	atggcagccg	ccacgtgccca	ggattaccgg	ctacatcatc	660
aagtatgaga	agcctgggtc	tcctcccaga	gaagtgggtcc	ctcggtcccg	ccctgggtgtc	720
acagaggcta	ctattactgg	cctggaaccg	ggaaccgaat	atacaattta	tgtcattgcc	780
ctgaagaata	atcagaag					798

<210> 20

<211> 266

<212> PRT

<213> séquence artificielle

<220>

<223> protéine s'étendant des résidus 1716 à 1981
 de la séquence SEQ ID NO : 2 (fibstatine)

<400> 20

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

- 23 -

Glu Asn Val Ser Pro Pro Arg Arg Ala Arg Val Thr Asp Ala Thr Glu
 100 105 110
 Thr Thr Ile Thr Ile Ser Trp Arg Thr Lys Thr Glu Thr Ile Thr Gly
 115 120 125
 Phe Gln Val Asp Ala Val Pro Ala Asn Gly Gln Thr Pro Ile Gln Arg
 130 135 140
 Thr Ile Lys Pro Asp Val Arg Ser Tyr Thr Ile Thr Gly Leu Gln Pro
 145 150 155 160
 Gly Thr Asp Tyr Lys Ile Tyr Leu Tyr Thr Leu Asn Asp Asn Ala Arg
 165 170 175
 Ser Ser Pro Val Val Ile Asp Ala Ser Thr Ala Ile Asp Ala Pro Ser
 180 185 190
 Asn Leu Arg Phe Leu Ala Thr Thr Pro Asn Ser Leu Leu Val Ser Trp
 195 200 205
 Gln Pro Pro Arg Ala Arg Ile Thr Gly Tyr Ile Ile Lys Tyr Glu Lys
 210 215 220
 Pro Gly Ser Pro Pro Arg Glu Val Val Pro Arg Pro Arg Pro Gly Val
 225 230 235 240
 Thr Glu Ala Thr Ile Thr Gly Leu Glu Pro Gly Thr Glu Tyr Thr Ile
 245 250 255
 Tyr Val Ile Ala Leu Lys Asn Asn Gln Lys
 260 265

<210> 21
 <211> 543
 <212> ADN
 <213> séquence artificielle

<220>
 <223> séquence nucléotidique s'étendant des nucléotides 5161 à 5703
 de la séquence SEQ ID NO : 1

<400> 21
 gctattcctg caccaactga cctgaagttc actcaggtca caccacaag cctgagcgcc 60
 cagtggacac cacccaatgt tcagctcact ggatatcgag tgcgggtgac ccccaaggag 120
 aagaccggac caatgaaaga aatcaacctt gctcctgaca gctcatccgt ggttgatca 180
 ggacttatgg tggccacca atataagtg agtgtctatg ctcttaagga cactttgaca 240
 agcagaccag ctcagggtgt tgtcaccact ctggagaatg tcagcccacc aagaagggt 300
 cgtgtgacag atgctactga gaccaccatc accattagct ggagaaccaa gactgagacg 360
 atcactggct tccaagttga tgccgttcca gccaatggcc agactccaat ccagagaacc 420
 atcaagccag atgtcagaag ctacaccatc acagggtttac aaccaggcac tgactacaag 480
 atctacctgt acaccttgaa tgacaatgct cggagctccc ctgtggtcat cgacgcctcc 540
 act 543

<210> 22
 <211> 181
 <212> PRT
 <213> séquence artificielle

<220>
 <223> protéine s'étendant des résidus 1721 à 1901
 de la séquence SEQ ID NO : 2

<400> 22

- 24 -

Ala Ile Pro Ala Pro Thr Asp Leu Lys Phe Thr Gln Val Thr Pro Thr
 1 5 10 15

Ser Leu Ser Ala Gln Trp Thr Pro Pro Asn Val Gln Leu Thr Gly Tyr
 20 25 30

Arg Val Arg Val Thr Pro Lys Glu Lys Thr Gly Pro Met Lys Glu Ile
 35 40 45

Asn Leu Ala Pro Asp Ser Ser Ser Val Val Val Ser Gly Leu Met Val
 50 55 60

Ala Thr Lys Tyr Glu Val Ser Val Tyr Ala Leu Lys Asp Thr Leu Thr
 65 70 75 80

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

Pro Arg Arg Ala Arg Val Thr Asp Ala Thr Glu Thr Thr Ile Thr Ile
 100 105 110

Ser Trp Arg Thr Lys Thr Glu Thr Ile Thr Gly Phe Gln Val Asp Ala
 115 120 125

Val Pro Ala Asn Gly Gln Thr Pro Ile Gln Arg Thr Ile Lys Pro Asp
 130 135 140

Val Arg Ser Tyr Thr Ile Thr Gly Leu Gln Pro Gly Thr Asp Tyr Lys
 145 150 155 160

Ile Tyr Leu Tyr Thr Leu Asn Asp Asn Ala Arg Ser Ser Pro Val Val
 165 170 175

Ile Asp Ala Ser Thr
 180

<210> 23
 <211> 771
 <212> ADN
 <213> séquence artificielle

<220>
 <223> séquence nucléotidique s'étendant des nucléotides 5161 à 5931
 de la SEQ ID NO : 1

<400> 23
 gctattcctg caccaactga cctgaagttc actcaggtca caccacaag cctgagcgcc 60
 cagtggacac cacccaatgt tcagctcact ggatatcgag tgcgggtgac cccaaggag 120
 aagaccggac caatgaaaga aatcaacctt gctcctgaca gctcatccgt ggttgatca 180
 ggacttatgg tggccaccaa atatgaagtg agtgtctatg ctcttaagga cactttgaca 240
 agcagaccag ctcagggtgt tgtcaccact ctggagaatg tcagcccacc aagaagggt 300
 cgtgtgacag atgctactga gaccaccatc accattagct ggagaaccaa gactgagacg 360
 atcactggct tccaagttga tgccgttcca gccaatggcc agactccaat ccagagaacc 420
 atcaagccag atgtcagaag ctacaccatc acagggtttac aaccaggcac tgactacaag 480
 atctacctgt acaccttgaa tgacaatgct cggagctccc ctgtgggtcat cgacgcctcc 540
 actgccattg atgcaccatc caacctgcgt ttcttgcca ccacacccaa ttcttgctg 600
 gtatcatggc agccgccacg tgccaggatt accggctaca tcatcaagta tgagaagcct 660
 ggggtctctc ccagagaagt ggtccctcgg ccccgccctg gtgtcacaga ggctactatt 720
 actggcctgg aaccgggaac cgaatatata atttatgtca ttgccctgaa g 771

<210> 24
 <211> 257
 <212> PRT

- 25 -

<213> séquence artificielle

<220>

<223> protéine s'étendant des résidus 1721 à 1977
de la séquence SEQ ID NO : 2

<400> 24

Ala Ile Pro Ala Pro Thr Asp Leu Lys Phe Thr Gln Val Thr Pro Thr
1 5 10 15Ser Leu Ser Ala Gln Trp Thr Pro Pro Asn Val Gln Leu Thr Gly Tyr
20 25 30Arg Val Arg Val Thr Pro Lys Glu Lys Thr Gly Pro Met Lys Glu Ile
35 40 45Asn Leu Ala Pro Asp Ser Ser Ser Val Val Val Ser Gly Leu Met Val
50 55 60Ala Thr Lys Tyr Glu Val Ser Val Tyr Ala Leu Lys Asp Thr Leu Thr
65 70 75 80Ser Arg Pro Ala Gln Gly Val Val Thr Thr Leu Glu Asn Val Ser Pro
85 90 95Pro Arg Arg Ala Arg Val Thr Asp Ala Thr Glu Thr Thr Ile Thr Ile
100 105 110Ser Trp Arg Thr Lys Thr Glu Thr Ile Thr Gly Phe Gln Val Asp Ala
115 120 125Val Pro Ala Asn Gly Gln Thr Pro Ile Gln Arg Thr Ile Lys Pro Asp
130 135 140Val Arg Ser Tyr Thr Ile Thr Gly Leu Gln Pro Gly Thr Asp Tyr Lys
145 150 155 160Ile Tyr Leu Tyr Thr Leu Asn Asp Asn Ala Arg Ser Ser Pro Val Val
165 170 175Ile Asp Ala Ser Thr Ala Ile Asp Ala Pro Ser Asn Leu Arg Phe Leu
180 185 190Ala Thr Thr Pro Asn Ser Leu Leu Val Ser Trp Gln Pro Pro Arg Ala
195 200 205Arg Ile Thr Gly Tyr Ile Ile Lys Tyr Glu Lys Pro Gly Ser Pro Pro
210 215 220Arg Glu Val Val Pro Arg Pro Arg Pro Gly Val Thr Glu Ala Thr Ile
225 230 235 240Thr Gly Leu Glu Pro Gly Thr Glu Tyr Thr Ile Tyr Val Ile Ala Leu
245 250 255

Lys

<210> 25

<211> 1626

<212> ADN

<213> séquence artificielle

<220>

- 26 -

<223> séquence nucléotidique s'étendant des nucléotides 4339 à 5964
de la séquence SEQ ID NO : 1

```

<400> 25
gtttctgatg ttccgaggga cctggaagtt gttgctgcga cccccaccag cctactgatc 60
agctgggatg ctctgctgtg cacagtgaga tattacagga tcacttacgg agaaacagga 120
ggaaatagcc ctgtccagga gttcactgtg cctgggagca agtctacagc taccatcagc 180
ggccttaaac ctggagttga ttataccatc actgtgtatg ctgtcactgg ccgtggagac 240
agccccgcaa gcagcaagcc aatttccatt aattaccgaa cagaaattga caaacatcc 300
cagatgcaag tgaccgatgt tcaggacaac agcattagtg tcaagtggct gccttcaagt 360
tcccctgtta ctggttacag agtaaccacc actcccaaaa atggaccagg accaacaaaa 420
actaaaactg caggtccaga tcaaacagaa atgactattg aaggcttgca gccacagtg 480
gagtatgtgg ttagtgtcta tgctcagaat ccaagcggag agagtcagcc tctggttcag 540
actgcagtaa ccaacattga tcgccctaaa ggactggcat tcaactgatg ggatgtcgat 600
tccatcaaaa ttgcttgagg aagcccacag gggcaagttt ccaggtacag ggtgacctac 660
tcgagccctg aggatggaat ccattgagcta ttccctgcac ctgatggtga agaagacact 720
gcagagctgc aaggcctcag accgggttct gagtacacag tcagtgtggt tgccttgac 780
gatgatatgg agagccagcc cctgattgga acccagtgca cagctattcc tgcaccaact 840
gacctgaagt tcactcaggt cacaccaca agcctgagcg cccagtggac accaccaat 900
gttcagctca ctggatatcg agtgcgggtg accccaagg agaagaccgg accaatgaaa 960
gaaatcaacc ttgctcctga cagctcatcc gtggttctat caggacttat ggtggccacc 1020
aaatatgaag tgagtgtcta tgctcttaag gacactttga caagcagacc agctcagggt 1080
gttgtcacca ctctggagaa tgtcagccca ccaagaaggg ctctgtgtgac agatgctact 1140
gagaccacca tcaccattag ctggagaacc aagactgaga cgatcactgg cttccaagtt 1200
gatgccgttc cagccaatgg ccagactcca atccagagaa ccatcaagcc agatgtcaga 1260
agctacacca tcacaggttt acaaccaggc actgactaca agatctacct gtacaccttg 1320
aatgacaatg ctcgagctc ccctgtggtc atcgacgcct cactgccat tgatgcacca 1380
tccaacctgc gtttcctggc caccacacc aattccttgc tggatcatg gcagccgcca 1440
cgtgccagga ttaccggcta catcatcaag tatgagaagc ctgggtctcc tcccagagaa 1500
gtggtccctc ggccccgccc tgggtgcaca gaggtacta ttactggcct ggaaccggga 1560
accgaatata caatttatgt cattgccctg aagaataatc agaagagcga gcccttgatt 1620
ggaagg 1626

```

<210> 26

<211> 542

<212> PRT

<213> séquence artificielle

<220>

<223> protéine s'étendant des résidus 1447 à 1988
de la séquence SEQ ID NO : 2

<400> 26

```

Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr
1           5           10           15

```

```

Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr
           20           25           30

```

```

Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe
           35           40           45

```

```

Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro
50           55           60

```

```

Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Gly Arg Gly Asp
65           70           75           80

```

```

Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile
           85           90           95

```

```

Asp Lys Pro Ser Gln Met Gln Val Thr Asp Val Gln Asp Asn Ser Ile
100           105           110

```

- 27 -

Ser Val Lys Trp Leu Pro Ser Ser Ser Pro Val Thr Gly Tyr Arg Val
 115 120 125
 Thr Thr Thr Pro Lys Asn Gly Pro Gly Pro Thr Lys Thr Lys Thr Ala
 130 135 140
 Gly Pro Asp Gln Thr Glu Met Thr Ile Glu Gly Leu Gln Pro Thr Val
 145 150 155 160
 Glu Tyr Val Val Ser Val Tyr Ala Gln Asn Pro Ser Gly Glu Ser Gln
 165 170 175
 Pro Leu Val Gln Thr Ala Val Thr Asn Ile Asp Arg Pro Lys Gly Leu
 180 185 190
 Ala Phe Thr Asp Val Asp Val Asp Ser Ile Lys Ile Ala Trp Glu Ser
 195 200 205
 Pro Gln Gly Gln Val Ser Arg Tyr Arg Val Thr Tyr Ser Ser Pro Glu
 210 215 220
 Asp Gly Ile His Glu Leu Phe Pro Ala Pro Asp Gly Glu Glu Asp Thr
 225 230 235 240
 Ala Glu Leu Gln Gly Leu Arg Pro Gly Ser Glu Tyr Thr Val Ser Val
 245 250 255
 Val Ala Leu His Asp Asp Met Glu Ser Gln Pro Leu Ile Gly Thr Gln
 260 265 270
 Ser Thr Ala Ile Pro Ala Pro Thr Asp Leu Lys Phe Thr Gln Val Thr
 275 280 285
 Pro Thr Ser Leu Ser Ala Gln Trp Thr Pro Pro Asn Val Gln Leu Thr
 290 295 300
 Gly Tyr Arg Val Arg Val Thr Pro Lys Glu Lys Thr Gly Pro Met Lys
 305 310 315 320
 Glu Ile Asn Leu Ala Pro Asp Ser Ser Ser Val Val Val Ser Gly Leu
 325 330 335
 Met Val Ala Thr Lys Tyr Glu Val Ser Val Tyr Ala Leu Lys Asp Thr
 340 345 350
 Leu Thr Ser Arg Pro Ala Gln Gly Val Val Thr Thr Leu Glu Asn Val
 355 360 365
 Ser Pro Pro Arg Arg Ala Arg Val Thr Asp Ala Thr Glu Thr Thr Ile
 370 375 380
 Thr Ile Ser Trp Arg Thr Lys Thr Glu Thr Ile Thr Gly Phe Gln Val
 385 390 395 400
 Asp Ala Val Pro Ala Asn Gly Gln Thr Pro Ile Gln Arg Thr Ile Lys
 405 410 415
 Pro Asp Val Arg Ser Tyr Thr Ile Thr Gly Leu Gln Pro Gly Thr Asp
 420 425 430
 Tyr Lys Ile Tyr Leu Tyr Thr Leu Asn Asp Asn Ala Arg Ser Ser Pro
 435 440 445
 Val Val Ile Asp Ala Ser Thr Ala Ile Asp Ala Pro Ser Asn Leu Arg

- 28 -

450

455

460

Phe Leu Ala Thr Thr Pro Asn Ser Leu Leu Val Ser Trp Gln Pro Pro
 465 470 475 480

Arg Ala Arg Ile Thr Gly Tyr Ile Ile Lys Tyr Glu Lys Pro Gly Ser
 485 490 495

Pro Pro Arg Glu Val Val Pro Arg Pro Arg Pro Gly Val Thr Glu Ala
 500 505 510

Thr Ile Thr Gly Leu Glu Pro Gly Thr Glu Tyr Thr Ile Tyr Val Ile
 515 520 525

Ala Leu Lys Asn Asn Gln Lys Ser Glu Pro Leu Ile Gly Arg
 530 535 540

<210> 27

<211> 507

<212> ADN

<213> séquence artificielle

<220>

<223> séquence nucléotidique s'étendant des nucléotides 5437 à 5943
 de la séquence SEQ ID NO : 1

<400> 27

aatgtcagcc	caccaagaag	ggctcgtgtg	acagatgcta	ctgagaccac	catcaccatt	60
agctggagaa	ccaagactga	gacgatcact	ggcttccaag	ttgatgccgt	tccagccaat	120
ggccagactc	caatccagag	aaccatcaag	ccagatgtca	gaagctacac	catcacaggt	180
ttacaaccag	gcactgacta	caagatctac	ctgtacacct	tgaatgacaa	tgctcggagc	240
tcccctgtgg	tcatcgacgc	ctccactgcc	attgatgcac	catccaacct	gcgtttcctg	300
gccaccacac	ccaattcctt	gctgggtatca	tggcagccgc	cacgtgccag	gattaccggc	360
tacatcatca	agtatgagaa	gcctgggtct	cctcccagag	aagtgggtccc	tcggccccgc	420
cctggtgtca	cagaggctac	tattactggc	ctggaaccgg	gaaccgaata	tacaatttat	480
gtcattgccc	tgaagaataa	tcagaag				507

<210> 28

<211> 169

<212> PRT

<213> séquence artificielle

<220>

<223> protéine s'étendant des résidus 1813 à 1981
 de la séquence SEQ ID NO : 2

<400> 28

Asn Val Ser Pro Pro Arg Arg Ala Arg Val Thr Asp Ala Thr Glu Thr
 1 5 10 15

Thr Ile Thr Ile Ser Trp Arg Thr Lys Thr Glu Thr Ile Thr Gly Phe
 20 25 30

Gln Val Asp Ala Val Pro Ala Asn Gly Gln Thr Pro Ile Gln Arg Thr
 35 40 45

Ile Lys Pro Asp Val Arg Ser Tyr Thr Ile Thr Gly Leu Gln Pro Gly
 50 55 60

Thr Asp Tyr Lys Ile Tyr Leu Tyr Thr Leu Asn Asp Asn Ala Arg Ser


```

<400>   30
Asn Val Ser  Pro  Pro  Arg  Arg  Ala  Arg  Val  Thr  Asp  Ala  Thr  Glu  Thr
 1                               5                               10                               15

Thr  Ile  Thr  Ile  Ser  Trp  Arg  Thr  Lys  Thr  Glu  Thr  Ile  Thr  Gly  Phe
                20                               25                               30

Gln  Val  Asp  Ala  Val  Pro  Ala  Asn  Gly  Gln  Thr  Pro  Ile  Gln  Arg  Thr
                35                               40                               45

Ile  Lys  Pro  Asp  Val  Arg  Ser  Tyr  Thr  Ile  Thr  Gly  Leu  Gln  Pro  Gly
 50                               55                               60

Thr  Asp  Tyr  Lys  Ile  Tyr  Leu  Tyr  Thr  Leu  Asn  Asp  Asn  Ala  Arg  Ser

```

- 30 -

65		70		75		80									
Ser	Pro	Val	Val	Ile	Asp	Ala	Ser	Thr	Ala	Ile	Asp	Ala	Pro	Ser	Asn
			85						90					95	
Leu	Arg	Phe	Leu	Ala	Thr	Thr	Pro	Asn	Ser	Leu	Leu	Val	Ser	Trp	Gln
			100					105						110	
Pro	Pro	Arg	Ala	Arg	Ile	Thr	Gly	Tyr	Ile	Ile	Lys	Tyr	Glu	Lys	Pro
		115					120					125			
Gly	Ser	Pro	Pro	Arg	Glu	Val	Val	Pro	Arg	Pro	Arg	Pro	Gly	Val	Thr
	130					135					140				
Glu	Ala	Thr	Ile	Thr	Gly	Leu	Glu	Pro	Gly	Thr	Glu	Tyr	Thr	Ile	Tyr
145					150					155					160
Val	Ile	Ala	Leu	Lys	Asn	Asn	Gln	Lys	Ser	Glu	Pro	Leu	Ile	Gly	Arg
			165						170					175	

Lys Lys Thr

<210> 31
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> séquence artificielle

<220>
 <223> amorce oligonucléotidique

<400> 31
 aaactcgaga ccatgggaac ccagtccaca gct 33

<210> 32
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> séquence artificielle

<220>
 <223> amorce oligonucléotidique

<400> 32
 aaaggatcct tacttcaggg caatgacata 30

<210> 33
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> séquence artificielle

<220>
 <223> amorce oligonucléotidique

<400> 33
 aaacccatggg aattcatact catcaggact ttcagcc 37

<210> 34
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> séquence artificielle

<220>

- 31 -

<223> amorce oligonucléotidique

<400> 34

ggatccttac tatttggaga aagaggcat gaagc

35