

12)

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22) Date de dépôt : 18.07.03.

30) Priorité :

43) Date de mise à la disposition du public de la
demande : 21.01.05 Bulletin 05/03.

56) Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

60) Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

71) Demandeur(s) : INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE
ET DE LA RECHERCHE MEDICALE INSERM Etablis-
sement public à caractère scientifique et technologique
— FR.

72) Inventeur(s) : PRATS HERVE, BOSSARD CARINE,
VAN DEN BERGHE LOIC, LAURELL HENRIK, ABIT-
BOL MARC et PRATS ANNE CATHERINE.

73) Titulaire(s) :

74) Mandataire(s) : GROSSET-FOURNIER CHANTAL
CATHERINE.

54) COMPOSES ANTI-ANGIOGENIQUES, COMPOSITION PHARMACEUTIQUE LES COMPRENANT, ET LEUR
UTILISATION.

57) La présente invention concerne l'utilisation d'une sé-
quence 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 cor-
respondant à SEQ ID NO: 10,

pour la préparation d'un médicament destiné à la pré-
vention 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.

FR 2 857 598 - A1



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

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

L'angiogénèse 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 tubulogénèse) des cellules endothéliales. L'angiogénèse est activée par certains facteurs de croissances, dits facteurs 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'angiogénèse est essentiellement restreinte au système reproducteur femelle et à la cicatrisation des plaies. Cependant, l'angiogénèse 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 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 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 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'angiogénèse 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 & Ruoslathi, *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 les séquences peptidiques de l'invention ont une activité anti-angiogénique en bloquant 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 Genebank : 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 Genebank : 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 recouverts 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 notamment 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 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 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 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 : 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 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.

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

L'invention concerne encore plus particulièrement 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
- 5 - 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
- 10 - 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
- 15 - 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.

20 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

25 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 : 26 correspond aux acides aminés 367 à 531 de SEQ ID NO : 10 et 1813 à 1977 de la fibronectine.

30 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 : 26 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 : 26 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'angiogénèse, 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'angiogénèse, 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 : 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 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 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.

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 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.

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

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
- 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.

SEQ ID NO : 17 correspond à la séquence s'étendant des nucléotides 4339 à 5931 de la 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 : 25 correspond à la séquence s'étendant des nucléotides 5437 à 5931 de la fibronectine.

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

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 :

- 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),

5 de la 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

10 - 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.

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.

15

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.

20

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).

25

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.

30

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 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 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 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
- 5 - 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.

10 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.

15 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.

25 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 :

- 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

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 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

15 - 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 ou à une séquence homologue.

20 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 : 11, ou

25 - 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 :

30 - 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.

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
- 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.

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 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.

5 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.

10 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 :

- 20 - 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
- 25 - 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
- 30 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

- 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
- 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.

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 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 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
- 5 - 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.

15 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.

20 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.

25 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.

30 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).

EXEMPLES

EXEMPLE 1

5 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.* 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 fabricant.

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.

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

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

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

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

10 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 le fragment C puisse s'associer à un autre fragment protéique pour reconstituer un fragment actif.

15 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
20 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

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

25

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

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 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, 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 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

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 μ m) et congelé à - 80°C.

b. Production par Escherichia coli

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 $DO_{600\text{ nm}}$ de 0,6-0,8 par addition d'IPTG (isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside) à la concentration de 0,5 mM.

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.

5 Le surnageant obtenu a été incubé avec 0,75 ml de billes de nickel-agarose préalablement 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

10 chromatographie Polyprep (Biorad) et éluées avec des fractions de 500 µl de Tampon C 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

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

20 été dialysée dans du PBS à 4°C et les protéines ont été purifiées sur colonne de nickel 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.

25 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

30 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 μ l 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
5 FGF-2 (**Figure 1**).

4. Effets de la fibstatine sur les cellules endothéliales

a. Culture des cellules

10 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
15 (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

20 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
25 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-
30 2. En effet, à 1 μ g/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.

5

c. Inhibition de la migration

3×10^5 cellules ABAE ont été ensemencées 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
10 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.

15

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
20 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
30 CytoTox 96 (Promega).

EXEMPLE 3

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

5 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*.

10

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 récupérés, dissous par du MatriSpere (Beckton et Dickinson) et les cellules endothéliales comptées à la cellule de Malassez.

15

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.

20 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 (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 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

30

et pesés. Les muscles ont ensuite été lysés dans 350 μ l 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 μ l de surnageant à l'aide du kit Galacto LightTM (Tropix). Le sérum des souris a également été
5 récupéré à l'aide de tubes Capiject (Terumo) contenant un gel de silice facilitant la 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
10 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**).

L'analyse des tumeurs a permis de montrer que les souris ayant reçu une injection du
15 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.

20 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, induisent également une diminution de la masse tumorale par rapport à des souris n'ayant reçu que le plasmide pSCT.

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

5 - 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,

10 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 :

15 - 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

20 - 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.

25 **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

30 - 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 :

- à SEQ ID NO : 3, ou

30 - 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
- 5 - 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 270 à 531 (SEQ ID NO : 16) 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 : 26, ou
- 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.

23. Acide nucléique, comprenant ou étant constitué d'une séquence codant pour l'une des séquences 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 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.

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

- 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.

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.

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

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

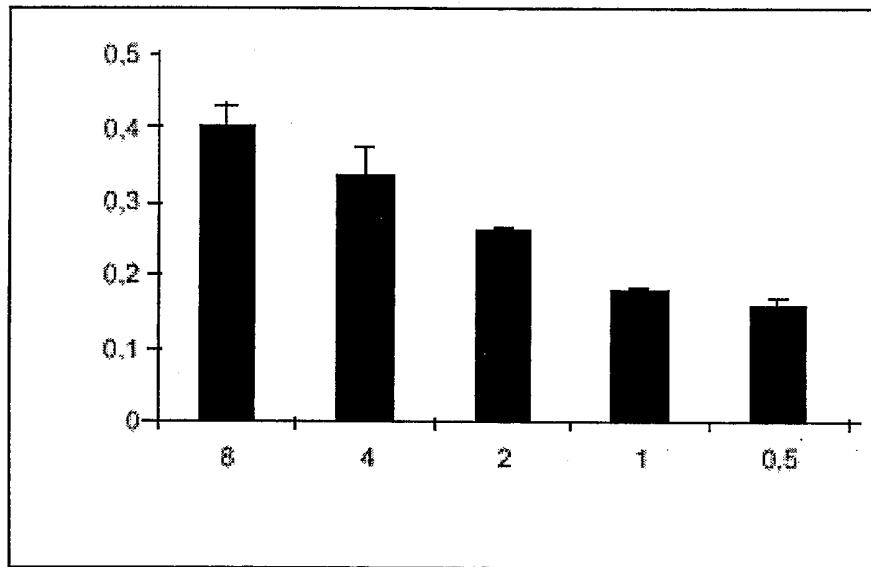


Figure 1

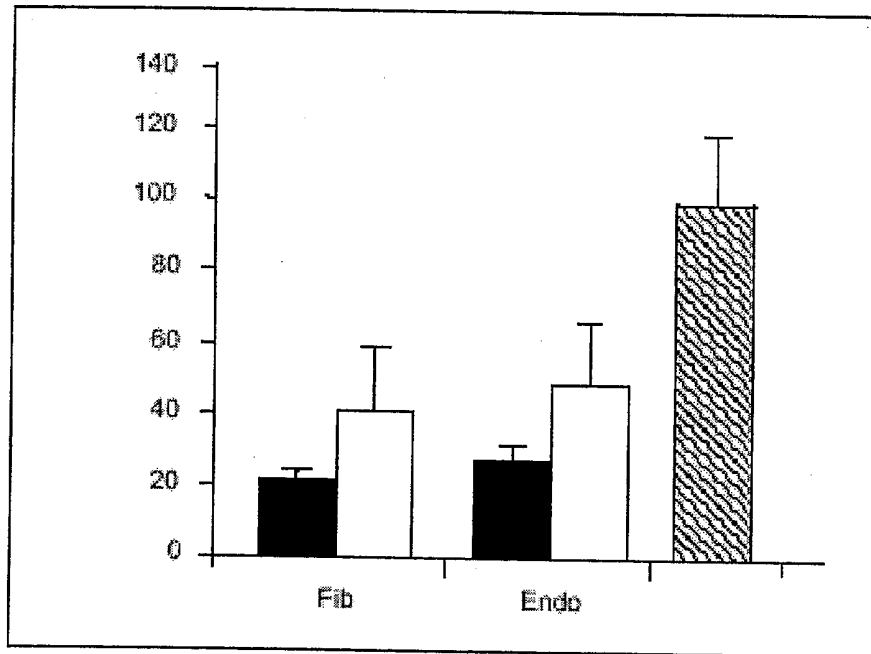


Figure 2

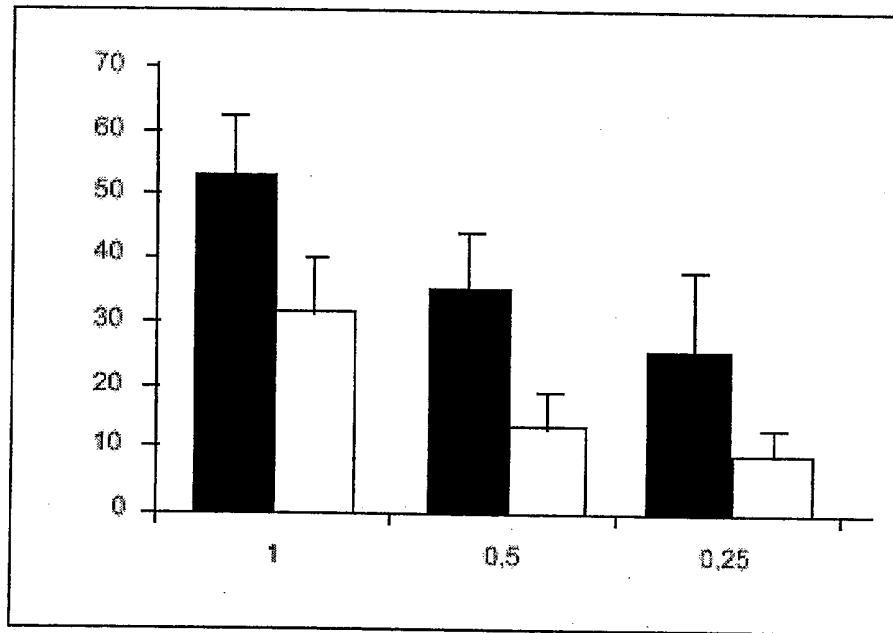


Figure 3

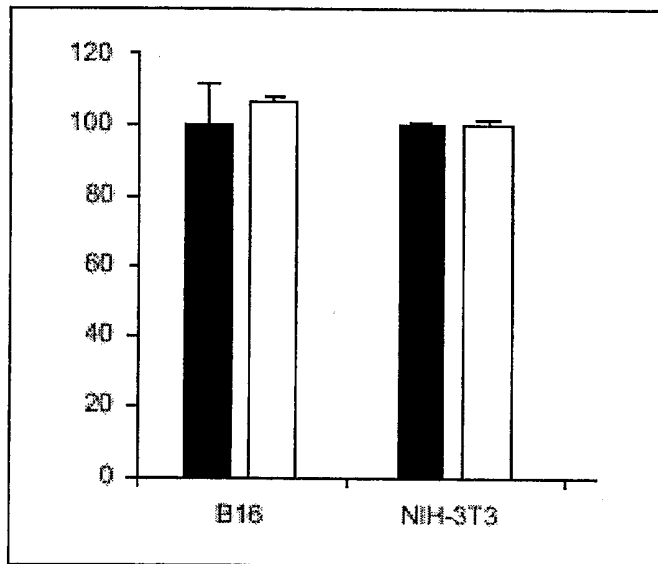


Figure 4

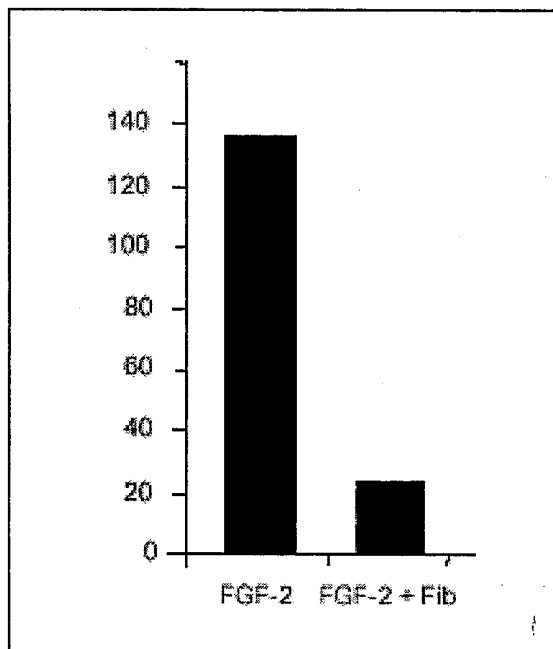
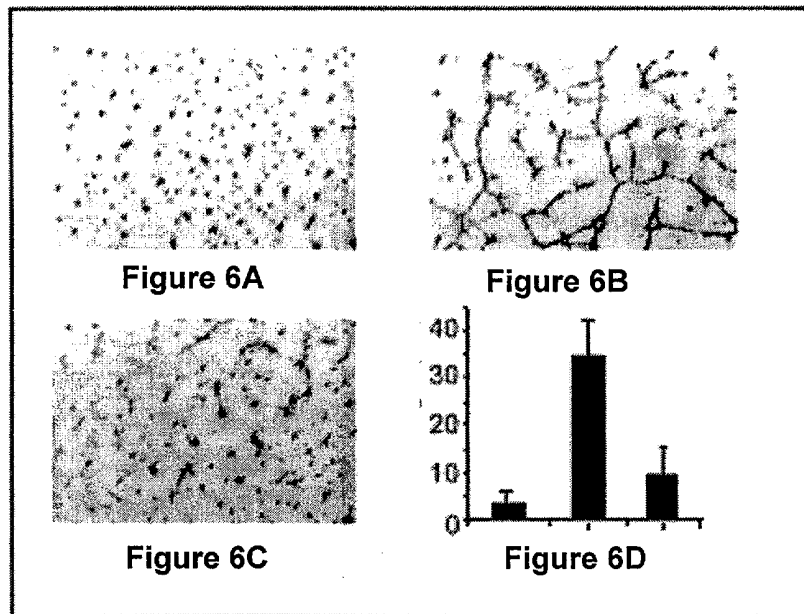


Figure 5



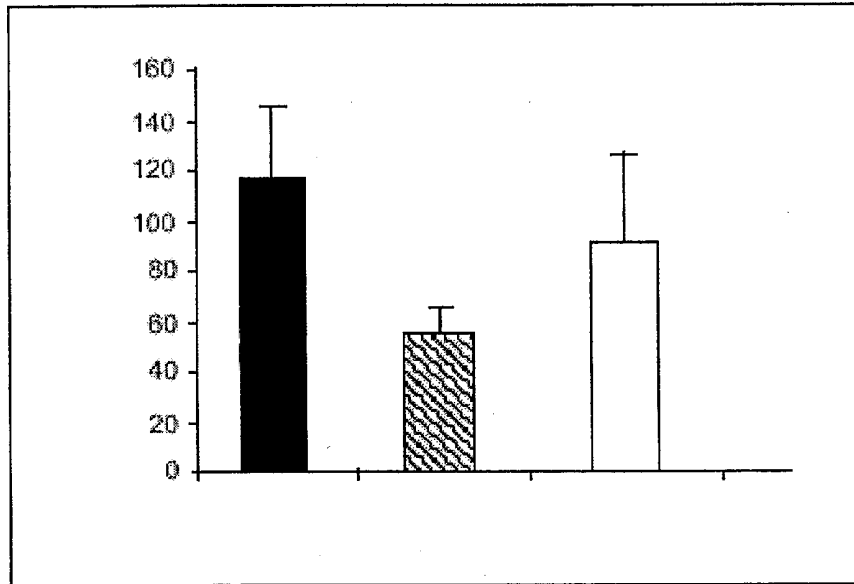


Figure 7

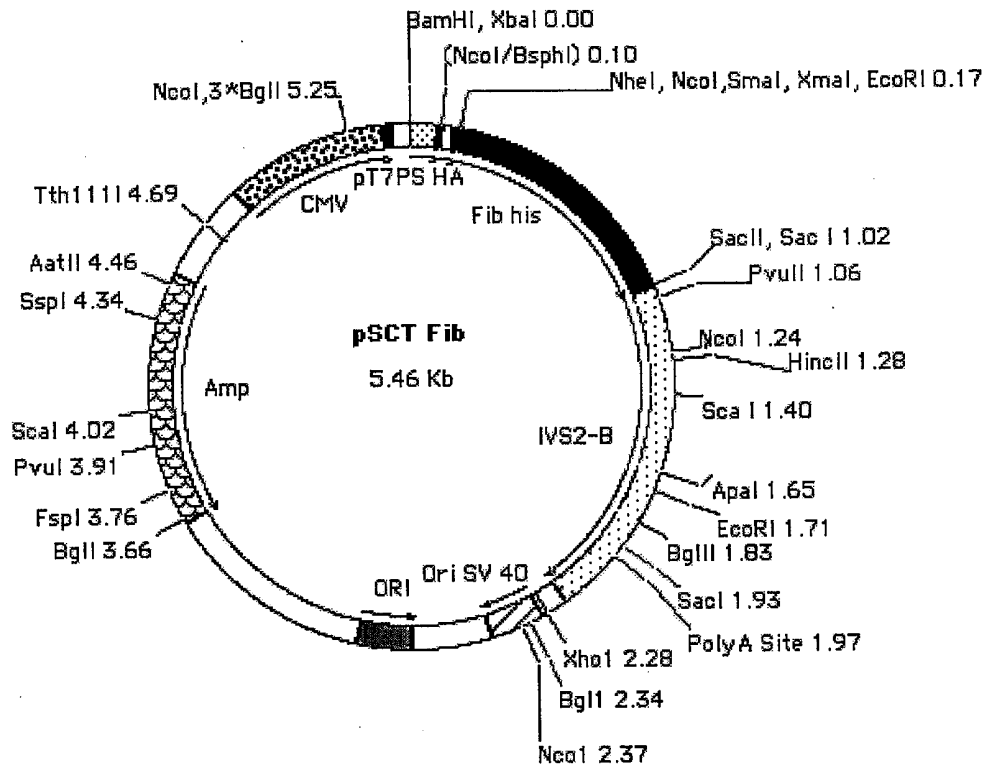
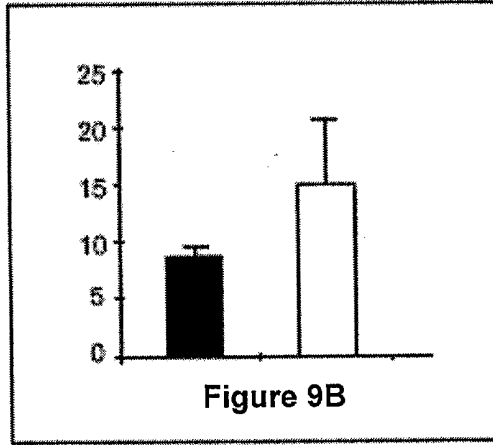
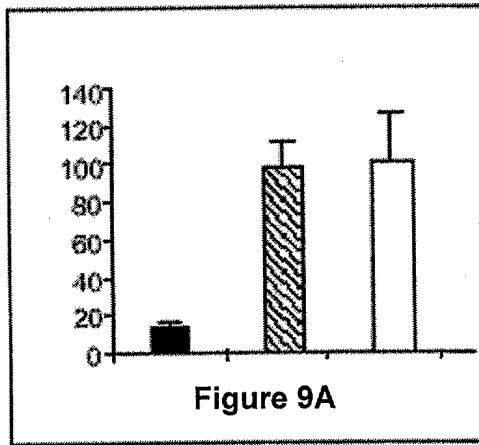


Figure 8



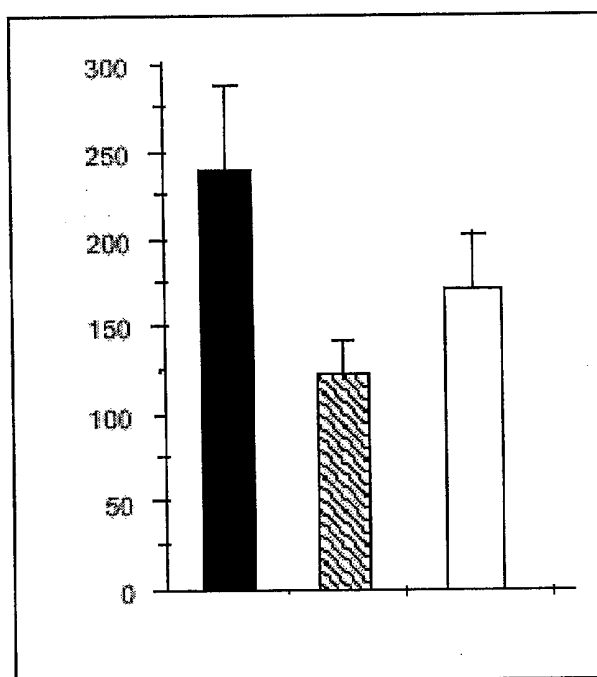


Figure 10

LISTE DE SEQUENCES

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

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

<130> IFB 03 BN INS FIBS

<160> 34

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 7161

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 1

atgcttaggg	gtccggggcc	gggctgctg	ctgctggccg	tcctgtgcct	ggggacagcg	60
gtgccctcca	cgggagcctc	gaagagcaag	aggcaggctc	agcaaattggt	tcagccccag	120
tccccgtgg	ctgtcagtca	aagcaagccc	ggttgttatg	acaatggaaa	acactatcag	180
ataaatcaac	agtgggagcg	gacctaccta	ggtaatgtgt	tggtttgtac	ttgttatgga	240
ggaagccgag	gttttaactg	cgaaagtaaa	cctgaagctg	aagagacttg	ctttgacaag	300
tacactggga	acacttaccg	agtgggtgac	acttatgagc	gtcctaaaga	ctccatgatc	360
tgggactgta	cctgcacatg	ggctgggcga	gggagaataa	gctgtacatc	cgcaaaccgc	420
tgccatgaag	ggggtcagtc	ctacaagatt	ggtgacacct	ggaggagacc	acatgagact	480
ggtggttaca	tgtagagtg	tgtgtgtctt	ggtaatggaa	aaggagaatg	gacctgcaag	540
cccatagctg	agaagtgttt	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	gocgaggaga	gtggaagtgt	gagaggcaca	cctctgtgca	gaccacatcg	840
agcggatctg	gccccttcac	cgatgttcgt	gcagctgttt	accaaccgca	gcctcaccoc	900
cagcctcctc	cctatggcca	ctgtgtcaca	gacagtgggt	tggctctactc	tgtggggatg	960
cagtggttga	agacacaagg	aaataagcaa	atgctttgca	cgtgcctggg	caacggagtc	1020
agctgccaa	agacagctgt	aaccagact	tacggtggca	acttaaattg	agagccatgt	1080
gtcttaccat	tcacctataa	tggcaggacg	ttctactcct	gcaccacgga	agggcgacag	1140
gacggacatc	tttgggtgag	cacaacttcg	aattatgagc	aggaccagaa	atactctttc	1200
tgcacagacc	acactgtttt	ggttcagact	caaggaggaa	attccaatgg	tgctttgtgc	1260
cacttcccct	tcctatacaa	caaccacaat	tacactgatt	gcacttctga	gggcagaaga	1320
gacaacatga	agtgggtgtg	gaccacacag	aactatgatg	ccgaccagaa	gtttgggttc	1380
tgccccatgg	ctgcccacga	ggaaatctgc	acaaccaatg	aaggggtcat	gtaccgcatt	1440
ggagatcagt	gggataagca	gcatgacatg	ggtcacatga	tgaggtgcac	gtgtgttggg	1500
aatggtcgtg	gggaatggac	atgcattgcc	tactcgcac	ttcgagatca	gtgcattggt	1560
gatgacatca	cttacaatgt	gaacgacaca	ttccacaagc	gtcatgaaga	ggggcacatg	1620
ctgaactgta	catgcttcgg	tcagggtcgg	ggcaggtgga	agtgtgatcc	cgtcgaccaa	1680
tgccaggatt	cagagactgg	gacgttttat	caaattggag	attcatggga	gaagtatgtg	1740
catggtgtca	gataccagtg	ctactgctat	ggccgtggca	ttggggagtg	gcattgccaa	1800
ccctttacaga	cctatccaag	ctcaagtgtg	cctgtogaag	tatttatcac	tgagactccg	1860
agtcagccca	actcccacc	catccagtgg	aatgcaccac	agccatctca	cattttcaag	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	cgggtggaat	atgagctgag	tgaggaggga	2280
gatgagccac	agtacctgga	tcttccaagc	acagccactt	ctgtgaacat	ccctgacctg	2340
cttctctggc	gaaaatacat	tgtaaatgtc	tatcagatat	ctgaggatgg	ggagcagagt	2400
ttgatcctgt	ctacttcaca	aacaacagcg	cctgatgccc	ctcctgacc	gactgtggac	2460
caagttgatg	acacctcaat	tgttgttcgc	tggagcagac	cccaggctcc	catcacaggg	2520

tacagaatag	tctattcgcc	atcagtagaa	ggtagcagca	cagaactcaa	ccttcctgaa	2580
actgcaaaact	ccgtcaccct	cagtgacttg	caacctgggtg	ttcagtataa	catcactatc	2640
tatgctgtgg	aagaaaatca	agaaagtaca	cctgttgtca	ttcaacaaga	aacctactggc	2700
acccccagct	cagatacagt	gccctctccc	agggacctgc	agtttgtgga	agtgacagac	2760
gtgaaggtca	ccatcatgtg	gacaccgcct	gagagctcag	tgaccggcta	ccgtgtggat	2820
gtgatccccg	tcaacctgcc	tggcgagcac	gggcagaggc	tgcccatcag	caggaacacc	2880
tttgcagaag	tcaccgggct	gtcccctggg	gtcacctatt	acttcaaagt	ctttgcagtg	2940
agccatggga	gggagagcaa	gcctctgact	gctcaacaga	caaccaaact	ggatgctccc	3000
actaacctcc	agtttgtcaa	tgaaactgat	tctactgtcc	tggtgagatg	gactccacct	3060
cgggcccaga	taacaggata	ccgactgacc	gtgggcctta	cccgaagagg	ccagcccagg	3120
cagtacaatg	tggttccctc	tgtctccaag	tacccctga	ggaatctgca	gcctgcatct	3180
gagtacaccg	tatccctcgt	ggcataaaag	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	aagtctctgag	agatggacag	3480
gaaagagatg	cgccaattgt	aaacaaagtg	gtgacacatc	tgtctccacc	aacaaacttg	3540
catctggagg	caaaccctga	cactggagtg	ctcacagctc	cctgggagag	gagcaccacc	3600
ccagacatta	ctggttatag	aattaccaca	acccctacaa	acggccagca	gggaaattct	3660
ttggaagaag	tggtccatgc	tgatcagagc	tcctgcactt	ttgataacct	gagtcccggc	3720
ctggagtaca	atgtcagtgt	ttacactgtc	aaggatgaca	aggaaagtgt	ccctatctct	3780
gataccatca	tcccagctgt	tcctcctccc	actgacctgc	gattcaccaa	cattggtcca	3840
gacaccatgc	gtgtcacctg	ggctccaccc	ccatccattg	atthaaccaa	cttctgtgtg	3900
cgttactcac	ctgtgaaaaa	tgaggaagat	gttgcagagt	tgtcaatttc	tccttcagac	3960
aatgcagtg	tcttaacaaa	tctcctgcct	ggtacagaat	atgtagtgag	tgtctccaagt	4020
gtctacgaac	aacatgagag	cacacctctt	agaggaagac	agaaaacagg	tcttgattcc	4080
ccaactggca	ttgacttttc	tgatattact	gccaactctt	ttactgtgca	ctggattgct	4140
cctcgagcca	ccatcactgg	ctacaggatc	cgccatcatc	ccgagcactt	cagtgggaga	4200
cctcgagaag	atcgggtgcc	ccactctcgg	aattccatca	ccctcaccaa	cctcaccca	4260
ggcacagagt	atgtggtcag	catcgttgtc	cttaattggca	gagagggaaag	tcccttatgt	4320
attggccaac	aatcaacagt	ttctgatgtt	ccgagggacc	tggaagtgtg	tgctgcgacc	4380
cccaccagcc	tactgatcag	ctgggatgct	cctgctgtca	cagtgagata	ttacaggatc	4440
acttacggag	aaacaggagg	aaatagccct	gtccaggagt	tactgtgccc	tgggagcaag	4500
tctacagcta	ccatcagcgg	ccttaaacct	ggagttgatt	ataccatcac	tgtgtatgct	4560
gtcactggcc	gtggagacag	ccccgcaagc	agcaagccaa	tttccattaa	ttaccgaaca	4620
gaaattgaca	aacctccca	gatgcaagtg	accgatgttc	aggacaacag	cattagtgtc	4680
aagtggctgc	cttcaagttc	ccctgttact	ggttacagag	taaccaccac	tcccaaaaat	4740
ggaccaggac	caacaaaaac	taaaactgca	ggtccagatc	aaacagaaat	gactattgaa	4800
ggcttgcagc	ccacagtgga	gtatgtggtt	agtgtctatg	ctcagaatcc	aagcggagag	4860
agtcagcctc	tggttcagac	tgcagtaacc	aacattgatc	gcoctaaagg	actggattc	4920
actgatgtgg	atgtcgattc	catcaaaatt	gcttgggaaa	gccccacagg	gcaagtttcc	4980
aggtacaggg	tgacctactc	gagccctgag	gatggaatcc	atgagctatt	ccctgcacct	5040
gatggtgaag	aagacactgc	agagctgcaa	ggcctcagac	cgggttctga	gtacacagtc	5100
agtggtggtg	ccttgcaaga	tgatatggag	agccagcccc	tgattggaac	bcagtccaca	5160
gctattcctg	caccaactga	cctgaagttc	actcaggtca	caccacaag	cctgagcgcc	5220
cagtggacac	cacccaatgt	tcagctcact	ggatatcgag	tgccgggtgac	ccccaaaggag	5280
aagaccggac	caatgaaaga	aatcaacctt	gctcctgaca	gctcatccgt	ggttgtatca	5340
ggacttatgg	tggccaccaa	atatgaagtg	agtgtctatg	ctcttaagga	cactttgaca	5400
agcagaccag	ctcagggtgt	tgtcaccact	ctggagaatg	tcagcccacc	aagaagggct	5460
cgtgtgacag	atgctactga	gaccaccatc	accattagct	ggagaaccaa	gactgagacg	5520
atcaactggct	tccaagttga	tgccgttcca	gccaatggcc	agactccaat	ccaggaacc	5580
atcaagccag	atgtcagaag	ctacaccatc	cagggtttac	aaccaggcac	tgactacaag	5640
atctacctgt	acaccttgaa	tgacaatgct	ccagatccc	ctgtggtcat	cgacgcctcc	5700
actgcoattg	atgcaaccatc	caacctgcgt	ttcctggcca	ccacacccaa	ttccttgctg	5760
gtatcatggc	agccgccacg	tgccaggatt	accggctaca	tcatcaagta	tgagaagcct	5820
gggtctcctc	ccagagaagt	ggtccctcgg	ccccgccctg	gtgtcacaga	ggctactatt	5880
actggcctgg	aaccgggaac	cgaatataca	atltatgtca	ttgcctgaa	gaataatcag	5940
aagagcgagc	ccctgattgg	aaggaaaaag	acagacgagc	ttccccact	ggtaacctt	6000
ccacacccca	atcttcatgg	accagagatc	ttggatgttc	cttccacagt	tcaaaagacc	6060
cctttcgtca	cccacocctgg	gtatgacact	ggaaatggta	ttcagcttcc	tggcacttct	6120
ggtcagcaac	ccagtgttgg	gcaacaaatg	atctttgagg	aacatggttt	taggcggacc	6180

```

acaccgcccc caacggccac ccccataagg cataggccaa gaccataccc gccgaatgta 6240
ggtgaggaaa tccaaattgg tcacattccc aggggaagatg tagactatca cctgtaccba 6300
cacggtccgg ggetcaatcc aaatgcctct acaggacaag aagctctctc tcagacaacc 6360
atctcatggg cccattcca ggacacttct gagtacatca tttcatgtca tcctgtttggc 6420
actgatgaag aacccttaca gttcaggggt cctggaactt ctaccagtgc cactctgaca 6480
ggcctcacca gaggtgccac ctacaacatc atagtggagg cactgaaaga ccagcagagg 6540
cataaggttc ggaagagggt tgttaccgtg ggcaactctg tcaacgaagg cttgaaccaa 6600
cctacggatg actcgtgctt tgaccocctac acagtttccc attatgccgt tggagatgag 6660
tgggaacgaa tgtctgaatc aggctttaa ctgtttgtgcc agtgcttagg ctttgggaagt 6720
ggtcatttca gatgtgattc atctagatgg tgccatgaca atggtgtgaa ctacaagatt 6780
ggagagaagt gggaccgtca gggagaaaat ggccagatga tgagctgcac atgtcttggg 6840
aacggaaaag gagaattcaa gtgtgaccct catgaggcaa cgtgttacga tgatgggaag 6900
acataccacg taggagaaca gtggcagaag gaatatctcg gtgccatttg ctctgcaca 6960
tgctttggag gccagcgggg ctggcgctgt gacaactgcc gcagacctgg ggggtgaacc 7020
agtcccgaag gcaactactg ccagtcctac aaccagtatt ctacagagata ccatcagaga 7080
acaaacacta atgttaattg cccaattgag tgcttcatgc ctttagatgt acaggctgac 7140
agagaagatt cccgagagta 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
 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
 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
 930 935 940

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
 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
 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
 Leu Arg Phe Leu Ala Thr Thr Pro Asn Ser Leu Leu Val Ser Trp
 1910 1915 1920
 Gln Pro Pro Arg Ala Arg Ile Thr Gly Tyr Ile Ile Lys Tyr Glu
 1925 1930 1935
 Lys Pro Gly Ser Pro Pro Arg Glu Val Val Pro Arg Pro Arg Pro
 1940 1945 1950
 Gly Val Thr Glu Ala Thr Ile Thr Gly Leu Glu Pro Gly Thr Glu
 1955 1960 1965
 Tyr Thr Ile Tyr Val Ile Ala Leu Lys Asn Asn Gln Lys Ser Glu
 1970 1975 1980
 Pro Leu Ile Gly Arg Lys Lys Thr Asp Glu Leu Pro Gln Leu Val
 1985 1990 1995
 Thr Leu Pro His Pro Asn Leu His Gly Pro Glu Ile Leu Asp Val
 2000 2005 2010
 Pro Ser Thr Val Gln Lys Thr Pro Phe Val Thr His Pro Gly Tyr
 2015 2020 2025
 Asp Thr Gly Asn Gly Ile Gln Leu Pro Gly Thr Ser Gly Gln Gln
 2030 2035 2040

Pro Ser Val Gly Gln Gln Met Ile Phe Glu Glu His Gly Phe Arg
 2045 2050 2055
 Arg Thr Thr Pro Pro Thr Thr Ala Thr Pro Ile Arg His Arg Pro
 2060 2065 2070
 Arg Pro Tyr Pro Pro Asn Val Gly Glu Glu Ile Gln Ile Gly His
 2075 2080 2085
 Ile Pro Arg Glu Asp Val Asp Tyr His Leu Tyr Pro His Gly Pro
 2090 2095 2100
 Gly Leu Asn Pro Asn Ala Ser Thr Gly Gln Glu Ala Leu Ser Gln
 2105 2110 2115
 Thr Thr Ile Ser Trp Ala Pro Phe Gln Asp Thr Ser Glu Tyr Ile
 2120 2125 2130
 Ile Ser Cys His Pro Val Gly Thr Asp Glu Glu Pro Leu Gln Phe
 2135 2140 2145
 Arg Val Pro Gly Thr Ser Thr Ser Ala Thr Leu Thr Gly Leu Thr
 2150 2155 2160
 Arg Gly Ala Thr Tyr Asn Ile Ile Val Glu Ala Leu Lys Asp Gln
 2165 2170 2175
 Gln Arg His Lys Val Arg Glu Glu Val Val Thr Val Gly Asn Ser
 2180 2185 2190
 Val Asn Glu Gly Leu Asn Gln Pro Thr Asp Asp Ser Cys Phe Asp
 2195 2200 2205
 Pro Tyr Thr Val Ser His Tyr Ala Val Gly Asp Glu Trp Glu Arg
 2210 2215 2220
 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	ctgaagttc	actcaggtca	caccacaag	ctgagcgcc	60
cagtgacac	caccaatgt	tcagctcact	ggatatcgag	tgcggtgac	ccccaaggag	120
aagaccggac	caatgaaaga	aatcaacctt	gctctgaca	gctcatccgt	ggttgatca	180
ggacttatgg	tggccaccaa	atatgaagtg	agtgtctatg	ctcttaagga	cactttgaca	240
agcagaccag	ctcaggtgtg	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				
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 tocagccaat      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

<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
tctcctccca gagaagtggc cctcggccc cgccctggtg 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 ttccgagga cctggaagtt gttgctgcga cccccaccag 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 accaacaata 420
 actaaaactg caggtcagaa tcaaacagaa atgactattg aaggcttgca gccacagtg 480
 gagtatgtgg ttagtgtcta tgetcagaat ccaagoggag agagtcagcc tctggttcag 540
 actgcagtaa ccaacattga tcgccctaaa ggactggcat tcactgatgt ggatgtcgat 600
 tccatcaaaa ttgcttgga aagcccacag gggcaagttt ccaggtacag ggtgacctac 660
 tcgagccctg aggatggaat ccatgagcta ttccctgcac ctgatggtga agaagacact 720
 gcagagctgc aaggcctcag accgggttct gagtacacag tcagtgtggt tgccttgcac 780
 gatgatattg agagccagcc cctgattgga acccagtcca cagctattcc tgcaccaact 840
 gacctgaagt tcactcaggt cacaccaca agcctgagcg cccagtggac accaccaat 900
 gttcagctca ctggatatcg agtgcgggtg accccaagg agaagaccgg accaatgaaa 960
 gaaatcaaac ttgctcctga cagctcatcc gtggttgtat caggacttat ggtggccacc 1020
 aaatatgaag tgagtgtcta tgctctaag gacactttga caagcagacc agctcagggt 1080
 gttgtcacca cctctggagaa tgtcagcca ccaagaagg ctcgtgtgac agatgtact 1140
 gagaccacca tcaccattag ctggagaacc aagactgaga cgatcactgg ctccaagt 1200
 gatgccgttc cagccaatgg ccagactcca atccagagaa ccatcaagcc agatgtcaga 1260
 agctacacca tcacaggttt acaaccaggc actgactaca agatctacct gtacaccttg 1320
 aatgacaatg ctgggagctc ccctgtggtc atcgagcgc cactgccc atgatgcacca 1380
 tccaacctgc gtttcttggc caccacacc aattccttgc tggatcatg gcagccgcca 1440
 cgtgccagga ttaccggcta catcatcaag tatgagaagg ctgggtctcc tcccagagaa 1500

```

gtggtccttc ggccccgcc tggtgtcaca gaggctacta 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
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
 290 300
 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
 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
 gttttctgatg ttccgagga cctggaagtt gttgctgca cccccaccag cctactgatc 60
 agctgggatg ctctctgtgt cacagtgaga tattacagga tcacttacgg agaaacagga 120
 ggaaatagcc ctgtccagga gttcactgtg cctgggagca agtctacagc taccatcagc 180
 ggccttaaac ctggagtga ttataccatc actgtgtatg ctgtcactgg ccgtggagac 240
 agccccgcaa gcagcaagcc aatttccatt aattaccgaa cagaaattga caaaccatcc 300
 cagatgcaag tgaccgatgt tcaggacaac agcattagt tcaagtggct gccttcaagt 360
 tcccctgtta ctggttacag agtaaccacc actcccaaaa atggaccagg accaacaanaa 420
 actaaaactg caggtccaga tcaaacagaa atgactattg aaggcttgca gccacacgtg 480
 gagtatgtgg ttagtgtcta tgctcagaat ccaagcggag agagtacagc tctggttcag 540
 actgcagtaa ccaacattga tcgcocataa ggactggcat tcactgatgt ggatgtcgat 600
 tccatcaaaa ttgcttgga aagcccacag gggcaagttt ccaggtacag ggtgacctac 660
 togagccctg aggatggaat ccatgagcta ttccctgcac ctgatggtga agaagacact 720
 gcagagctgc aaggcctcag accgggttct gactacacag tcagtgtggt tgccttgcac 780
 gatgatatgg agagccagcc cctgattgga acccagtcca cagctattcc tgcaccaact 840
 gacctgaagt tcactcaggt cacaccaca agcctgagcg cccagtggac accaccat 900
 gttcagctca ctggatatcg agtgccgggtg accccaagga agaagaccgg accaatgaaa 960
 gaaatcaacc ttgctcctga cagctcatcc gtggttgtat 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 ccagactoca atccagagaa ccatcaagcc agatgtcaga 1260
 agctacacca tcacaggttt acaaccaggc actgactaca agatctacct gtacaccttg 1320
 aatgacaatg ctcgagctc ccctgtggtc atcgagcctt ccaactgccat tgatgcacca 1380
 tccaacctgc gtttctctggc caccacacc aattccttgc tggatcatg gcagccgcca 1440
 cgtgccagga ttaccggcta catcatcaag tatgagaagc ctgggtctcc tcccagagaa 1500
 gtggtccttc ggccccgcc ttggtgtcaca gaggctacta ttactggcct ggaaccggga 1560
 accgaatata caatttatgt cattgcccctg 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

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 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
 530 535

<210> 13
 <211> 495
 <212> ADN
 <213> séquence artificielle

<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
 agcttgagaa 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 gcgtttctg 300
 gccaccacac ccaattcctt gctgggtatca tggcagccgc cacgtgccag gattaccggc 360
 tacatcatca agtatgagaa gcctgggtct cctcccagag aagtgtccc tcggccccgc 420
 cctggtgtca cagaggctac tattactggc ctggaaccgg gaaccgaata tacaatttat 480
 gtcattgccc tgaag 495

<210> 14
 <211> 165
 <212> PRT
 <213> séquence artificielle

<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
 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 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

ggaaccagtc ccacagctat tctgcacca actgacctga agttcactca ggtcacaccc 60
 acaagcctga ggcgccagtg gacaccacc aatgttcagc tctactggata tcgagtgccg 120
 gtgacccccca aggagaagac cggaccaatg aaagaaatca accttgctcc tgacagctca 180
 tccgtgggttg tatcaggact tatggtggcc accaaatag aagtgagtg ctatgctctt 240
 aaggacactt tgacaagcag accagctcag ggtggtgtca cactctgga gaatgtcagc 300
 ccaccaagaa gggctcgtgt gacagatgct actgagacca ccatcacat tagctggaga 360
 accaagactg agacgatcac tggcttcaa gttgatgcc agaatgaca ccatcacagg tttacaacca 480
 ccaatccaga acaagatcta cctgtacacc ttgaatgaca atgctcggag ctcccctgtg 540
 gtcactgacg cctccactgc cattgatgca ccatccaacc tgcgtttcct ggccaccaca 600
 cccaattcct tgetggtatc atggcagccg ccacgtgcca ggattaccgg ctacatcatc 660
 aagtatgaga agcctgggtc tctcccaga gaagtgtcc ctgggccccg cctggtgtc 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
 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
 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
 260

<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 ttccgagggga cctggaagtt gttgctgca cccccaccag cctactgatc      60
agctgggatg ctctgctgt cacagtgaga tattacagga tcaactacgg agaaacagga      120
ggaaatagcc ctgtccagga gttcactgtg cctgggagca agtctacagc taccatcagc      180
ggccttaaac ctggagttga ttataccatc actgtgtatg ctgtcaactg ccgtggagac      240
agccccgcaa gcagcaagcc aatttccatt aattaccgaa cagaaattga caaacatcc      300
cagatgcaag tgaccgatgt tcaggacaac agcattagtg tcaagtggct gccttcaagt      360
tccccgttta ctggttacag agtaaccacc actcccaaaa atggaccagg accaacaana      420
actaaaactg caggtccaga tcaaacagaa atgactattg aaggcttga gccacagtg      480
gagtatgtgg ttagtgtcta tgctcagaat ccaagcggag agagtcagcc tctggttcag      540
actgcagtaa ccaacattga tcgccctaaa ggactggcat tcaactgatg ggatgtcgat      600
tccatcaaaa ttgcttggga aagcccacag gggcaagttt ccaggtacag ggtgacctac      660
tcgagccctg aggatggaat ccatgagcta ttcctgcac ctgatggtga agaagacact      720
gcagagctgc aaggcctcag accgggttct gactacacag tcagtgtggt tgccttgcac      780
gatgatatgg agagccagcc cctgattgga acccagtcca cagctattcc tgcaccaact      840
gacctgaagt tcaactcaggt cacaccaca agcctgagcg cccagtggac accaccaat      900
gttcagctca ctggatatcg agtgccgggtg accccaagg agaagaccgg accaatgaaa      960
gaaatcaacc ttgctcctga cagctcatcc gtggttgtat caggacttat ggtggccacc     1020
aaatatgaag tgagtgtcta tgctcttaag gacacttga caagcagacc agctcagggt     1080
gttgtcacca ctctggagaa tgtcagccca ccaagaaggg ctctgtgagc agatgctact     1140
gagaccacca tcaccattag ctggagaacc aagactgaga cgatcactgg cttccaagtt     1200
gatgccgttc cagccaatgg ccagactcca atccagagaa ccatcaagcc agatgtcaga     1260
agtacacca tcacaggttt acaaccagggc actgactaca agatctacct gtacaccttg     1320
aatgacaatg ctggagctc ccctgtggtc atcgacgctt ccaactgccat tgatgcacca     1380
tccaacctgc gtttctctgc caccacaccc aattccttgc tggatcatg gcagccgcca     1440
cgtgccagga ttaccggcta catcatcaag tatgagaagc ctgggtctcc tccagagaa     1500
gtgggtccctc ggccccgcc tggtgtcaca gaggctacta 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

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
 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

```

ggaaccagct ccacagctat tctgcacca actgacctga agttcactca ggtcacaccc      60
acaagcctga ggcgccagtg gacaccaccc aatggtcagc tcaactggata tcgagtgccg      120
gtgacccccca aggagaagac cggaccaatg aaagaaatca accttgctcc tgacagctca      180
tccgtggttg tatcaggact tatggtggcc accaaatag aagtgagtgt ctatgctctt      240
aaggacactt tgacaagcag accagctcag ggtggtgtca ccaactctgga gaatgtcagc      300
ccaccaagaa gggctcgtgt gacagatgct actgagacca ccatcaccat tagctggaga      360
accaagactg agacgatcac tggcttccaa gttgatgccg ttccagcaa tggccagact      420
ccaatccaga gaaccatcaa gccagatgtc agaagctaca ccatcacagg tttacaacca      480
ggcaactgact acaagatcta cctgtacacc ttgaatgaca atgctcggag ctcccctgtg      540
gtcatcgacg cctccaactgc cattgatgca ccatccaacc tgcgtttcct ggccaccaca      600
ccaattcct tgctggtatc atggcagccg ccacgtgccca ggattaccgg ctacatcatc      660
aagtatgaga agcctgggtc tcctcccaga gaagtggtec ctcggcccg ccctggtgtc      720
acagaggcta ctattactgg cctggaaccg ggaaccgaat atacaattta tgcattgoc      780
ctgaagaata atcagaag

```

<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
 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 actcagggtca cacccacaag 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 aagaagggct 300
 cgtgtgacag atgctactga gaccaccatc accattagct ggagaaccaa gactgagacg 360
 atcactggct tccaagttga tgccgtcca gccaatggcc agactccaat ccagagaacc 420
 atcaagccag atgtcagaag ctacaccatc acagggttac 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
 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
 gctatttctg caccaactga cctgaagttc actcagggtca cacccacaag cctgagcgc 60
 cagtggacac cacccaatgt tcagctcact ggatatacgag tgcgggtgac cccaaggag 120
 aagaccggac caatgaaaga aatcaacctt gctcctgaca gctcatccgt gttgtatca 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 acagggttac aaccaggcac tgactacaag 480
 atctacctgt acaccttgaa tgacaatgct cggagctccc ctgtggatcat cgacgcctcc 540
 actgccattg atgcaccatc caacctgctg ttcttgcca ccacaccaa ttccttgctg 600
 gtatcatggc agccgccacg tgccaggatt accggctaca tcatcaagta tgagaagcct 660
 gggctcctc ccagagaagt ggtccctcgg cccgcctctg gtgtcacaga ggctactatt 720
 actggcctgg aaccgggaac cgaatataca atttatgtca ttgcctgaa g 771

<210> 24
 <211> 257
 <212> PRT
 <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 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 Ala Ile Asp Ala Pro Ser Asn Leu Arg Phe Leu
 180 185 190

Ala Thr Thr Pro Asn Ser Leu Leu Val Ser Trp Gln Pro Pro Arg Ala
 195 200 205

Arg Ile Thr Gly Tyr Ile Ile Lys Tyr Glu Lys Pro Gly Ser Pro Pro
 210 215 220

Arg Glu Val Val Pro Arg Pro Arg Pro Gly Val Thr Glu Ala Thr Ile
 225 230 235 240

Thr Gly Leu Glu Pro Gly Thr Glu Tyr Thr Ile Tyr Val Ile Ala Leu
 245 250 255

Lys

<210> 25
 <211> 495
 <212> ADN
 <213> séquence artificielle

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

<400> 25
 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 gctggtatca tggcagccgc cacgtgccag gattaccggc 360
 tacatcatca agtatgagaa gcctgggtct cctcccagag aagtgggtccc tcggccccgc 420
 cctgggtgtca cagaggctac tattactggc ctggaaccgg gaaccgaata tacaatttat 480
 gtcattgccc tgaag 495

<210> 26
 <211> 165
 <212> PRT
 <213> séquence artificielle

<220>

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

<400> 26

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 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> 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	gcaactgacta	caagatctac	ctgtacacct	tgaatgacaa	tgctcggagc	240
tccctgtgg	tcatcgacgc	ctccactgcc	attgatgcac	catccaacct	gcgtttcctg	300
gccaccacac	ccaattcctt	gctgggtatc	tggcagccgc	cacgtgccag	gattaccggc	360
tacatcatca	agtatgagaa	gcctgggtct	ctcccagag	aagtggccc	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
 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
 165

<210> 29
 <211> 537
 <212> ADN
 <213> séquence artificielle

<220>
 <223> séquence nucléotidique s'étendant des nucléotides 5437 à 5973
 de la séquence SEQ ID NO : 1

<400> 29
 aatgtcagcc caccaagaag ggctcgtgtg acagatgcta ctgagaccac catcaccatt 60
 agctggagaa ccaagactga gacgatcact ggctccaag 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 gctcgggtct cctcccagag aagtgggtccc tcggccccgc 420

cctgggtgtca cagaggctac tattactggc ctggaaccgg gaaccgaata tacaatttat 480
 gtcattgccc tgaagaataa tcagaagagc gagcccctga ttggaaggaa aaagaca 537

<210> 30
 <211> 179
 <212> PRT
 <213> séquence artificielle

<220>
 <223> protéine s'étendant des résidus 1813 à 1991
 de la séquence SEQ ID NO : 2

<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
 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

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

<220>
<223> amorce oligonucléotidique

<400> 32
aaaggatcct tacttcagg caatgacata 30

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

<220>
<223> amorce oligonucléotidique

<400> 33
aaaccatggg aattcatact catcaggact ttcagcc 37

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

<220>
<223> amorce oligonucléotidique

<400> 34
ggatccttac tatttgaga aagaggtcat gaagc 35

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	EP 0 399 806 A (TAKARA SHUZO CO) 28 novembre 1990 (1990-11-28) * le document en entier * ---	1-30	A61K38/39 A61K39/395 A61K31/708 A61K48/00
X	WO 03/013590 A (NOVARTIS FORSCHUNGSSTIFTUNG ;OREND GERTRAUD (CH); CHIQUET-EHRISMAN) 20 février 2003 (2003-02-20) * le document en entier * ---	1-30	A61K35/12 A61K35/66 A61K35/78 A61P35/00 A61P9/10 A61P17/06
A	SCHENK SUSANN ET AL: "Tales from the crypt[ic] sites of the extracellular matrix." TRENDS IN CELL BIOLOGY. ENGLAND JUL 2003, vol. 13, no. 7, juillet 2003 (2003-07), pages 366-375, XP002281093 ISSN: 0962-8924 ---		A61P19/02 C07K14/78 C12N15/12 C12N15/63
A	D'AMORE PATRICIA A ET AL: "Tales of the cryptic: unveiling more angiogenesis inhibitors." TRENDS IN MOLECULAR MEDICINE. ENGLAND JUL 2002, vol. 8, no. 7, juillet 2002 (2002-07), pages 313-315, XP002281094 ISSN: 1471-4914 ---		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7) C07K C12N A61K
A	US 5 770 563 A (BROWNING PHILIP J ET AL) 23 juin 1998 (1998-06-23) ---		
A	US 6 426 042 B1 (KOYAMA NOBUTO ET AL) 30 juillet 2002 (2002-07-30) ---		
	-/--		
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
21 mai 2004		Piret, B	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS			
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0308816 FA 641500**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.
Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 21-05-2004
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication		Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 0399806	A	28-11-1990	JP	2311498 A	27-12-1990
			JP	2561149 B2	04-12-1996
			JP	2862140 B2	24-02-1999
			JP	3173828 A	29-07-1991
			DE	69006100 D1	03-03-1994
			DE	69006100 T2	04-08-1994
			EP	0399806 A1	28-11-1990
			US	5198423 A	30-03-1993

WO 03013590	A	20-02-2003	WO	03013590 A1	20-02-2003
			EP	1416954 A1	12-05-2004

US 5770563	A	23-06-1998	US	5357041 A	18-10-1994
			US	6051549 A	18-04-2000
			AT	193022 T	15-06-2000
			AU	674503 B2	02-01-1997
			AU	3239893 A	28-06-1993
			CA	2125043 A1	10-06-1993
			DE	69231065 D1	21-06-2000
			DE	69231065 T2	02-11-2000
			EP	0620825 A1	26-10-1994
			JP	7501808 T	23-02-1995
			WO	9311156 A1	10-06-1993

US 6426042	B1	30-07-2002	AU	709831 B2	09-09-1999
			AU	7505896 A	05-06-1997
			CA	2235629 A1	22-05-1997
			CN	1207774 A	10-02-1999
			EA	3195 B1	27-02-2003
			EA	3204 B1	27-02-2003
			EP	0870839 A1	14-10-1998
			WO	9718318 A1	22-05-1997
			JP	3343357 B2	11-11-2002
			JP	2002325595 A	12-11-2002
			US	2003087437 A1	08-05-2003
			US	6472204 B1	29-10-2002

EPO FORM P0485