

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 703 913**

51 Int. Cl.:

A61K 48/00 (2006.01)
A61K 31/337 (2006.01)
A61K 31/713 (2006.01)
A61K 35/761 (2015.01)
A61K 45/06 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.10.2013 PCT/IB2013/003015**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **24.04.2014 WO14060848**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.10.2013 E 13847711 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.10.2018 EP 2908865**

54 Título: **Métodos de tratamiento que emplean adenovirus**

30 Prioridad:

17.10.2012 US 201261715206 P
14.03.2013 US 201361785287 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.03.2019

73 Titular/es:

VASCULAR BIOGENICS LTD. (100.0%)
8 Hasat St.
Modiin 7178106, IL

72 Inventor/es:

BREITBART, EYAL;
LEUBITZ, ANDREA;
FEIGE, EREZ y
PENSON, RICHARD

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 703 913 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Métodos de tratamiento que emplean adenovirus

Campo de la descripción

5 Esta descripción se refiere a la biología, la inmunología y la farmacología del cáncer. Más en concreto, se refiere a métodos para tratar enfermedades o trastornos que se relacionan con el cáncer ginecológico mediante la administración de una construcción de ácido nucleico que expresa un producto de transgén de quimera-Fas o una población homogénea de la construcción de ácido nucleico.

Técnica anterior

10 Los cánceres ginecológicos son clínicamente agresivos, a menudo se desarrollan en tejidos del tracto genital femenino, y están asociados con resultados desfavorables. Estos cánceres incluyen cánceres de ovarios, útero, trompas de Falopio y cuello uterino, y también tumores müllerianos mixtos malignos (MMMT). En casos muy poco frecuentes, los MMMT también pueden desarrollarse en el peritoneo femenino (el revestimiento de la pared abdominal).

15 Los cánceres ginecológicos pueden ser difíciles de detectar y a menudo se diagnostican cuando se encuentran en un estadio avanzado. El cáncer de ovario constituye aproximadamente 3% de los cánceres en mujeres. Aunque es el noveno cáncer más habitual en mujeres, el cáncer de ovario es la quinta causa principal de muerte relacionada con cáncer en mujeres y es el más mortal de los cánceres ginecológicos, 2012. El cáncer de ovario es sensible a la quimioterapia con una alta tasa de respuesta a terapias basadas en el platino y en el taxano. Sin embargo, a pesar de los avances en el diseño y transporte de productos terapéuticos, la recurrencia del cáncer y la resistencia a
20 productos quimioterapéuticos siguen obstaculizando el tratamiento de estos tipos de cánceres. A pesar de la agresiva terapia primara y las altas tasas de respuesta inicial, la mayoría de las mujeres con carcinoma ovárico avanzado recaerán y desarrollarán una enfermedad resistente a fármacos. En estos estadios avanzados de la enfermedad, las tasas de respuesta a una posterior quimioterapia disminuyen sustancialmente, y esta circunstancia enfatiza la necesidad crucial de desarrollar estrategias y agentes terapéuticos mejorados.

Breve resumen de la descripción

La presente invención se define mediante las reivindicaciones. Se refiere a un vector que comprende la secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID NO:19. Se describe un método para reducir o disminuir el tamaño de un tumor o para eliminar o frenar el crecimiento de un tumor en un paciente, que comprende administrar al paciente una
30 cantidad eficaz de una construcción de ácido nucleico que comprende un gen de quimera-Fas unido operablemente a un promotor específico de células endoteliales, en el que un producto del gen de quimera-Fas codificado por la construcción de ácido nucleico reduce o disminuye el tamaño de un tumor o elimina el tumor en el paciente, y en el que el tumor está asociado con un cáncer ginecológico femenino o una metástasis de este. La descripción también proporciona un método para inhibir, disminuir o reducir la neovascularización o la angiogénesis en un tumor, que comprende administrar a un paciente que tiene el tumor una cantidad eficaz de una construcción de ácido nucleico
35 que comprende un gen de quimera-Fas unido operablemente a un promotor específico de células endoteliales, en el que un producto del gen de quimera-Fas codificado por la construcción de ácido nucleico inhibe, reduce o disminuye la neovascularización o la angiogénesis en el tumor, y en el que el tumor está asociado con un cáncer ginecológico femenino o una metástasis de este. Además, la descripción incluye un método para tratar o prevenir un tumor asociado o derivado de cáncer mülleriano, cáncer ovárico, cáncer peritoneal, cáncer de las trompas de Falopio, o carcinoma seroso papilar uterino en un paciente, que comprende administrar una cantidad eficaz de una construcción de ácido nucleico que comprende un gen de quimera-Fas unido operablemente a un promotor
40 específico de células endoteliales, en el que un producto del gen de quimera-Fas codificado por la construcción de ácido nucleico trata o previene un cáncer ginecológico femenino o una metástasis de este. El tumor, o una metástasis de este, puede disminuir en tamaño o eliminarse después de la administración. El tumor, o una metástasis de este, puede disminuir de modo que el diámetro más largo ("longest diameter", LD) del tumor disminuye en al menos 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, o 100% comparado con el LD antes de la administración. El cáncer ginecológico femenino puede estar asociado o se deriva de un cáncer mülleriano, cáncer ovárico, cáncer peritoneal, cáncer de las trompas de Falopio, carcinoma seroso papilar uterino, cualquiera de sus combinaciones, o una metástasis de estos.

50 El paciente puede haber recibido una terapia basada en platino previa. El paciente puede padecer un cáncer resistente al platino recurrente. En otro ejemplo, el paciente que padece cáncer resistente al platino recurrente o el cáncer resistente al taxano recurrente presenta un tumor progresivo dentro de seis meses después de completar o recibir una terapia basada en platino o una terapia basada en taxano.

55 En ciertos casos, el paciente no presenta un anticuerpo preexistente contra adenovirus ni desarrolla un anticuerpo contra adenovirus.

En otros casos, los métodos descritos comprenden además administrar una cantidad eficaz de uno o más agentes quimioterapéuticos. Dichos uno o más agentes quimioterapéuticos pueden administrarse antes, al mismo tiempo o

después de la administración de la construcción de ácido nucleico. En un caso específico, el agente quimioterapéutico es paclitaxel.

En ciertos casos, la construcción de ácido nucleico para el método de la invención es un adenovirus. En un ejemplo, el adenovirus expresa un producto del gen de quimera-Fas que comprende un dominio extracelular de un polipéptido de receptor 1 de TNF ("TNF Receptor 1", TNFR1) condensado con un dominio transmembrana y un dominio intracelular de un polipéptido de Fas. El polinucleótido que codifica el producto del gen de quimera-Fas está unido operablemente a un promotor específico de células endoteliales, por ejemplo, un promotor PPE-1-3X. En un caso particular, el adenovirus comprende una secuencia de nucleótidos al menos 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO:19.

10 Un aspecto de la descripción incluye una construcción de ácido nucleico que comprende SEQ ID NO:18. En otro aspecto, la construcción de ácido nucleico comprende además una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de quimera-Fas. La invención es un vector que comprende SEQ ID NO:19. El vector puede ser un adenovirus.

15 Se describe un adenovirus que tiene el n.º de registro de depósito en European Collection of Cell Cultures (ECACC) 13021201. El adenovirus puede ser al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% puro. En un ejemplo, la descripción comprende una composición farmacéutica que comprende el adenovirus y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en la que la composición no contiene otro tipo de adenovirus, por ejemplo, adenovirus que comprenden SEQ ID NO:20 o SEQ ID NO:21.

20 La descripción también incluye un método para inhibir, disminuir o reducir la angiogénesis o la neovascularización en un tejido de un sujeto que lo necesita, que comprende administrar la construcción de ácido nucleico, el vector, el adenovirus, o la composición al sujeto. En un caso, el tejido comprende un tumor. En otro caso, el tamaño del tumor se reduce o disminuye después de la administración, o el crecimiento del tumor se frena después de la administración. En otros casos, el tumor se deriva o está asociado con cáncer de tiroides, cáncer neuroendocrino, glioblastoma, un cáncer ginecológico femenino, cualquiera de sus combinaciones, o una metástasis de estos.

Breve descripción de los dibujos/figuras

La figura 1 muestra el promedio de carga tumoral (eje de ordenadas) en ratones con carcinoma pulmonar de Lewis administrados con vehículo, VB111 1E9 (10^9 partículas de virus (VP) de VB-111), VB111 1E11 (10^{11} VP de VB-111), ComLow (carboplatino 20 mg/kg + Alimta 10 mg/kg), ComHigh (carboplatino 50 mg/kg + Alimta 30 mg/kg), VB111 1E9+ComLow (VB-111 10^9 VP + carboplatino 20 mg/kg + Alimta 10 mg/kg), VB111 1E9+ComHigh (VB-111 10^9 VP + carboplatino 50 mg/kg + Alimta 30 mg/kg), VB111 1E11+ComLow (VB-111 10^{11} VP + carboplatino 20 mg/kg + Alimta 10 mg/kg), y VB111 1E11+ComHigh (VB-111 10^{11} VP + carboplatino 50 mg/kg + Alimta 30 mg/kg) (eje de abscisas).

La figura 2 muestra un diagrama de recuadros del promedio de carga tumoral (eje de ordenadas) en ratones con carcinoma pulmonar de Lewis administrados con vehículo (1), VB111 1E9 (10^9 partículas de virus (VP) de VB-111) (2), VB111 1E11 (10^{11} VP de VB-111) (3), ComLow (carboplatino 20 mg/kg + Alimta 10 mg/kg) (4), ComHigh (carboplatino 50 mg/kg + Alimta 30 mg/kg) (5), VB111 1E9+ComLow (VB-111 10^9 VP + carboplatino 20 mg/kg + Alimta 10 mg/kg) (6), VB111 1E9+ComHigh (VB-111 10^9 VP + carboplatino 50 mg/kg + Alimta 30 mg/kg) (7), VB111 1E11+ComLow (VB-111 10^{11} VP + carboplatino 20 mg/kg + Alimta 10 mg/kg) (8), y VB111 1E11+ComHigh (VB-111 10^{11} VP + carboplatino 50 mg/kg + Alimta 30 mg/kg) (9) (eje de abscisas).

La figura 3 muestra un régimen de terapia de combinación de un adenovirus que comprende un gen de quimera-FAS unido operablemente a un promotor específico de células endoteliales (por ejemplo, VB-111) y paclitaxel. Se administran aproximadamente 3×10^{12} VP o 1×10^{13} VP de VB-111 cada ocho semanas, y el paclitaxel se administra una vez semanal.

Descripción detallada de la invención

I. Definiciones

A menos que se indique lo contrario, todos los términos y expresiones técnicos y científicos empleados en la presente tienen el mismo significado que el que entienden habitualmente los expertos en la técnica a la cual pertenece esta invención. En caso de conflicto, prevalecerá la presente solicitud, incluyendo las definiciones. A menos que el contexto indique lo contrario, los términos y expresiones en singular incluyen el plural, y los términos y expresiones en plural incluyen el singular.

A continuación se describen métodos y materiales adecuados. Los materiales, los métodos y los ejemplos son solo ilustrativos y no pretenden ser limitantes. Otras características y ventajas serán evidentes a partir de la descripción detallada. La invención se define por sus reivindicaciones.

Se proporcionan los siguientes términos, expresiones y definiciones.

Tal como se emplea en la presente, un “anticuerpo” significa una inmunoglobulina intacta, o uno de sus fragmentos de unión al antígeno. Los anticuerpos de esta invención pueden ser de cualquier isotipo o clase (por ejemplo, M, D, G, E y A) o de cualquier subclase (por ejemplo, G1-4, A1-2), y pueden tener una cadena ligera kappa (κ) o lambda (λ).

- 5 La expresión “cantidad eficaz”, tal como se emplea en la presente, se refiere a una cantidad eficaz, en las dosificaciones y durante los periodos de tiempo necesarios, para lograr un resultado deseado. Un resultado deseado puede ser, por ejemplo, la reducción o la inhibición de la neovascularización o la angiogénesis *in vitro* o *in vivo*. Una cantidad eficaz no tiene porqué significar la eliminación completa de la neovascularización o la angiogénesis.

- 10 Tal como se emplea en la presente, una “cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a una cantidad eficaz, en las dosificaciones y durante los periodos de tiempo necesarios, para lograr un resultado terapéutico deseado. Un resultado terapéutico puede ser, por ejemplo, la disminución de los síntomas, la regresión o la estabilización del tamaño del tumor en imágenes radiológicas, una supervivencia prolongada, una movilidad mejorada y similares. No es necesario que un resultado terapéutico sea una “cura”.

- 15 Tal como se emplea en la presente, una “cantidad profilácticamente eficaz” se refiere a una cantidad eficaz, en las dosificaciones y durante los periodos de tiempo necesarios, para lograr un resultado profiláctico deseado. Generalmente, puesto que se emplea una dosis profiláctica en sujetos antes de la enfermedad o en un estadio temprano de la enfermedad, la cantidad profilácticamente eficaz será menor que la cantidad terapéuticamente eficaz.

- 20 El término “polinucleótido” o “nucleótido” pretende incluir un único ácido nucleico, así como una pluralidad de ácidos nucleicos, y se refiere a una molécula o construcción de ácido nucleico aislado, por ejemplo, ARN mensajero (ARNm) o ADN plasmídico (ADNp). En ciertos casos, un polinucleótido comprende un enlace fosfodiéster convencional o un enlace no convencional (por ejemplo, un enlace amida, tal como se encuentra en los ácidos nucleicos peptídicos (ANP)).

- 25 Tal como se emplean en la presente, un “polinucleótido”, un “nucleótido”, y un “ácido nucleico” pueden utilizarse de modo intercambiable y pueden contener la secuencia de nucleótidos de la secuencia de ADN de longitud completa, que incluye las secuencias 5' y 3' no traducidas, las secuencias codificadoras, así como fragmentos, epitopos, dominios y variantes de la secuencia de ácido nucleico. El polinucleótido puede estar compuesto de cualquier polirribonucleótido o polidesoxirribonucleótido, que puede ser ARN o ADN no modificado o ARN o ADN modificado. Por ejemplo, los polinucleótidos pueden estar compuestos de ADN monocatenario y bicatenario, ADN que es una
30 mezcla de regiones monocatenarias y bicatenarias, ARN monocatenario y bicatenario, y ARN que es una mezcla de regiones monocatenarias y bicatenarias, moléculas híbridas que comprenden ADN y ARN que pueden ser monocatenarias o, más generalmente, bicatenarias, o una mezcla de regiones monocatenarias y bicatenarias. Además, los polinucleótidos pueden estar compuestos de regiones tricatenarias que comprenden ARN o ADN, o tanto ARN como ADN. Los polinucleótidos también pueden contener una o más bases modificadas o esqueletos de
35 ARN o ADN modificados para conseguir estabilidad o por otras razones. Las bases “modificadas” incluyen, por ejemplo, bases tritiladas y bases poco habituales, tales como inosina. Pueden realizarse una diversidad de modificaciones en el ADN y ARN; por tanto, un “polinucleótido” incluye las formas química, enzimática o metabólicamente modificadas.

- 40 Un polipéptido puede estar compuesto de aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos o enlaces peptídicos modificados, concretamente, isómeros peptídicos, y puede contener otros aminoácidos distintos de los 20 aminoácidos codificados por genes (por ejemplo, aminoácidos no naturales). Los polipéptidos pueden modificarse mediante procesos naturales, tales como un procesamiento postraducciona, o mediante técnicas de modificación química que son muy conocidas en la técnica. Estas modificaciones están muy bien descritas en textos básicos y en monografías más detalladas, así como en un gran número de referencias bibliográficas de investigación. Las
45 modificaciones pueden producirse en cualquier lugar del polipéptido, incluyendo el esqueleto peptídico, las cadenas laterales de los aminoácidos o los terminales amino o carboxilo. Se apreciará que el mismo tipo de modificación puede estar presente en un mismo grado o en grados variables en varios sitios en un polipéptido concreto. Además, un polipéptido concreto puede contener muchos tipos de modificaciones. Los polipéptidos pueden estar ramificados, por ejemplo, como resultado de una ubiquitinación, y pueden ser cíclicos, con o sin ramificación. Pueden surgir
50 polipéptidos cíclicos, ramificados y cíclicos ramificados de procesos naturales postraduccionales o pueden ser preparados mediante métodos sintéticos. Las modificaciones incluyen acetilación, acilación, ADP-ribosilación, amidación, unión covalente de flavina, unión covalente de un resto hemo, unión covalente de un nucleótido o un derivado de nucleótido, unión covalente de un lípido o de un derivado de lípido, unión covalente de fosfatidilinositol, entrecruzamiento, ciclación, formación de enlaces disulfuro, desmetilación, formación de entrecruzamientos
55 covalentes, formación de cisteína, formación de piroglutamato, formilación, gamma-carboxilación, glicosilación, formación de anclajes de GPI, hidroxilación, yodación, metilación, miristoilación, oxidación, pegilación, procesamiento proteolítico, fosforilación, prenilación, racemización, selenoilación, sulfatación, adición mediada por ARN de transferencia de aminoácidos a proteínas, tal como arginilación, y ubiquitinación (véase, por ejemplo, Proteins—Structure And Molecular Properties, 2ª ed., T. E. Creighton, W.R. Freeman and Company, Nueva York (1993); Posttranslational Covalent Modification of Proteins, B. C. Johnson ed., Academic Press, Nueva York, pp. 1-12 (1983); Seifter *et al.*, *Meth. Enzymol.*, 182:626-646 (1990); Rattan *et al.*, *Ann. NY Acad. Sci.*, 663:48-62 (1992)).

Los términos “fragmento”, “variante”, “derivado” y “análogo”, cuando se refieren a cualquier polipéptido o polinucleótido, incluyen cualquier polipéptido o polinucleótido que conserva al menos alguna de las actividades, concretamente, la capacidad para actuar igual que cualquier función natural del polipéptido o polinucleótido. Por ejemplo, un “fragmento”, “variante”, “derivado” y “análogo” del receptor 1 del factor de necrosis tumoral (“Tumor Necrosis Factor Receptor 1”, TNFR1) tiene algunas de las actividades que aparecen en el TNFR1 natural de longitud completa, por ejemplo, la capacidad para unirse a un ligando de TNFR1, concretamente, TNF-alfa o linfotoxina. En otro ejemplo, un fragmento”, “variante”, “derivado” y “análogo” de un polipéptido de FAS tiene algunas de las actividades que aparecen en el polipéptido de FAS natural de longitud completa, por ejemplo, la capacidad para inducir la apoptosis. En otros ejemplos, un fragmento”, “variante”, “derivado” y “análogo” de un promotor específico de células endoteliales puede inducir la expresión específica de células endoteliales de un gen unido operablemente al promotor. Otros ejemplos no limitantes de los diversos fragmentos, variantes, análogos o derivados de TNFR1, polipéptido de FAS y promotores específicos de células endoteliales se describen a continuación.

Un “fragmento de polipéptido” o “fragmento de proteína” se refiere a una secuencia de aminoácidos corta de un polipéptido. Los fragmentos de proteínas o de polipéptidos pueden ser “autónomos” o estar incluidos en un polipéptido más grande del cual dicho fragmento forma una parte de una región. Los ejemplos representativos de fragmentos de polipéptidos de la invención incluyen, por ejemplo, fragmentos que comprende aproximadamente 5 aminoácidos, aproximadamente 10 aminoácidos, aproximadamente 15 aminoácidos, aproximadamente 20 aminoácidos, aproximadamente 30 aminoácidos, aproximadamente 40 aminoácidos, aproximadamente 50 aminoácidos, aproximadamente 60 aminoácidos, aproximadamente 70 aminoácidos, aproximadamente 80 aminoácidos, aproximadamente 90 aminoácidos, y aproximadamente 100 aminoácidos.

Una “sustitución de aminoácido conservativa” es una sustitución en la que el resto aminoácido es reemplazado por un resto aminoácido que tiene una cadena lateral similar. En la técnica se han definido familias de restos aminoácidos que tienen cadenas laterales similares, e incluyen cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares no cargadas (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales como ramificación en beta (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina). Por tanto, si un aminoácido en un polipéptido es reemplazado por otro aminoácido de la misma familia de cadena lateral, se considera que la sustitución es conservativa. Un tramo de aminoácidos puede ser reemplazado de modo conservativo por un tramo similar desde el punto de vista estructural que se diferencie en el orden y/o la composición de los miembros de la familia de cadena lateral.

La expresión “porcentaje de identidad de secuencia” entre dos secuencias polinucleotídicas o polipeptídicas se refiere al número de posiciones apareadas idénticas compartidas por las secuencias a lo largo de una ventana de comparación, tomando en cuenta las adiciones o las deleciones (es decir, huecos) que deben introducirse para conseguir el alineamiento óptimo de las dos secuencias. Una posición apareada es cualquier posición en la que está presente un nucleótido o aminoácido idéntico en ambas secuencias diana y de referencia. Los huecos que aparecen en la secuencia diana no se cuentan, puesto que los huecos no son nucleótidos ni aminoácidos. De modo similar, los huecos que aparecen en la secuencia de referencia no se cuentan, puesto que se cuentan los nucleótidos o aminoácidos de la secuencia diana, y no los nucleótidos o aminoácidos de la secuencia de referencia.

El porcentaje de identidad de secuencia se calcula determinando el número de posiciones en las que aparece la base de ácido nucleico o el resto aminoácido idéntico en ambas secuencias, para producir el número de posiciones apareadas, dividiendo el número de posiciones apareadas entre el número total de posiciones en la ventana de comparación, y multiplicando el resultado por 100 para producir el porcentaje de identidad de secuencia. La comparación de las secuencias y la determinación del porcentaje e identidad de secuencia entre dos secuencias puede lograrse empleando un software fácilmente disponible para su uso en línea y para descargar. Están disponibles programas de software adecuados en varias fuentes, y para el alineamiento de secuencias de proteínas y de nucleótidos. Un programa adecuado para determinar el porcentaje de identidad de secuencia es b12seq, parte del paquete de programas BLAST disponible en el sitio web del gobierno de EE.UU. National Center for Biotechnology Information BLAST (blast.ncbi.nlm.nih.gov), B12seq realiza una comparación entre dos secuencias empleando el algoritmo BLASTN o BLASTP. Se emplea BLASTN para comparar secuencias de ácidos nucleicos, mientras que BLASTP se usa para comparar secuencias de aminoácidos. Otros programas adecuados son, por ejemplo, Needle, Stretcher, Water, o Matcher, parte del paquete de programas bioinformáticos EMBOSS y también disponibles en el European Bioinformatics Institute (EBI) en www.ebi.ac.uk/Tools/psa.

Diferentes regiones dentro de una única secuencia diana polinucleotídica o polipeptídica que se alinean con una secuencia de referencia polinucleotídica o polipeptídica pueden tener cada una su propio porcentaje de identidad de secuencia. Se hace notar que el valor del porcentaje de identidad se redondea hasta la decena más cercana. Por ejemplo, 80,11, 80,12, 80,13, y 80,14 se redondean hacia abajo a 80,1, mientras que 80,15, 80,16, 80,17, 80,18, y 80,19 se redondean hacia arriba a 80,2. También se hace notar que el valor de la longitud siempre será un número entero.

Los expertos en la técnica apreciarán que la generación de un alineamiento de secuencias para el cálculo del

porcentaje de identidad de secuencia no se limita a comparaciones binarias de secuencia-secuencia exclusivamente dirigidas por los datos de la secuencia primaria. Pueden obtenerse alineamientos de secuencias de alineamientos de múltiples secuencias. Un programa adecuado para generar alineamientos de múltiples secuencias es ClustalW2, disponible en www.clustal.org. Otro programa adecuado es MUSCLE, disponible en www.drive5.com/muscle/. ClustalW2 y MUSCLE también pueden obtenerse, por ejemplo, en EBI.

También se apreciará que pueden generarse alineamientos de secuencias integrando los datos de las secuencias con los datos procedentes de fuentes heterogéneas, tales como datos estructurales (por ejemplo, estructuras de proteínas cristalográficas), datos funcionales (por ejemplo, localización de mutaciones) o datos filogenéticos. Un programa adecuado que integra datos heterogéneos para generar un alineamiento de múltiples secuencias es T-Coffee, disponible en www.tcoffee.org, y también disponible, por ejemplo, en EBI. También se apreciará que el alineamiento final usado para calcular el porcentaje de identidad de secuencia puede curarse de modo automático o manual.

Tal como se emplean en la presente, los términos “unido”, “condensado”, “fusión”, “quimérico” y “quimera” se emplean de modo intercambiable. Estos términos se refieren a unir dos o más elementos o componentes por cualquier medio, que incluye la conjugación química o medios recombinantes. Una “fusión dentro de marco” se refiere a la unión de dos o más marcos de lectura abierta (“open reading frames”, ORF) para formar un ORF más largo y continuo, de manera que se mantiene el marco de lectura correcto de los ORF originales. Así, la proteína quimérica o de fusión recombinante resultante es una única proteína que contiene dos o más segmentos que se corresponden con polipéptidos codificados por los ORF originales (segmentos que normalmente no están unidos así en la naturaleza). Aunque así se consigue que el marco de lectura sea continuo a través de los segmentos condensados, los segmentos pueden estar separados física o espacialmente, por ejemplo, mediante una secuencia de conector dentro de marco.

El término “heterólogo” y la expresión “resto heterólogo” significan que un polinucleótido, un polipéptido u otro resto se deriva de una entidad diferenciada de la entidad con la cual se está comparando. Por ejemplo, un polipéptido heterólogo puede ser sintético o puede derivarse de una especie diferente, un tipo de célula diferente de un individuo, o del mismo tipo o un tipo diferente de célula de individuos diferenciados. En un aspecto, un resto heterólogo puede ser un polipéptido condensado a otro polipéptido para producir un polipéptido o proteína de fusión. En otro aspecto, un resto heterólogo puede no ser un polipéptido, tal como PEG conjugado con un polipéptido o una proteína.

En el contexto de los polipéptidos, una “secuencia lineal” o una “secuencia” es un orden de aminoácidos en un polipéptido en la dirección de amino a carboxilo terminal, en la que los restos contiguos entre sí en la secuencia están contiguos en la estructura primaria del polipéptido.

El término “expresión”, tal como se emplea en la presente, se refiere a un proceso mediante el cual un gen produce un producto bioquímico, por ejemplo, un ARN o un polipéptido. El proceso incluye cualquier manifestación de la presencia funcional del gen dentro de la célula que incluye, sin limitación, la inactivación del gen, así como la expresión transitoria y la expresión estable. Esto incluye, sin limitación, la transcripción del gen a ARN mensajero (ARNm), ARN de transferencia (ARNt), ARN de horquilla pequeño (ARNhp), ARN de interferencia pequeño (ARNip) o cualquier otro producto de ARN, y la traducción de dicho ARNm en uno o más polipéptidos. Si el producto final deseado es un producto bioquímico, la expresión incluye la creación de este producto bioquímico y cualquiera de sus precursores.

II. Construcciones de ácidos nucleicos que comprenden un gen de quimera-FAS y un promotor específico de células endoteliales

La presente descripción se refiere a métodos para reducir o disminuir el tamaño de un tumor en un cáncer ginecológico femenino mediante la inhibición, la disminución o la reducción de la angiogénesis o la neovascularización en el tumor, que comprenden administrar una construcción de ácido nucleico que expresa una proteína de quimera-FAS. El gen que codifica la proteína de quimera-FAS (o el producto del gen) puede unirse a un promotor específico de células endoteliales que dirige la expresión del producto del gen de quimera-FAS en una célula endotelial. La expresión de dicho producto de gen citotóxico es útil en una situación en la que no se desea una neovascularización o crecimiento de vasos sanguíneos excesiva, por ejemplo, en un tumor.

La presente descripción también proporciona una población homogénea de una construcción de ácido nucleico que comprende un gen de quimera-FAS unido operablemente a un promotor específico de células endoteliales.

A. Quimera-FAS

Una proteína de quimera-FAS expresada por el vector de la invención comprende al menos dos polipéptidos de “receptor de muerte”, y cada uno de estos polipéptidos se deriva de una proteína diferente. El primer polipéptido de la proteína de quimera-FAS comprende un dominio de unión al ligando del receptor 1 del factor de necrosis tumoral (TNFR1). El segundo polipéptido de la proteína de quimera-FAS comprende un dominio efector de un polipéptido de FAS.

El dominio de unión al ligando de TNFR1 puede ser cualquier dominio que se une a un ligando de TNFR1. En una realización, el ligando de TNFR1 es TNF- α . En otro caso, el ligando de TNFR1 es linfotóxina- α . El dominio de unión al ligando de TNFR1 puede ser un dominio extracelular de TNFR1 o cualquiera de sus fragmentos, variantes, derivados o análogos. A continuación se describen ejemplos no limitantes de dominio de unión al ligando de TNFR1.

5 El dominio efector de un polipéptido de FAS útil comprende cualquier dominio de FAS que forme un complejo de señalización inductor de muerte ("death-inducing signaling complex", DISC), induciendo con ello la apoptosis. En un caso, un dominio efector de un polipéptido de FAS comprende un dominio intracelular, un dominio transmembrana o ambos. A continuación se describen ejemplos no limitantes de dominios efectores del polipéptido de FAS.

10 El TNFR1 y el polipéptido de FAS pueden unirse mediante un enlace peptídico o mediante un conector. El conector que conecta el dominio de unión al ligando de TNFR1 con el dominio efector de FAS puede ser un conector polipeptídico o un conector no peptídico. Por ejemplo, un conector para la proteína de quimera-FAS puede comprender una o más de glicina, serina, leucina o cualquiera de sus combinaciones. En un caso, un conector útil para la invención comprende Ser-Leu. En otro caso, un conector útil comprende (GGGS) $_n$, (Denise *et al.* *J. Biol. Chem.*, 277:35035-35043 (2002)), en el que n puede ser 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 o más (SEQ ID NO:27).

15 I. Receptor 1 del factor de necrosis tumoral

El polipéptido de TNFR1 humano de longitud completa tiene una longitud de 455 aminoácidos y también se denomina TNF-R1, receptor de tipo 1 del factor de necrosis tumoral (TNFR1), TNFR-1, TNFRSF1A, TNFAR, p55, P60, o CD120a. Se sabe que el polipéptido de TNFR1 humano natural se une a TNF- α o a la linfotóxina- α homotrimérica. La unión de TNF- α al dominio extracelular conduce a la homotrimerización de TNFR1, que entonces interacciona específicamente con el dominio de muerte de la proteína del dominio de muerte asociada al receptor de tipo 1 del factor de necrosis tumoral ("Tumor Necrosis Factor Receptor Type 1-Associated Death Domain Protein", TRADD). Diversas proteínas que interactúan con TRADD, tales como los factores asociados al receptor de TNF ("TNF Receptor Associated Factors", TRAFs), serina/treonina proteína quinasa 1 de interacción con el receptor ("Receptor-Interacting Serine/Threonine-Protein Kinase 1", RIPK1), y la proteína asociada a Fas con dominio de muerte ("Fas-Associated Protein with Death Domain", FADD) son reclutadas al complejo por su asociación con TRADD. El complejo activa al menos dos cascadas de señalización de diferencias, la apoptosis y la señalización de NF-kappa-B.

Una secuencia polipeptídica de 455 aa indicada como una secuencia del polipéptido de TNFR1 humano tiene el número de registro P19438-1 en la base de datos UniProtKB. Esta secuencia del polipéptido de TNFR1 humano se denomina en la presente la isoforma A y SEQ ID NO:2. La SEQ ID NO:1 es una secuencia de nucleótidos que codifica SEQ ID NO:2. Se ha indicado que una secuencia polipeptídica de 108 aa es una isoforma de la secuencia del polipéptido de TNFR1 humano y tiene el número de registro P19438-2 en la base de datos UniProtKB. El polipéptido de 108 aa se corresponde con los aminoácidos 1 a 108 de la isoforma A (SEQ ID NO:2) y se denomina en la presente la isoforma B. Se ha indicado otro variante del polipéptido de TNFR1 humano que tiene 232 aa con el número de registro P19438-3 en la base de datos UniProtKB. El polipéptido de 232 aa se corresponde con los aminoácidos 1 a 232 de la isoforma A (SEQ ID NO:2) y se denomina en la presente la isoforma C. Otros variantes naturales del TNFR1 humano incluyen, pero no se limitan al polipéptido de TNFR1 de las isoformas A B y C que comprende una o más mutaciones seleccionadas del grupo que consiste en H51Q, C59R, C59S, C62G, C62Y, P75L, T79M, C81F, C99S, S115G, C117R, C117Y, R121P, R121Q, P305T, y cualquiera de sus combinaciones. Otros variantes de TNFR1 conocidos incluyen el polipéptido de TNFR1 de las isoformas A, B y C que comprende L13LILPQ, K255E, S285G, R394L, 412:ausente, GPAA443-446APP, o cualquiera de sus combinaciones.

La tabla 1 muestra la secuencia de aminoácidos de TNFR1 de tipo salvaje humano y una secuencia de nucleótidos que codifica el TNFR1 de tipo salvaje.

Tabla 1 - Secuencias de TNFR1

SEQ ID NO:	Secuencias
Secuencia de aminoácidos de TNFR1 (SEQ ID NO:2)	MGLSTVPDLLLLPLVLELLVGIYPSGVIGLVPHLGDREKRDSVCPQGKYIHPQNNNSICCT KCHKGTLYLNDPCPGPQDTCRECESGSFTASENHLRHCLSCSKCRKEMGQVEISSCTVD RDTVCGCRKNQYRHYWSLENLFCFNCCLNGTVHLSCQEKQNTVCTCHAGFFLRENECV SCSNCKKSLECTKLCLPQIENVKGTEDSGTTVLLPLVIFFGCLLSLLFIGLMYRQRWK SKLYSIVCGKSTPEKEGELEGGTTTKPLAPNPSFSPPTPGFTPTLGFSPVPSSTFTSSSTYT PGDCPNFAAPRREVAPPYQGADPILATALASDPIPNPLQKWEDSAHKPQSLDTPDTPATLY AVVENVPPLRWKEFVRRRLGLSDHEIDRLELQNGRCLREAQYSMLATWRRRTPRREATLEL LGRVLRDMDLLGCLLEDIEEALCGPAALPPAPSLLR

ES 2 703 913 T3

<p>Secuencia de nucleótidos que codifica TNFR1 (SEQ ID NO:1)</p>	<p>Atgggcctctccaccgtgacctgctgctgccgctgggtgctcctggagctgttggg Ggaatatacccctcaggggttattggactggtccctcacctaggggacagggagaagaga Gatagtgtgtgtccccaaggaaaatatatccaccctcaaaataattcgatttgctgtacc Aagtgccacaaaggaacctacttgtacaatgactgtccaggcccgggcaggatacggac Tgcagggagtgtgagagcggctccttcaccgcttcagaaaaccacctcagacactgcctc Agctgctccaaatgccgaaaggaaatgggtcaggtggagatctcttcttgcacagtggac Cgggacaccgtgtgtggctgcaggaagaaccagtaccggcattattggagtgaaaacctt Ttccagtgttcaattgcagcctctgcctcaatgggaccgtgcacctctcctgccaggag Aaacagaacaccgtgtgcacctgccatgcaggtttctttctaagagaaaacgagtgtgtc Tcctgtagtaactgtaagaaaagcctggagtgcacgaagtgtgtcctacccagattgag Aatgtaagggcactgaggactcaggcaccacagtgtgtgtgccctggtcattttcttt Ggtctttgecttttatccctcctcttcaattggtttaatgtatogctaccaacggtggaag Tccaagctctactccattgtttgtgggaaatcgacacctgaaaaagagggggagcttga Ggaactactactaagcccctggcccacaaccaagcttcagtcccactccaggctcacc Cccaccctgggcttcagtcacctgcccagttccacctcacctccagctccacctatacc Cccggtgactgtcccaactttgcggtccccgcagagaggtggcaccacctatcagggg Gctgaccccatccttgcgacagccctcgctccgaccccatcccacccccctcagaag Tgggaggacagcggccacaagccacagagcctagacactgatgaccccgcgacgctgtac Gccgtggtggagaacgtgccccggttgcgctggaaggaattcgtgcgggcctagggtg Agcgaccacgagatcgatcggtggagctgcagaacggcgctgcctgcgcgaggcga Tacagcatgctggcgacctggagggcgcgacgccgcgggcgagggccacgctggagctg Ctgggacgctgctccgacatggacctgctgggtgctggaggacatcgaggaggcg ctttgcgcccccgccctcccgcgcccagctcttctcaga</p>
<p>Secuencia de aminoácidos de un dominio de unión al ligado de TNFR1 (SEQ ID NO:4)</p>	<p>MGLSTVPDLLLPLVLELLVGIYPSGVIGLVPHLGDREKRDSVCPQGKYIHPQNNISICT KCHKGTLYLNDPCPGQDTCRECESGSFTASENHLRHCLSCSKCRKEMQVEISSCTVD RDTVCGCRKNQYRHYWSENLFQCFNCSLCLNGTVHLSQEQKQNTVCTCHAGFFLRENECV SCSNCKKSLECTKLCLP</p>
<p>Secuencia de nucleótidos que codifica un dominio de unión al ligado de TNFR1 (SEQ ID NO:3)</p>	<p>atgggcctct ccaccgtgcc tgacctgctg ctgccgctgg tgctcctgga gctgttgggtg ggaatatacc cctcaggggt tattggactg gtccctcacc taggggacag ggagaagaga gatagtgtgt gtccccaagg aaaatatac caccctcaaa ataattcgat ttgctgtacc aagtgccaca aaggaaccta cttgtacaat gactgtccag gcccggggca ggatacggac tgcagggagt gtgagagcgg ctccctcacc gcttcagaaa accacctcag aactgcctc agctgctcca aatgccgaaa ggaaatgggt caggtggaga tctcttcttg cacagtggac cgggacaccg tgtgtggctg caggaagaac cagtaccggc attattggag tgaaaacctt ttccagtgt tcaattgcag cctctgcctc aatgggaccg tgcacctctc ctgccaggag aaacagaaca ccgtgtgcac ctgcatgca ggtttctttc taagagaaaa cgagtgtgtc tcctgtagta actgtaagaa aagcctggag tgcacgaagt tgtgcctacc a</p>

También se indica la secuencia del polipéptido de TNFR1 de ratón y sus variantes. El polipéptido de TNFR1 de ratón de 454 aa tiene el número de registro P2118 en la base de datos UniProtKB. Los polipéptidos de TNFR1 conocidos en otros animales incluyen, pero no se limitan a rata (por ejemplo, P22934 en la base de datos UniProtKB), vaca (por ejemplo, O19131 en la base de datos UniProtKB), cerdo (por ejemplo, P50555 en la base de datos UniProtKB), o caballo (por ejemplo, D1MH71 en la base de datos UniProtKB).

El TNFR1 de longitud completa puede romperse en dos cadenas: (1) el miembro 1A de la superfamilia del receptor de TNF, en la forma de membrana (concretamente, los aminoácidos 22 a 455 que corresponden al TNFR1 de longitud completa), y (2) la proteína 1 de unión a TNF ("TNF-binding protein 1", TBP1) (concretamente, los aminoácidos 41 a 291 que corresponden al TNFR1 de longitud completa). El polipéptido de TNFR1 humano de longitud completa consiste en una secuencia señal (aminoácidos 1 a 21 de SEQ ID NO:2), un dominio extracelular (aminoácidos 22 a 211 de SEQ ID NO:2), un dominio transmembrana (aminoácidos 212 a 234 de SEQ ID NO:2), y un dominio citoplásmico (aminoácidos 235 a 455 de SEQ ID NO:2). El dominio extracelular de TNFR1 comprende cuatro regiones repetidas de cisteína, TNFR-Cys1 (aminoácidos 43 a 82 correspondiente en SEQ ID NO:2), TNFR-Cys2 (aminoácidos 83 a 125 que corresponden a SEQ ID NO:2), TNFR-Cys3 (aminoácidos 126 a 166 que corresponden a SEQ ID NO:2), y TNFR-Cys4 (aminoácidos 167 a 196 que corresponden a SEQ ID NO:2).

Tal como apreciarán los expertos en la técnica, los restos del comienzo y el fin de los dominios listados anteriormente pueden variar dependiendo del programa informático de formación de modelos usado o del método empleado para determinar el dominio. Así, diversos dominios funcionales de TNFR1 pueden ser distintos de los definidos anteriormente.

En un caso, un dominio de unión al ligando de TNFR1 útil para la proteína de quimera-FAS consiste fundamentalmente o consiste en un dominio extracelular de TNFR1, o cualquiera de sus fragmentos, variantes, derivados o análogos, en el que el dominio extracelular de TNFR1, o cualquiera de sus fragmentos, variantes, derivados o análogos se une a TNF- α . En otro caso, un dominio de unión al ligando de TNFR1 comprende TNFR-Cys1; TNFR-Cys2; TNFR-Cys3; TNFR-Cys4; TNFR-Cys1 y TNFR-Cys2; TNFR-Cys1 y TNFR-Cys3; TNFR-Cys1 y TNFR-Cys4; TNFR-Cys2 y TNFR-Cys3; TNFR-Cys2 y TNFR-Cys4; TNFR-Cys3 y TNFR-Cys4; TNFR-Cys1, TNFR-Cys2, y TNFR-Cys3; TNFR-Cys1, TNFR-Cys2, y TNFR-Cys4; TNFR-Cys2, TNFR-Cys3, y TNFR-Cys4; o TNFR-Cys1, TNFR-Cys2, TNFR-Cys3, y TNFR-Cys4. En otros casos, un dominio de unión al ligando de TNFR1 en la proteína de quimera-FAS comprende la proteína I de unión a TNF. En otros casos, un dominio de unión al ligando de TNFR1 de la proteína de quimera-FAS comprende, consiste fundamentalmente o consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a los aminoácidos 22 a 190, aminoácidos 22 a 191, aminoácidos 22 a 192, aminoácidos 22 a 193, aminoácidos 22 a 194, aminoácidos 22 a 195, aminoácidos 22 a 196, aminoácidos 22 a 197, aminoácidos 22 a 198, aminoácidos 22 a 199, aminoácidos 22 a 200, aminoácidos 22 a 201, aminoácidos 22 a 202, aminoácidos 22 a 203, aminoácidos 22 a 204, aminoácidos 22 a 205, aminoácidos 22 a 206, aminoácidos 22 a 207, aminoácidos 22 a 208, aminoácidos 22 a 209, aminoácidos 22 a 210, o aminoácidos 22 a 211 de SEQ ID NO:2, en el que el dominio de unión al ligando se une a un ligando de TNFR1, por ejemplo, TNF- α .

En otros casos, el dominio de unión al ligando de TNFR1 comprende además un péptido señal. Un ejemplo de un péptido señal adecuado es el péptido señal de TNFR1, por ejemplo, los aminoácidos 1 a 21 de SEQ ID NO:2. En otros casos, un dominio de unión al ligando del producto del gen de quimera-FAS comprende, consiste fundamentalmente o consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a los aminoácidos 1 a 196, aminoácidos 1 a 191, aminoácidos 1 a 192, aminoácidos 1 a 193, aminoácidos 1 a 194, aminoácidos 5 a 195, aminoácidos 1 a 196, aminoácidos 1 a 197, aminoácidos 1 a 198, aminoácidos 1 a 199, aminoácidos 1 a 200, aminoácidos 1 a 201, aminoácidos 1 a 202, aminoácidos 1 a 203, aminoácidos 1 a 204, aminoácidos 1 a 205, aminoácidos 1 a 206, aminoácidos 1 a 207, aminoácidos 1 a 208, aminoácidos 1 a 209, aminoácidos 1 a 210, o aminoácidos 1 a 211 de SEQ ID NO:2, en el que el dominio de unión al ligando se une a un ligando de TNFR1, por ejemplo, TNF- α . En una realización específica, un dominio de unión al ligando de TNFR1 de la proteína de quimera-FAS comprende, consiste fundamentalmente o consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO:4, en el que el dominio de unión al ligando se une a un ligando de TNFR1, por ejemplo, TNF- α .

En otros casos, el dominio de unión al ligando de TNFR1 es codificado por una secuencia de nucleótidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO:3.

En aún otros casos, un dominio de unión al ligando de TNFR1 de la proteína de quimera-FAS comprende, consiste fundamentalmente o consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a los aminoácidos 22 a 108 de SEQ ID NO:2 (isoforma B de TNFR1), aminoácidos 22 a 232 de SEQ ID NO:2 (isoforma C de TNFR1), o aminoácidos 44 a 291 de SEQ ID NO:2 (TBP1), en el que el dominio de unión al ligando se une a un ligando de TNFR1, por ejemplo, TNF- α .

2. Polipéptido de FAS

El polipéptido de FAS humano de longitud completa tiene una longitud de 335 aminoácidos y también se denomina miembro 6 de la superfamilia del receptor de necrosis tumoral, antígeno Apo-1, antígeno de superficie de FAS

- mediador en la apoptosis, receptor de FASLG, o CD95. El polipéptido de FAS natural es un receptor para TNFSF6/FASLG. Cuando el polipéptido de FAS se une al ligando de FAS (FasL), la interacción entre FAS y FasL provoca la formación del complejo de señalización inductor de muerte ("death-inducing signaling complex", DISC), que contiene FADD, caspasa-8 y caspasa-10. En algunos tipos de células (tipo I), la caspasa-8 procesada activa directamente a otros miembros de la familia de la caspasa y activa la ejecución de la apoptosis de la célula. En otros tipos de células (tipo II), el FAS-DISC comienza un bucle de retroalimentación que rápidamente aumenta la liberación de factores proapoptóticos desde las mitocondrias y la activación amplificada de la caspasa-8. La apoptosis mediada por FAS puede desempeñar un papel en la inducción de tolerancia periférica, en el suicidio estimulado por antígenos de las células maduras, o en ambos.
- 5
- 10 Una secuencia polipeptídica de 335 aa indicada como una secuencia del polipéptido de FAS humano tiene el número de registro P25445-1 en la base de datos UniProtKB. Esta secuencia del polipéptido de FAS humano se denomina en la presente SEQ ID NO:6. La SEQ ID NO:5 es una secuencia de nucleótidos que codifica SEQ ID NO:6. La secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido de FAS también se conoce como APT1, FAS1, o TNFRSF6. El polipéptido de FAS de longitud completa contiene un péptido señal (aminoácidos 1 a 25 que corresponden a SEQ ID NO:6), un dominio extracelular (aminoácidos 26 a 173 que corresponden a SEQ ID NO:6), un dominio transmembrana (aminoácidos 174 a 190 que corresponden a SEQ ID NO 6), y un dominio intracelular (o citoplásmico) (aminoácidos 191 a 335 que corresponden a SEQ ID NO:6). El dominio intracelular contiene un dominio de muerte (por ejemplo, aminoácidos 230 a 314 que corresponden a SEQ ID NO:6).
- 15
- 20 Tal como apreciarán los expertos en la técnica, los restos del comienzo y el fin de los dominios listados anteriormente pueden variar dependiendo del programa informático de formación de modelos usado o del método empleado para determinar el dominio. Así, diversos dominios funcionales de FAS pueden ser distintos de los definidos anteriormente. La tabla 2 muestra la secuencia de aminoácidos de FAS de tipo salvaje humano y una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína de FAS.

Tabla 2 - Secuencias de FAS

	Secuencias
Secuencia de aminoácidos de la proteína FAS humana (SEQ ID NO:6)	MLGIWTLPLVLTSTVARLSSKSVNAQVTDINSKGLELRKTVTTVETQNLLEGLHHDGQFCHKPCPPGERKARDCTVNGDEPDCVPCQEGKEYTDKAHFSSKCRRCRLCDEGHGLEVEINCTRTQNTKCRCKPNFFCNSTVCEHCDPCTKCEHGI I KECTLTSNTKCKEEGSRNSNLGWLCLLLLP I PLIVVVKRKEVQKTCRKHRENQGSHEPTLNPE TVAINLSDVDLSKYITTTIAGVMTLSQVKG FVRKNGVNEAKIDEIKNDNVQDTAEQKVQLLRNWHQLHGKKEAYDTL IKDLKKANLCTLAEKIQTI I LKDITSDSENSNFRNEIQSLV

ES 2 703 913 T3

<p>Secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de FAS humana TNFR1 (SEQ ID NO:5)</p>	<p>Atgctgggcatctggacctcctacctctgggtctcttacgtctggtgctagattatcgctcc Aaaagtgttaatgcccaagtgactgacatcaactccaagggattggaattgaggaagact Gttactacagttgagactcagaacttggaggcctgcatcatgatggccaattctgccat Aagccctgtcctccaggtgaaaggaaagctagggactgcacagtcfaatggggatgaacca Gactgctgcccctgccagaagggaaggagtacacagacaaagccatttttcttccaaa Tgcagaagatgtagattgtgtgatgaaggacatggcttagaagtggaaataaactgcacc Cggaccagaataccaagtgcagatgtaaaccaaactttttttgtaactctactgtatgt Gaacactgtgacccttgaccaaagtgaacatggaatcatcaaggaatgcacactcacc Agcaacaccaagtgcagaaggaggatccagatctaacttgggggtggctttgtcttctt Cttttgccaatccactaattgtttgggtgaagagaaaggaagtacagaaaacatgcaga Aagcacagaaaggaaaaccaaggttctcatgaatctccaactttaaatcctgaaacagtg Gcaataaatttatctgatgttgacttgagtaaatatatacaccactattgctggagtcag Aactaagtcaagttaaaggctttgttcgaaagaatgggtgtcaatgaagccaaaatagat Gagatcaagaatgacaatgtccaagacacagcagaaacagaaagttcaactgcttcgtaat Tggcatcaacttcatggaaagaaagaagcgtatgacacattgattaaagatctcaaaaa Gccaatctttgtactcttgacagagaaaattcagactatcatcctcaaggacattactagt Gactcagaaaattcaaacttcagaaatgaaatccaaagcttgggtctag</p>
<p>Secuencia de aminoácidos de un dominio efector de FAS (SEQ ID NO:8)</p>	<p>GSRSNLGWLCLLLLPIPLIVVVKRKEVQKTCRKHRENQGS HESPTLNPETVAINLSVDLSKYITTIAGVMTLSQVKGFVR KNGVNEAKIDEIKNDNVQDTAEQKVQLLRNWHQLHGKKEAY DTLIKDLKKANLCTLAEKIQTIIILKDITSDSENSNFRNEIQ SLV</p>
<p>Secuencia de nucleótidos que codifica un dominio efector de FAS (SEQ ID NO:7)</p>	<p>Aggatccagatctaacttgggggtggctttgtcttcttcttttgccaattccactaatt Gtttgggtgaagagaaaggaagtacagaaaacatgcagaaagcacagaaaggaaaacc Aaggttctcatgaatctccaaccttaaatcctgaaacagtggcaataaatttatctga Tgttgacttgagtaaatatatacaccactattgctggagtcagactaagtcaagtt Aaaggctttgttcgaaagaatgggtgtcaatgaagccaaaatagatgagatcaagaatg Acaatgtccaagacacagcagaaacagaaagttcaactgcttcgtaattggcatcaact Tcatggaaagaaagaagcgtatgacacattgattaaagatctcaaaaaagccaatctt Tgtactcttgacagagaaaattcagactatcatcctcaaggacattactagtgactcag aaaattcaaacttcagaaatgaaatccaaagcttgggtctag</p>

5 También se indica la secuencia del polipéptido de FAS de ratón y sus variantes. El polipéptido de FAS de ratón de 327 aa tiene el número de registro P25446 en la base de datos UniProtKB. Los polipéptidos de FAS conocidos en otros animales incluyen, pero no se limitan a cercopiteco (por ejemplo, Q9BDN4 en la base de datos UniProtKB), mono Rhesus (por ejemplo, Q9BDP2 en la base de datos UniProtKB), rata (por ejemplo, Q63199 en la base de datos UniProtKB), o vaca (por ejemplo, P51867 en la base de datos UniProtKB).

Basándose en la variación de secuencia en el polipéptido de FAS, los expertos en la técnica pueden identificar

variaciones de secuencia en el dominio efector del polipéptido de FAS. Por ejemplo, los variantes naturales de los dominios efectores de FAS pueden incluir una o más sustituciones o mutaciones de C178R, L180F, P183L, I184V, T198I, Y232C, T241K, T241P, V249L, R250P, R250Q, G253D, G253S, N255D, A257D, I259R, D260G, D260V, D260Y, I262S, N264K, T270I, T270K, E272G, E272K, L278F, K299N, T305I, I310S, o cualquiera de sus combinaciones

5 En un caso, un dominio efector del polipéptido de FAS útil comprende un dominio de muerte del polipéptido de FAS. En otro caso, un dominio efector del polipéptido de FAS comprende, consiste fundamentalmente o consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a los aminoácidos 230 a 314 de SEQ ID NO:6. En otros casos, un dominio efector del polipéptido de FAS comprende un dominio intracelular del polipéptido de FAS. En otros casos, un dominio efector del polipéptido de FAS comprende una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a los aminoácidos 185 a 335, aminoácidos 186 a 335, aminoácidos 187 a 335, aminoácidos 188 a 335, aminoácidos 189 a 335, aminoácidos 190 a 335, aminoácidos 191 a 335, aminoácidos 192 a 335, aminoácidos 193 a 335, aminoácidos 194 a 335, aminoácidos 195 a 335, aminoácidos 196 a 335, aminoácidos 197 a 335, aminoácidos 198 a 335, aminoácidos 199 a 335 de SEQ ID NO:6.

10 En aún otros casos, el dominio efector del polipéptido de FAS comprende además un dominio transmembrana del polipéptido de FAS. En aún otros casos, un dominio efector del polipéptido de FAS comprende una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a los aminoácidos 174 a 335 de SEQ ID NO:6. En algunos casos, un dominio efector del polipéptido de FAS comprende además aproximadamente diez, aproximadamente nueve, aproximadamente ocho, aproximadamente siete, aproximadamente seis, aproximadamente cinco, aproximadamente cuatro, aproximadamente tres, aproximadamente dos o aproximadamente un aminoácido de la porción C-terminal del dominio extracelular de FAS. En ciertos casos, un dominio efector del polipéptido de FAS comprende una secuencia de aminoácidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a los aminoácidos 179 a 335, aminoácidos 178 a 335, aminoácidos 77 a 335, aminoácidos 176 a 335, aminoácidos 175 a 335, aminoácidos 174 a 335, aminoácidos 173 a 335, aminoácidos 172 a 335, aminoácidos 171 a 335, aminoácidos 170 a 335, aminoácidos 169 a 335, aminoácidos 168 a 335, aminoácidos 167 a 335, aminoácidos 166 a 335, aminoácidos 165 a 335, aminoácidos 164 a 335, o aminoácidos 163 a 335 de SEQ ID NO:6, en el que el dominio efector forma un complejo de señalización inductor de muerte (DISC), activa la caspasa 8, o induce la apoptosis.

20 En algunos casos, un dominio efector del polipéptido de FAS comprende, consiste fundamentalmente o consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO:8, en el que el dominio efector forma un complejo de señalización inductor de muerte (DISC), activa la caspasa 8, o induce la apoptosis.

25 En otros casos, un dominio efector del polipéptido de FAS es codificado por una secuencia de nucleótidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO:7.

30 En un caso, el producto del gen de quimera-FAS comprende, consiste fundamentalmente, o consiste en una secuencia de aminoácidos al menos 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO:10, en el que el producto del gen de quimera-FAS induce la apoptosis. En otro caso, el producto del gen de quimera-FAS es codificado por una secuencia de nucleótidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO:9, en el que el producto del gen de quimera-FAS induce la apoptosis.

B. Promotor específico de células endoteliales

35 La construcción de ácido nucleico que comprende un gen de quimera-FAS comprende uno o más elementos de control de la expresión útiles para regular la expresión de un gen de quimera-FAS unido operablemente. Los elementos de control de la expresión incluyen, pero no se limitan a promotores, señales de secreción y otros elementos reguladores.

La construcción de ácido nucleico utiliza un promotor específico de células endoteliales para dirigir la expresión de la proteína de quimera-FAS en una célula endotelial, induciendo con ello la apoptosis de la célula endotelial.

40 Un promotor específico de células endoteliales puede contener uno o más elementos reguladores en cis, que mejoran la especificidad de células endoteliales de los promotores, comparado con un promotor sin los elementos reguladores en cis. En un ejemplo, el elemento regulador en cis comprende un potenciador. En otro aspecto, el elemento regulador en cis comprende un elemento de respuesta a la hipoxia. En otros ejemplos, el elemento regulador en cis comprende un potenciador y un elemento de respuesta a la hipoxia.

45 En un caso, un potenciador útil comprende una secuencia de nucleótidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO:11 o SEQ ID NO:12 (la secuencia complementaria de SEQ ID NO:11), en el que el potenciador mejora la especificidad de células endoteliales de un promotor, comparado con un promotor sin el potenciador. El potenciador puede comprender además una secuencia de nucleótidos adicional al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO:13 o SEQ ID NO:14 (la secuencia complementaria de SEQ ID NO:13).

5 En otro caso, un potenciador comprende una secuencia de nucleótidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO:13 o SEQ ID NO:14 (la secuencia complementaria de SEQ ID NO:13), en el que el potenciador mejora la especificidad de células endoteliales de un promotor, comparado con un promotor sin el potenciador. El potenciador puede comprender además una secuencia de nucleótidos adicional al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO:11 o SEQ ID NO:12 (la secuencia complementaria de SEQ ID NO:11).

10 En otros casos, un potenciador comprende una secuencia de nucleótidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO:15 o SEQ ID NO:16 (la secuencia complementaria de SEQ ID NO:15), en el que el potenciador mejora la especificidad de células endoteliales de un promotor, comparado con un promotor sin el potenciador. En aún otros casos, un potenciador para la construcción de vector comprende SEQ ID NO:15 o SEQ ID NO:16, o cualquiera de sus fragmentos, variantes, derivados o análogos, en el que los fragmentos, variantes, derivados o análogos mejoran la especificidad de células endoteliales de un promotor, comparado con un promotor sin el potenciador.

15 En algunos casos, un potenciador comprende una secuencia de nucleótidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO:22 o SEQ ID NO:23, en el que el potenciador mejora la especificidad de células endoteliales de un promotor, comparado con un promotor sin el potenciador. En aún otros casos, un potenciador comprende SEQ ID NO:22 o SEQ ID NO:23, o cualquiera de sus fragmentos, variantes, derivados o análogos, en el que los fragmentos, variantes, derivados o análogos mejoran la especificidad de células endoteliales de un promotor, comparado con un promotor sin el potenciador.

20 En otros casos, un potenciador comprende una secuencia de nucleótidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO:24 o SEQ ID NO:25, en el que el potenciador mejora la especificidad de células endoteliales de un promotor, comparado con un promotor sin el potenciador. En aún otros casos, un potenciador comprende SEQ ID NO:24 o SEQ ID NO:25, o cualquiera de sus fragmentos, variantes, derivados o análogos, en el que los fragmentos, variantes, derivados o análogos mejoran la especificidad de células endoteliales de un promotor, comparado con un promotor sin el potenciador.

25 La tabla 3 muestra diversas secuencias de potenciadores.

Tabla 3 - Promotores y elementos potenciadores específicos de células endoteliales

SEQ ID NO:	Secuencias
SEQ ID NO:11	ctggaggggtg actttgcttc tggagccagt acttcatact tttcatt
SEQ ID NO:12	aatgaaaagt atgaagtact ggctccagaa gcaaagtcac cctccag
SEQ ID NO:13	gtacttcata cttttcattc caatgggggtg actttgcttc tgga
SEQ ID NO:14	tccagaagca aagtcacccc attggaatga aaagtatgaa gtac
SEQ ID NO:15	Elemento potenciador 3X ctccagaagcaaagtcaccccattggaatgaaaagtatgaagtacaatgaaaagtatgaagt actggctccagaagcaaagtcaccctccagaagcaaagtcaccccattggaatgaaaagtat gaagtac
SEQ ID NO:16	Elemento potenciador 3x (secuencia complementaria de SEQ ID NO:15) gtacttcatacttttcattccaatgggggtgactttgcttctggaggggtgactttgcttctgg agccagtacttcatacttttcattgtacttcatacttttcattccaatgggggtgactttgct tctggag
SEQ ID NO:17	Promotor PPE-1

ES 2 703 913 T3

	<p>gtacgtgacttctgatcggcgatactagggagataaggatgtgcctgacaaaaccacattg ttggtgttatcattattattagttttccttccttgctaactcctgacggaatctttctcac ctcaaatgcgaagtacttttagtttagaaaagacttgggtggaaggggtgggtgggaaaagta gggatgatcttccaaactaatctggttccccgcccgcagtagctgggattcaagagcgaa gagtggggatcgtccccttgtttgatcagaaagacataaaaaggaaaatcaagtgaacaatga tcagccccacctccacccccccccctgcgcgcgcacatacaatctatttaattgtacttc atacttttcattccaatgggggtgactttgcttctggagaaactcttgattcttgaactctgg ggctggcagctagcaaaaggggaagcgggctgctgctctctgcaggttctgcagcggctctc gtctagtgggtgttttcttttcttagccctgccctggattgtcagacggcggcgtctgc ctctgaagttagccgtgatttctctagagccgggtcttatctctggctgcacgttgccctgt ggggtgactaatcacacaataacattgttttagggctggaatgaagtacagagctgtttaccccc actctataggggttcaatataaaaaggcggcggagaactgtccgagtcagaagcgttctctgc accggcgtgagagcctgaccggctgctccgctgtccttgcgcgctgcctccccggctgcc cgcgacgctttcgccccagtggaagggccacttgctgcgccgc</p>
SEQ ID NO:18	<p>Promotor PPE-1-3X</p> <p>gtacgtgacttctgatcggcgatactagggagataaggatgtgcctgacaaaaccacattg ttggtgttatcattattattagttttccttccttgctaactcctgacggaatctttctcac ctcaaatgcgaagtacttttagtttagaaaagacttgggtggaaggggtgggtgggaaaagta gggatgatcttccaaactaatctggttccccgcccgcagtagctgggattcaagagcgaa gagtggggatcgtccccttgtttgatcagaaagacataaaaaggaaaatcaagtgaacaatga tcagccccacctccacccccccccctgcgcgcgcacatacaatctatttaattgtacttc atacttttcattccaatgggggtgactttgcttctggagaaactcttgattcttgaactctgg ggctggcagctagcctccagaagcaaagtcacccccattggaatgaaaagtatgaagtacaat gaaaagtatgaagtactggctccagaagcaaagtcacccctccagaagcaaagtcacccccatt ggaatgaaaagtatgaagtacgctagcaaaaggggaagcgggctgctgctctctgcaggttc tgcagcggctctctgctagtgggtgttttcttttcttagccctgccctggattgtcagac ggccggcgtctgcctctgaagttagccgtgatttctctagagccgggtcttatctctggct gcacgttgccctgtgggtgactaatcacacaataacattgttttagggctggaatgaagtacaga gctgtttacccccactctataggggttcaatataaaaaggcggcggagaactgtccgagtcaga gaagcgttctctgcacccggcgtgagagcctgaccggctgctccgctgtccttgcgcgctg cctccccggctgcccgacgctttcgccccagtggaagggccacttgctgcgccgc</p>
SEQ ID NO:22	ggtgactttg cttctggag
SEQ ID NO:23	ctccagaagcaaagtcacc
SEQ ID NO:24	gtacttcata cttttcatt
SEQ ID NO:25	aatgaaaagtatgaagtac
SEQ ID NO:26	<p>Elemento de respuesta a la hipoxia</p> <p>gcacgt</p>

Un potenciador puede estar unido a un promotor cadena arriba o cadena abajo del promotor, o estar insertado entre los dos nucleótidos en el promotor. El promotor específico de células endoteliales puede utilizar cualquier promotor conocido en la técnica. Por ejemplo, los promotores adecuados que pueden utilizarse incluyen los promotores específicos de células endoteliales preproendotelina-1 (promotor PPE-1; documento US 2010/0282634, publicado el 11 de noviembre de 2010; y documento WO 2011/083464, publicado el 14 de julio de 2011); el promotor PPE-1-3X (patente de EE. UU. n.º 7.579.327, patente de EE. UU. n.º 8.071.740, patente de EE. UU. n.º 8.039.261; documento US2010/0282634; documento US 2007/0286845; documento WO 2011/083464; y documento WO2011/083466); los promotores TIE-1 (S79347, S79346) y TIE-2 (US3603) [Sato T. N., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 15 de octubre de 1993, 90(20); 9355-9658], el promotor de endoglina [Y11653; Rius C., Blood, 15 de diciembre de 1998, 92(12):4677-4690]; el factor de von Willerbrand [AF152417; Collins C. J., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, julio de 1987, 84(13):4393-4397]; el promotor KDR/flk-1 [X89777, X89776; Ronicke V., Circ. Res., agosto de 1996, 79(2):277-85]; el promotor FLT-1 [D64016 AJ224863; Morishita K., J. Biol. Chem., 17 de noviembre de 1995, 270(46):27948-27953]; el promotor Egr-1 [AJ24S926; Sukhatme V. P., Oncogene Res., septiembre-octubre de 1987, 1(4):343-355]; el promotor de E-selectina [Y12462; Collins T., J. Biol. Chem., 5 de febrero de 1991, 266(4):2466-2473]; los promotores de moléculas de adhesión endoteliales: ICAM-1 [X84737; Horley K. J., EMBO J., octubre de 1989, 8(10):2889-2896]; VCAM-1 [M92431; Iademarco M. F., J. Biol. Chem., 15 de agosto de 1992, 267(23):16323-16329]; PECAM-1 [AJ313330 X96849; CD31, Newman P. J., Science, 9 de marzo de 1990, 247(4947):1219-1222]; los elementos específicos del músculo liso vascular: el promotor CArG box X53154 y promotor de proteína similar a carboxipeptidasa aórtica ("aortic carboxypeptidase-like protein", ACLP) [AF332596; Layne M. D., Circ. Res., 2002, 90, 728-736]; y el gen 1 expresado preferentemente aórtico [Yen-Hsu Chen, J. Biol. Chem., vol. 276, número 50, 47658-47663, 14 de diciembre, 2001].

En un caso, un promotor unido al potenciador específico de células endoteliales comprende una secuencia de nucleótidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% de SEQ ID NO:17, en el que el promotor unido al potenciador induce una especificidad de células endoteliales al gen unido operablemente al promotor. En otro caso, un promotor unido al potenciador específico de células endoteliales comprende un fragmento, una variante, un derivado o un análogo de un promotor PPE-1 de tipo salvaje, en el que dicho fragmento, variante, derivado o análogo induce una especificidad de células endoteliales al gen unido operablemente al promotor. En un ejemplo, el potenciador específico de células endoteliales puede insertarse entre los restos nucleotídicos 442 y 449 correspondientes de SEQ ID NO:17.

En otros casos, un promotor específico de células endoteliales comprende un elemento de respuesta a la hipoxia. Un elemento de respuesta a la hipoxia ("hypoxia responsive element", HRE) se localiza sobre la hebra antisentido del promotor de endotelina-1. Este elemento es un sitio de unión del factor 1 inducible por hipoxia que es necesario para la regulación positiva del promotor de endotelina-1 (del gen humano, de rata y murino) por la hipoxia. La hipoxia es una señal potente que induce la expresión de varios genes, que incluyen la eritropoyetina (Epo), VEGF, y diversas enzimas glicolíticas. La secuencia central (8 pares de bases) está conservada en todos los genes que responden a condiciones hipóxicas, y las regiones flanqueantes son diferentes de otros genes. El elemento de respuesta a la hipoxia ET-1 está localizado entre GAT A-2 y los sitios de unión a AP-1. En un ejemplo, un elemento de respuesta a la hipoxia comprende SEQ ID NO:26, o uno de sus fragmentos, variantes, derivados o análogos.

En otros casos, un promotor específico de células endoteliales útil comprende, consiste fundamentalmente o consiste en una secuencia de nucleótidos al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% de SEQ ID NO:18, en el que el promotor unido al potenciador induce una especificidad de células endoteliales al gen unido operablemente al promotor. En otro caso, un promotor específico de células endoteliales comprende un fragmento, una variante, un derivado o un análogo de SEQ ID NO:18, en el que dicho fragmento, variante, derivado o análogo induce una especificidad de células endoteliales al gen unido operablemente al promotor.

Pueden encontrarse otras variaciones de los promotores específicos de células endoteliales en los documentos WO2011/083464, y WO2011/083466.

La presente descripción también proporciona una nueva secuencia de promotor que comprende una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO:17. En un ejemplo, el promotor comprende además un potenciador específico de células endoteliales. En un ejemplo, el potenciador específico de células endoteliales comprende SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26 o cualquiera de sus fragmentos, variantes, derivados o análogos, en el que los fragmentos, variantes, derivados o análogos mejoran la especificidad de células endoteliales del promotor, comparado con un promotor sin el potenciador. En otro ejemplo el promotor comprende una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO:18. La descripción incluye una construcción de ácido nucleico que comprende el nuevo promotor y una secuencia de nucleótidos heteróloga. En un caso, la secuencia de nucleótidos heteróloga comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de quimera-FAS descrita en la presente. En otro caso, la secuencia de nucleótidos heteróloga comprende una secuencia de adenovirus.

C. Vector

La descripción también proporciona un vector que comprende la construcción de ácido nucleico que comprende un gen de quimera-FAS unido operablemente a un promotor específico de células endoteliales. Pueden emplearse numerosos sistemas de vector. Por ejemplo, los diversos sistemas de transporte de genes víricos que pueden usarse en la práctica de este aspecto de la descripción incluyen, pero no se limitan a un vector adenovírico, un vector de alfavirus, un vector de enterovirus, un vector de pestivirus, un vector lentivírico, un vector baculovírico, un vector de herpesvirus, un vector del virus de Epstein Barr, un vector papovavírico, un vector de poxvirus, un vector del virus de vaccinia, un vector de virus adenoasociado y un vector del virus del herpes simplex.

En otro caso, un vector que comprende un gen de quimera-FAS unido operablemente a un promotor específico de células endoteliales es un adenovirus. Por ejemplo, el adenovirus puede ser uno o más de la especie A de adenovirus humano (serotipos 12, 18, y 31), B (serotipos 3, 7, 11, 14, 16, 21, 34, 35, 50, y 55), C (serotipos 1, 2, 5, 6, y 57), D (8, 9, 10, 13, 15, 17, 19, 20, 22-30, 32, 33, 36-39, 42-49, 51, 53, 54, y 56), E (serotipo 4), F (serotipo 40 y 41), o G (serotipo 52). En un caso particular, el adenovirus es el adenovirus humano de serotipo 5. En algunos casos, el adenovirus útil para la terapia génica es un adenovirus no replicante recombinante que no contiene una región E1 ni una región E3. En ciertos casos, el adenovirus es un adenovirus de replicación condicionada que no contiene una región E3, pero sí contiene una región E1.

D. Depósitos biológicos

Los depósitos biológicos se realizaron en the European Collection of Cell Cultures (ECACC) localizado en Health Protection Agency Culture Collections, Health Protection Agency, Microbiology Services, Porton Down, Salisbury, SP4 0JG, Reino Unido, según el Tratado de Budapest y según 37 C.F.R. §1.808. Las muestras de los materiales depositados estarán disponibles al público tras la concesión de una patente.

Cepa	n.º de registro ECACC	Fecha de depósito
VB-111	13021201	12 de febrero de 2013

III. Métodos de tratamiento que emplean adenovirus que expresan una proteína de quimera-FAS

Se describen métodos para emplear una construcción de ácido nucleico que expresa una proteína de quimera-FAS o un adenovirus que comprende la construcción de ácido nucleico. En un aspecto, una construcción de ácido nucleico que expresa una proteína de quimera-FAS o un adenovirus que comprende la construcción de ácido nucleico es útil para reducir o disminuir el tamaño de un tumor o para eliminar un tumor en un sujeto, en el que la proteína de quimera-FAS codificada por la construcción de ácido nucleico reduce o disminuye el tamaño del tumor o frena la tasa de crecimiento del tumor o evita la aparición de nuevas lesiones metastásicas del tumor o elimina el tumor en el sujeto, y en el que el tumor está asociado o se deriva de un cáncer ginecológico femenino o una metástasis de este. Estos efectos pueden evaluarse basándose en ensayos de diagnóstico radiológicos (tales como un barrido de CT) y/o en marcadores tumorales (tales como el nivel en sangre de CA-125). En otro aspecto, una construcción de ácido nucleico que expresa una proteína de quimera-FAS o un adenovirus que comprende la construcción de ácido nucleico es útil para inhibir, disminuir o reducir la neovascularización o la angiogénesis en un tumor, en el que la proteína de quimera-FAS codificada por la construcción de ácido nucleico inhibe, reduce o disminuye la neovascularización o la angiogénesis en el tumor, y en el que el tumor está asociado o se deriva de un cáncer ginecológico femenino o una metástasis de este. En otros aspectos, una construcción de ácido nucleico que expresa una proteína de quimera-FAS o un adenovirus que comprende la construcción de ácido nucleico es capaz de tratar o prevenir un tumor asociado o derivado de un cáncer ginecológico femenino, o una metástasis de este, en un sujeto, en el que la proteína de quimera-FAS codificada por la construcción de ácido nucleico trata o previene el cáncer ginecológico femenino, o una metástasis de este, en el sujeto.

Por tanto, en un aspecto, la descripción proporciona un método para reducir o disminuir el tamaño de un tumor, o una metástasis de este, eliminar un tumor, o una metástasis de este, o frenar el crecimiento de un tumor, o una metástasis de este, en un sujeto, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de una construcción de ácido nucleico que comprende un gen de quimera-Fas unido operablemente a un promotor específico de células endoteliales, o un adenovirus que comprende la construcción de ácido nucleico, en el que un producto del gen de quimera-Fas codificado por la construcción de ácido nucleico reduce o disminuye el tamaño del tumor, o una metástasis de este, o elimina el tumor, o una metástasis de este, en el sujeto, y en el que el tumor, o una metástasis de este, está asociado o se deriva de un cáncer ginecológico femenino. En otro aspecto, la descripción proporciona un método para inhibir, disminuir o reducir la neovascularización o la angiogénesis en un tumor, o una metástasis de este, que comprende administrar a un sujeto que tiene el tumor, o una metástasis de este, una cantidad eficaz de una construcción de ácido nucleico, o un adenovirus que comprende la construcción de ácido nucleico, que comprende un gen de quimera-Fas unido operablemente a un promotor específico de células endoteliales, en el que un producto del gen de quimera-Fas codificado por la construcción de ácido nucleico inhibe, reduce o disminuye la neovascularización o la angiogénesis en el tumor, o una metástasis de este, y en el que el tumor está asociado o se deriva de un cáncer ginecológico femenino. En otros aspectos, la descripción proporciona un método para tratar o prevenir un tumor o una metástasis de este, asociado o derivado con un cáncer ginecológico femenino en un sujeto, que comprende administrar una cantidad eficaz de una construcción de ácido nucleico que comprende un gen de quimera-Fas unido operablemente a un promotor específico de células endoteliales, en el que un producto del gen

de quimera-Fas codificado por la construcción de ácido nucleico trata o previene el cáncer ginecológico femenino en el paciente. En aún otros casos, el tumor del cáncer ginecológico femenino, o una metástasis de este, disminuye en tamaño o se elimina después de la administración. En ciertas realizaciones, el tamaño del tumor, o una metástasis de este, disminuye de modo que el diámetro más largo (LD) del tumor disminuye en al menos aproximadamente 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, o 100%, comparado con el LD antes de la administración. Se describe un método para estabilizar una enfermedad o un trastorno asociado con un cáncer ginecológico femenino. También se describe un método para prevenir o frenar el posterior crecimiento de un tumor asociado con un cáncer ginecológico femenino. Se describe que se reduce el volumen de un fluido peritoneal maligno, por ejemplo, fluido de ascitis, se reduce el dolor del sujeto, se prolonga la supervivencia del sujeto, o cualquiera de sus combinaciones. El adenovirus, cuando se administra al sujeto, puede prolongar la supervivencia global del sujeto. El adenovirus de la invención, cuando se administra al sujeto, puede prolongar la supervivencia sin progresión de la enfermedad del sujeto.

El cáncer ginecológico femenino puede ser cáncer mülleriano, cáncer ovárico, cáncer peritoneal, cáncer de las trompas de Falopio, carcinoma seroso papilar uterino, una metástasis de estos o cualquiera de sus combinaciones. El cáncer ginecológico femenino puede ser cáncer cervical, cáncer endometrial, enfermedad trofoblástica gestacional, cáncer uterino, cáncer vulvar, una metástasis de estos o cualquiera de sus combinaciones. El cáncer ginecológico femenino incluye cualquier crecimiento canceroso que surge de un tejido ginecológico, por ejemplo, útero, ovario, trompa de Falopio, cuello uterino, óvulo, células de apoyo o cualquiera de sus combinaciones. El tumor asociado o que se deriva de un cáncer ginecológico femenino puede seleccionarse del grupo que consiste en tumor estromático-epitelial superficial (adenocarcinoma), cistadenocarcinoma seroso papilar, tumor endometriode, cistadenocarcinoma seroso, tumor papilar, cistadenocarcinoma mucinoso, tumor ovárico de células transparentes, adenocarcinoma mucinoso, cistadenocarcinoma, carcinoma, tumor estromático-cordón sexual, tumor de células germinales, teratoma, disgerminoma, epidermoides (carcinoma de células escamosas), tumor de Brenner, una metástasis de estos o cualquiera de sus combinaciones.

El cáncer mülleriano incluyen un tumor mülleriano mixto maligno, también conocido como tumor mesodérmico mixto maligno, MMMT y carcinosarcoma. El MMMT es un neoplasma maligno que se encuentra en el útero, los ovarios, las trompas de Falopio y otras partes del cuerpo que contienen componentes carcinomatosos (tejido epitelial) y sarcomatosos (tejido conectivo). Se divide en dos tipos, un tipo homólogo (en el que el componente sarcomatoso está formado por tejidos que se encuentran en el útero, tales como tejidos endometriales, fibrosos y/o de músculo liso) y un tipo heterólogo (formado por tejidos que no se encuentran en el útero, tales como cartílago, músculo esquelético y/o hueso). El MMMT es responsable de entre 2 y 5% de todos los tumores derivados del cuerpo del útero, y se encuentra predominantemente en mujeres posmenopáusicas con un promedio de edad de 66 años.

El cáncer ovárico comprende cualquier crecimiento canceroso que surge del ovario. La mayoría (más del 90%) de los cánceres ováricos se clasifican como "epiteliales" y se cree que surgen de la superficie (epitelio) del ovario. Sin embargo, las trompas de Falopio también pueden ser la fuente de algunos cánceres ováricos. Puesto que los ovarios y las trompas están muy relacionados, se cree que estas células de cáncer de las trompas de Falopio pueden imitar al cáncer de ovario. Otros tipos pueden surgir de los óvulos (tumor de células germinales) o de células de apoyo. En algunas realizaciones, el cáncer ovárico es un cáncer secundario, el resultado de una metástasis de un cáncer primario que se encuentra en otro punto del cuerpo. Aproximadamente 7% de los cánceres de ovario son debidos a metástasis, mientras que el resto son cánceres primarios. Los cánceres primarios habituales son el cáncer de mama y el cáncer gastrointestinal.

El cáncer o carcinoma peritoneal también se denomina carcinoma papilar de superficie seroso, carcinoma peritoneal primario, carcinoma seroso extraovárico, carcinoma papilar seroso primario, o psammomacarcinoma. Históricamente ha sido clasificado como "carcinoma de primario desconocido" ("carcinoma of unknown primary", CUP). El cáncer peritoneal primario ("primary peritoneal cancer", PPC o PPCa) es un cáncer de las células que revisten el peritoneo, o la cavidad abdominal. Las características biológicas moleculares e histomorfológicas sugieren que los carcinomas serosos, que incluyen el carcinoma seroso ovárico, carcinoma seroso uterino, carcinoma seroso de las trompas de Falopio, carcinoma seroso cervical, y carcinoma seroso peritoneal primario, en realidad representan una sola entidad.

El cáncer de las trompas de Falopio primario ("primary fallopian tube cancer", PFTC), a menudo denominado simplemente como cáncer de trompas, es un neoplasma maligno que se origina en las trompas de Falopio. Se cree que el cáncer de trompas es un cáncer primario relativamente poco frecuente en mujeres, que representa del 1 al 2% de todos los cánceres ginecológicos.

El carcinoma seroso uterino ("uterine serous carcinoma", USC), también denominado carcinoma seroso papilar uterino ("uterine papillary serous carcinoma", UPSC) y adenocarcinoma seroso uterino, es una forma poco frecuente de cáncer endometrial que generalmente surge en mujeres posmenopáusicas. Se diagnostica generalmente tras una biopsia endometrial, realizada debido a un sangrado posmenopáusico. A diferencia del adenocarcinoma endometrial endometriode de grado bajo, más habitual, el USC no se desarrolla a partir de una hiperplasia endometrial y no es sensible a hormonas. Surge en el escenario de una atrofia endometrial y se clasifica como cáncer endometrial de tipo II.

El término “sujeto” o “individuo” o “animal” o “paciente” o “mamífero” significa cualquier sujeto, en particular un sujeto mamífero, que tiene o que se espera que desarrolle al menos un tumor asociado o derivado de cáncer peritoneal o cáncer ginecológico femenino. En un caso, el sujeto es un ser humano. En otro caso, el sujeto es un paciente con cáncer.

5 El sujeto puede ser un sujeto que ha recibido una terapia basada en platino previa. Esta terapia basada en platino previa incluye, pero no se limita a cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, nedaplatino, satraplatino, picoplatino, tetranitrato de triplatino, o aroplatino. Los agentes antineoplásicos basados en el platino provocan el entrecruzamiento del ADN para formar un monoadducto, entrecruzamientos intercatenarios, entrecruzamientos intracatenarios o entrecruzamientos de proteínas y ADN. Casi siempre actúan en la posición N-7 adyacente de la
 10 guanina, formando un entrecruzamiento intracatenario 1, 2. El entrecruzamiento resultante inhibe la reparación del ADN y/o la síntesis de ADN en las células del cáncer. Los agentes antineoplásicos basados en el platino a veces se describen como “similares a agentes alquilantes” debido a que tienen unos efectos similares a los agentes antineoplásicos alquilantes, aunque no tienen un grupo alquilo. En ciertos casos, la terapia basada en platino previa es una terapia que emplea cisplatino, también denominado cis-diaminodicloroplatino(II) (CDDP) (nombre comercial
 15 Cisplatin, nombre de marca Platin, comercializado por Cadila Healthcare según el Libro Naranja de la FDA). El cisplatino se administra por vía intravenosa como una infusión a corto plazo en disolución salina normal para el tratamiento de malignidades sólidas. Se emplea para tratar diversos tipos de cánceres, que incluyen sarcomas, algunos carcinomas (por ejemplo, cáncer pulmonar microcítico, cáncer ovárico), linfomas y tumores de células germinales.

20 El sujeto puede haber recibido una terapia basada en taxano previa. Los taxanos son diterpenos producidos por las plantas del género *Taxus* (tejos), y se emplean mucho como agentes quimioterapéuticos. En la actualidad, el taxano puede sintetizarse de modo artificial. Los agentes de taxano incluyen, pero no se limitan a paclitaxel (TAXOL®) y docetaxel (TAXOTERE®).

25 En un aspecto, el taxano puede condensarse o unirse a un resto heterólogo. Este resto heterólogo puede mejorar la solubilidad de la formulación de taxano o reducir la toxicidad del taxano. Por ejemplo, el taxano puede condensarse o unirse a la albúmina: el paclitaxel unido a albúmina (ABRAXANE®, también denominado nab-paclitaxel) es una formulación alternativa en la que el paclitaxel está unido a nanopartículas de albúmina.

Las estrategias sintéticas para la producción de paclitaxel han conducido al desarrollo de docetaxel. El docetaxel presenta un conjunto de usos clínicos similar al paclitaxel y se comercializa con el nombre de TAXOTERE®.

30 En otro aspecto, el taxano incluye, pero no se limita a paclitaxel, 10-desacetilbacatina III, bacatina III, paclitaxel C, y 7-epipaclitaxel en las cáscaras y hojas de plantas de avellano.

En otros casos, el sujeto ha recibido hasta tres, hasta dos o hasta una línea previa de quimioterapia. La línea previa de quimioterapia puede ser una terapia basada en platino o una terapia basada en taxano. En aún otros casos, el sujeto no ha recibido más de 3 líneas previas de quimioterapia para un cáncer recurrente.

35 En ciertos casos, el sujeto es un paciente que padece un cáncer resistente al platino recurrente o una enfermedad refractaria al platino. En algunos casos, el sujeto es un paciente que padece un cáncer resistente al taxano recurrente. En un aspecto, el cáncer resistente al platino recurrente o el cáncer resistente al taxano recurrente presenta un tumor progresivo durante el tratamiento con platino o taxano, dentro de aproximadamente un mes, dentro de aproximadamente dos meses, dentro de aproximadamente tres meses, en aproximadamente cuatro
 40 meses, en aproximadamente cinco meses, en aproximadamente seis meses, en aproximadamente siete meses, en aproximadamente ocho meses, en aproximadamente nueve meses, en aproximadamente diez meses, en aproximadamente 11 meses, en aproximadamente 12 meses de completar o recibir una terapia basada en platino o una terapia basada en taxano. En un caso particular, el cáncer resistente al platino recurrente o el cáncer resistente al taxano recurrente presenta un tumor progresivo dentro de aproximadamente seis meses después de completar o
 45 recibir una terapia basada en platino o una terapia basada en taxano. El cáncer resistente al platino recurrente o el cáncer resistente al taxano recurrente puede determinarse mediante el criterio de evaluación de la respuesta en tumores sólidos (“Response Evaluation Criteria In Solid Tumors”, RECIST), la medición de uno o más marcadores tumorales, por ejemplo, CA-125, un examen físico, una reevaluación o laparotomía de segunda opinión y/o uno o más estudios de formación de imágenes (por ejemplo, rayos X, CT o MRI).

50 RECIST es un conjunto de reglas publicadas que definen cuándo los pacientes con cáncer mejoran (“responden”), siguen igual (“estables”) o empeoran (“progresión”) durante tratamientos. Los criterios originales se publicaron en febrero de 2000 a través de una colaboración internacional que incluía the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC), National Cancer Institute (NCI) de EE. UU. y the National Cancer Institute of Canada
 55 Clinical Trials Group. RECIST 1.1, publicado en enero de 2009, es una actualización de los criterios originales. La mayoría de los ensayos clínicos que evalúan los tratamientos para el cáncer para determinar la respuesta objetiva en tumores sólidos emplean RECIST.

En algunos casos, un sujeto puede mostrar un marcador tumoral, por ejemplo, CA-125. En un aspecto, el nivel de expresión de CA-125 en el sujeto se reduce en al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 20%,

5 al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 58%, al menos aproximadamente 55%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 65%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, o al menos aproximadamente 100% después de la administración, comparado con el nivel de CA-125 antes de la administración.

En algunos casos, un sujeto ha recibido solo un tratamiento basado en el platino para una enfermedad sensible al platino recurrente con un posterior intervalo sin platino menor de seis meses.

10 En otros casos, un sujeto presenta un estado de actuación de Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de 0-1. ECOG es una escala o criterio empleado para evaluar la progresión de la enfermedad de un paciente, los efectos de la enfermedad en el día a día del paciente, y la determinación del tratamiento apropiado y la prognosis. La tabla muestra el estado de actuación de ECOG.

Tabla 4 - Estado de actuación de ECOG*

Grado	ECOG
0	Totalmente activo, capaz de realizar todas las actuaciones que realizaba antes de la enfermedad sin restricción.
1	Limitado en actividades físicamente intensas pero ambulatorio, y capaz de realizar tareas de naturaleza suave o sedentaria, por ejemplo, trabajo suave en el hogar, trabajo de oficina.
2	Ambulatorio y capaz de valerse por sí mismo, pero incapaz de realizar ninguna actividad laboral. No acostado y moviéndose más de 50% de las horas en que está despierto.
3	Capaz de valerse por sí mismo de manera limitada, confinado a la cama o sentado durante más de 50% de las horas en que está despierto.
4	Completamente discapacitado. No puede valerse por sí mismo. Totalmente confinado a la cama o sentado.
5	Muerto.

15 *Publicado en Am. J. Clin. Oncol., Oken, M. M., Creech, R. H., Tormey, D. C., Horton, J., Davis, T. E., McFadden, E. T., Carbone, P. P., Toxicity And Response Criteria Of The Eastern Cooperative Oncology Group, Am. J. Clin. Oncol., 5: 649-655, 1982.

20 En algunos casos, un sujeto presenta una función de la médula ósea comparable a un sujeto sin cáncer. Las funciones de la médula ósea comparables a un sujeto sin cáncer incluyen, pero no se limitan a su papel como el principal órgano hematopoyético y un tejido linfoide primario, y ser responsable de la producción de células sanguíneas, por ejemplo, eritrocitos, granulocitos, monocitos, linfocitos y plaquetas. Una descripción detallada de la estructura y la función de la médula ósea aparece en Jain, C., 1986b, *Schalm's Veterinary Hematology*, The hematopoietic system (Lea y Febiger, Filadelfia, Pa.), 4, pp. 350-387; Weiss y Geduldig, 1991, *Blood* 78:975-90; Wickramasinghe, 1992, en *Histology for Pathologists, Bone marrow*, ed. Sternberg S.S. (Raven Press, Nueva York), pp. 1-31; Picker y Siegelman, 1999, en *Fundamental Immunology*, Lymphoid tissues and organs, ed. Paul W. E. (Lippincott-Raven, Filadelfia, Pa.), 4, pp. 479-531; Hoffman et al., 2000, *Hematology Basic Principles and Practice* (Churchill Livingstone, Nueva York), 3; Abboud y Lichtman, 2001, en *Williams' Hematology*, Structure of the marrow and the hematopoietic microenvironment, eds. Beutler E., Lichtman M. A., Collier B. S., Kipps T. J., Seligsohn U. (McGraw-Hill, Nueva York), 6, pp. 29-58.

25 En otros casos, un sujeto presenta una función hematológica comparable a un sujeto sin cáncer, en el que el indicador de la función hematológica se selecciona del grupo que consiste en:

- 30 a. El recuento de neutrófilos absoluto ("Absolute Neutrophil Count", ANC) es igual o mayor que 1.000/mm³;
- b. El recuento de plaquetas (PLT) es igual o mayor que 100.000/mm³;
- c. El tiempo de protrombina ("prothrombin time", PT) es menor que 1,2×límite superior del normal ("Upper Limit of Normal", ULN) segundos;
- 35 d. El tiempo de tromboplastina ("thromboplastin time", PTT) es menor que 1,2×ULN segundos, en el que si PTT es mayor que ULN, el paciente presenta un anticoagulante de lupus ("lupus anti-coagulant", LAC) negativo; y
- e. cualquiera de sus combinaciones.

En otros casos, un sujeto presenta una función de órganos comparable a un sujeto sin cáncer, en el que la función de órganos se analiza empleando criterios de toxicidad habituales seleccionados del grupo que consiste en:

- a. Neuropatía menor o igual al criterio de toxicidad común (CTC) de grado 1;
- b. No más del 30% de las áreas que contienen la parte principal de la médula ósea (por ejemplo, pelvis o espina lumbar) han recibido radiación previa;
- 5 c. Menos de 2,5×límite superior al normal (ULN) o menos de 5×ULN de transaminasa oxaloacética glutámica en suero ("serum glutamic oxaloacetic transaminase", SGOT), transaminasa pirúvica glutámica en suero ("serum glutamic pyruvic transaminase", SGPT), o fosfatasa alcalina;
- d. Nivel de bilirrubina menor o igual a 1,5×ULN;
- e. Nivel de creatinina menor o igual a 1,5×ULN;
- 10 f. Menos de 2+ mediante varilla graduada de proteinuria en la selección o menos de 1,0 de proporción de proteína creatinina urinaria; y
- g. cualquiera de sus combinaciones.

En aún otros casos, un sujeto se ha recuperado de una toxicidad aguda que es consecuencia de un tratamiento previo, por ejemplo, cualquier quimioterapia, radioterapia o terapia biológica. Sin embargo, el sujeto puede necesitar recuperarse de una neuropatía de grado 1, una anemia de cualquier grado, o de alopecia.

- 15 En ciertos casos, un sujeto ha recibido un agente antiangiogénico previo. En algunos casos, el sujeto no presenta ninguna perforación gastrointestinal (GI) previa, obstrucción GI o implicación del intestino en estudios de formación de imágenes. En aún otros casos, el sujeto no presenta una enfermedad psiquiátrica no tratada activa ni síntomas neurológicos que requieran tratamiento (se permite una neuropatía sensorial de grado 1), no presenta metástasis cerebrales o del sistema nervioso central sin tratar, no presente demencia ni un estado mental significativamente
- 20 alterado que evite la comprensión y/o otorgar un consentimiento informado, no presenta ninguna hipersensibilidad conocida a Cremophor EL, no presenta pruebas de infecciones bacterianas, víricas o fúngicas no controladas, o cualquiera de sus combinaciones. En aún otros casos, el sujeto es adecuado si el sujeto ha presentado una reacción previa al paclitaxel, pero después toleró el fármaco cuando se le volvió a suministrar.

- 25 Un sujeto adecuado puede identificarse mediante la medición de un biomarcador en plasma o un biomarcador de la superficie celular para una terapia antiangiogénica. En un caso, un sujeto adecuado muestra un biomarcador en plasma que incluye, pero no se limita al factor de crecimiento endotelial vascular ("vascular endothelial growth factor", VEGF), la proteína de biosíntesis de fosfatidilinositol-glucano de clase F ("phosphatidylinositol-glycan biosynthesis class F protein", PIGF), el receptor 1 del factor de crecimiento endotelial vascular soluble ("soluble vascular endothelial growth factor receptor-1", sVEGFR-1), sVEGFR-2, sVEGFR-3, el factor de crecimiento de fibroblastos básico ("basic fibroblast growth factor", bFGF), la interleuquina-1 β (IL-1 β), la interleuquina-6 (IL-6), la interleuquina-8 (IL-8), el factor de necrosis tumoral- α ("tumor necrosis factor- α ", TNF- α), el factor de Von Willebrand ("Von Willebrand Factor", vWF), el c-kit soluble (c-kit), el factor 1 α derivado estromático ("stromal derived factor 1 α ", SDF1 α), la alfa-fetoproteína (AFP), y cualquiera de sus combinaciones. En otro caso, un sujeto adecuado presenta
- 30 un biomarcador de la superficie celular que incluye, pero no se limita a CD31, CD34, CD45, CD133, el receptor 1 del factor de crecimiento endotelial vascular soluble (VEGFR-1), VEGFR-2, o cualquiera de sus combinaciones.

Se sabe que la presencia o la formación de anticuerpos neutralizantes puede dificultar la transferencia eficaz de genes tras la segunda administración del virus. En un caso, un sujeto no presenta una respuesta de anticuerpos preexistente contra adenovirus. En otro caso, un sujeto no desarrolla una respuesta de anticuerpos contra adenovirus tras la administración del adenovirus.

- 40 En algunos aspectos de la descripción, un sujeto no muestra anticoagulante de lupus ("lupus anticoagulant", LAC, también denominado anticuerpo de lupus, LA, o inhibidor de lupus). La presencia de LAC puede determinar mediante cualquier método conocido, por ejemplo, midiendo el LAC mediante un ensayo de LAC o un ensayo de APLA. El LAC es una inmunoglobulina que se une a fosfolípidos y proteínas asociadas con la membrana celular (Joussen, J., *et al.*, en *Documenta Ophthalmologica*, 2008, volumen 117, n.º 3, pp. 263-265, Retinal Vascular Disease, S. J. Ryan (eds.), Springer, 2007, 780 p, 1040, ISBN: 978-3-540-29541-9). El LAC es un agente protrombótico, es decir, la presencia de anticuerpos de LAC precipita la formación de trombos *in vivo*. La presencia de estos anticuerpos en ensayos de laboratorio provoca un aumento en aPTT. Se especula que la presencia de anticuerpos interfiere con los fosfolípidos utilizados para inducir la coagulación *in vitro*. Se cree que interacciona con los fosfolípidos de la membrana de plaquetas *in vivo*, aumentando la adhesión y la agregación de las plaquetas y,
- 50 así, sus características protrombóticas *in vivo*. Por tanto, LAC actúa como agente de coagulación *in vivo*.

IV. Población homogénea de adenovirus que expresan la quimera-FAS

- La presente descripción también proporciona una población homogénea de un adenovirus que comprende SEQ ID NO:19 o de un adenovirus que tiene el n.º de registro de depósito ECACC 13021201. El término "homogéneo", tal como se emplea en la presente, se refiere a una única población de un adenovirus sin contaminación de adenovirus heterólogos que tengan secuencias diferentes. Los ejemplos de adenovirus heterólogos incluyen, pero no se limitan
- 55

al adenovirus que comprende una secuencia de nucleótidos que comprende SEQ ID NO:20 o SEQ ID NO:21.

El adenovirus que comprende una secuencia de nucleótidos que comprende SEQ ID NO:20 y el adenovirus que comprende una secuencia de nucleótidos que comprende SEQ ID NO:21 han sido descritos previamente en las solicitudes internacionales n.ºs PCT/IL2011/00007 y PCT/IL2011/00009, publicadas el 14 de julio de 2011 como documentos WO2011/083464 y WO2011/083466, respectivamente.

La presente invención proporciona un adenovirus que comprende SEQ ID NO:19 (35.207 pb), que incluye dos restos nucleótidos diferentes de SEQ ID NO:20 (35203 pb) y SEQ ID NO:21. Los dos desapareamientos (concretamente, guanina→adenina) en SEQ ID NO:20 y SEQ ID NO:21 se encuentran en los restos nucleótidos 501 y 1255. Además, SEQ ID NO:19 contiene cuatro pares de bases extra en el extremo 3'. Además, SEQ ID NO:21 contiene un aminoácido que codifica una región E1 extra.

La SEQ ID NO:19 comprende una secuencia de nucleótidos de un promotor específico de células endoteliales (concretamente, el promotor PPE-1-3x) en los restos nucleótidos 458 a 1444 que corresponden a SEQ ID NO:18, y una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de quimera-FAS en los restos nucleótidos 1469 a 2569 que corresponden a SEQ ID NO:9.

Se describe una composición que comprende un adenovirus que comprende un gen de quimera-FAS unido operablemente a un promotor específico de células endoteliales, en la que el adenovirus no contiene SEQ ID NO:20 y no contiene SEQ ID NO:21. También se describe una composición que comprende un adenovirus que comprende SEQ ID NO:19 o un adenovirus que tiene el n.º de registro de depósito ECACC 13021201, en la que la composición no contiene un adenovirus que comprende SEQ ID NO:20 y no contiene un adenovirus que comprende SEQ ID NO:21.

Una composición puede comprender un adenovirus que comprende los restos nucleótidos 458 a 2569 de SEQ ID NO:19, en la que la composición no comprende un adenovirus que comprende los restos nucleótidos 458 a 2569 de SEQ ID NO:20 o SEQ ID NO:21.

Una composición puede comprender un adenovirus que comprende una secuencia de ácido nucleico al menos 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% idéntica a SEQ ID NO:19, en la que la secuencia de ácido nucleico no es SEQ ID NO:20 y no es SEQ ID NO:21, y en la que la composición no contiene un adenovirus que comprende SEQ ID NO:20 y no contiene un adenovirus que comprende SEQ ID NO:21.

Se describe una composición que comprende un adenovirus que comprende SEQ ID NO:19 o un adenovirus que tiene el n.º de registro de depósito ECACC 13021201, en la que el adenovirus es al menos aproximadamente 51% puro, al menos 55% puro, al menos aproximadamente 60% puro, al menos aproximadamente 70% puro, al menos aproximadamente 80% puro, al menos aproximadamente 90% puro, al menos aproximadamente 95% puro, al menos aproximadamente 96% puro, al menos aproximadamente 97% puro, al menos aproximadamente 98% puro, al menos aproximadamente 99% puro, o aproximadamente 100% puro. El término "puro", tal como se emplea en la presente, significa un grado de homogeneidad, es decir, sin adenovirus heterólogos. Por ejemplo, una composición aproximadamente 51% pura que comprende un adenovirus que comprende SEQ ID NO:19 contiene aproximadamente 51% del adenovirus que comprende SEQ ID NO:19 y aproximadamente 49% de un adenovirus que comprende una secuencia heteróloga, por ejemplo, SEQ ID NO:20 o SEQ ID NO:21. La composición puede contener otros ingredientes que incluyen, pero no se limitan a un vehículo, excipiente o agente modificador farmacéuticamente aceptables o cualquier ingrediente necesario para la formulación.

Se describe un método para aislar o purificar una población homogénea de la construcción de ácido nucleico. También se describe un método para retirar poblaciones heterólogas de adenovirus, por ejemplo, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, o ambas, de una composición que comprende un adenovirus que comprende SEQ ID NO:19 o una construcción de ácido nucleico que tiene el n.º de registro de depósito ECACC 13021201

También se describe un método para reducir o disminuir el tamaño de un tumor o para frenar la tasa de crecimiento de un tumor eliminando un tumor en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una población homogénea del adenovirus o una composición que comprende la población homogénea del adenovirus. Se describe un método para inhibir, disminuir o reducir la angiogénesis o la neovascularización en un tumor, que comprende administrar al sujeto que tiene el tumor una cantidad eficaz de una población homogénea del adenovirus o una composición que comprende la población homogénea del adenovirus. Además, la descripción incluye un método para tratar o prevenir un tumor asociado o derivado de un cáncer en un sujeto, que comprende administrar una cantidad eficaz de una población homogénea del adenovirus o una composición que comprende la población homogénea del adenovirus.

La descripción también incluye un método para reducir o disminuir el tamaño de un tumor o para frenar la tasa de crecimiento de un tumor eliminando un tumor en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una población homogénea del adenovirus o una composición que comprende la población homogénea del adenovirus de manera repetida, sin administrar una población heterogénea de un adenovirus que comprende SEQ ID NO:20 o SEQ ID NO:21 o una composición que comprende la población heterogénea del adenovirus. También se incluye un método para inhibir, disminuir o reducir la angiogénesis o la neovascularización en un tumor, que

- comprende administrar a un sujeto que tiene un tumor una cantidad eficaz de una población homogénea del adenovirus o una composición que comprende la población homogénea del adenovirus de manera repetida, sin administrar una población heterogénea del adenovirus que comprende SEQ ID NO:20 o SEQ ID NO:21 o una composición que comprende la población heterogénea del adenovirus. Además, la descripción incluye un método para tratar o prevenir un tumor asociado o derivado de un cáncer en un sujeto, que comprende administrar una cantidad eficaz de la población homogénea del adenovirus o una composición que comprende la población homogénea del adenovirus de manera repetida, sin administrar una población heterogénea del adenovirus que comprende SEQ ID NO:20 o SEQ ID NO:21 o una composición que comprende la población heterogénea del adenovirus.
- El tumor que puede reducirse, inhibirse o tratarse con la población homogénea del adenovirus o la composición puede ser un tumor sólido, un tumor primario o un tumor metastásico. El término “metastásico” o “metástasis” se refiere a células tumorales que son capaces de establecer lesiones de tumores secundarios en otras partes u otros órganos.
- En otros casos, la población homogénea, cuando se administra a un sujeto que lo necesita, prolonga la supervivencia global del sujeto. En otros casos, la población homogénea, cuando se administra a un sujeto que lo necesita, prolonga la supervivencia sin progresión de la enfermedad del sujeto.
- Un “tumor sólido” incluye, pero no se limita a sarcoma, melanoma, carcinoma, u otro cáncer de tumor sólido. Un “sarcoma” se refiere a un tumor que está formado por una sustancia, tal como tejido conectivo embrionario, y en general está compuesto de células muy compactadas dentro de una sustancia fibrilar u homogénea. Los sarcomas incluyen, pero no se limitan a condrosarcoma, fibrosarcoma, linfosarcoma, melanosarcoma, mixosarcoma, osteosarcoma, sarcoma de Abemethy, sarcoma adiposo, liposarcoma, sarcoma de partes blandas alveolares, sarcoma ameloblástico, sarcoma botrioides, sarcoma cloroma, coriocarcinoma, sarcoma embrionario, sarcoma de tumor de Wilms, sarcoma endometrial, sarcoma estromático, sarcoma de Ewing, sarcoma fascial, sarcoma fibroblástico, sarcoma de células gigantes, sarcoma granulocítico, sarcoma de Hodgkin, sarcoma hemorrágico pigmentado múltiple idiopático, sarcoma inmunoblástico de células B, linfoma, sarcoma inmunoblástico de células T, sarcoma de Jensen, sarcoma de Kaposi, sarcoma de células de Kupffer, angiosarcoma, leucosarcoma, sarcoma mesenquimoma maligno, sarcoma parosteal, sarcoma reticulocítico, sarcoma de Rous, sarcoma seroquístico, sarcoma sinovial, y sarcoma telangiectático.
- El término “melanoma” se refiere a un tumor se surge del sistema de melanocitos de la piel y otros órganos. Los melanomas incluyen, por ejemplo, melanoma lentiginoso acral, melanoma amelanótico, melanoma juvenil benigno, melanoma de Cloudman, melanoma S91, melanoma de Harding-Passey, melanoma juvenil, melanoma maligno de lentigo, melanoma maligno, melanoma metastásico, melanoma nodular, melanoma subungal, y melanoma de propagación superficial.
- El término “carcinoma” se refiere a un crecimiento nuevo maligno formado por células epiteliales propensas a infiltrarse en los tejidos circundantes y producir metástasis. Los ejemplos de carcinomas incluyen, por ejemplo, carcinoma acinar, carcinoma acinoso, carcinoma adenoquístico, carcinoma quístico adenoides, carcinoma adenomatoso, carcinoma de córtex adrenal, carcinoma alveolar, carcinoma de células alveolares, carcinoma de células basales, carcinoma basocelular, carcinoma basaloide, carcinoma de células basoescamosas, carcinoma bronquioalveolar, carcinoma bronquiolar, carcinoma broncogénico, carcinoma cerebriforme, carcinoma colangiocelular, carcinoma coriónico, carcinoma coloide, comedocarcinoma, carcinoma de corpus, carcinoma cribriforme, carcinoma en coraza, carcinoma cutáneo, carcinoma cilíndrico, carcinoma de células cilíndricas, carcinoma ductal, carcinoma duro, carcinoma embrionario, carcinoma encefaloide, carcinoma epiermoide, carcinoma epitelial adenoide, carcinoma exofítico, carcinoma de úlcera, carcinoma fibroso, carcinoma gelatiniforme, carcinoma gelatinoso, carcinoma de células gigantes, carcinoma gigantocelular, carcinoma glandular, carcinoma de células granulosas, carcinoma de la matriz capilar, carcinoma hematoide, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células de Hurthle, carcinoma hialino, carcinoma hipemefroide, carcinoma embrionario infantil, carcinoma in situ, carcinoma intraepidérmico, carcinoma intraepitelial, carcinoma de Krompecher, carcinoma de células de Kulchitzky, carcinoma de células grandes, carcinoma lenticular, carcinoma lenticulare, carcinoma lipomatoso, carcinoma linfoepitelial, carcinoma medullare, carcinoma medular, carcinoma melanótico, carcinoma blando, carcinoma mucinoso, carcinoma mucoso, carcinoma mucocelular, carcinoma mucoepidermoide, carcinoma mucosum, carcinoma mucoso, carcinoma mixomatodes, carcinoma nasofaríngeo, carcinoma de células en grano de avena, carcinoma ossificans, carcinoma osteoide, carcinoma papilar, carcinoma periportal, carcinoma preinvasivo, carcinoma de células espinosas, carcinoma pultáceo, carcinoma de células renales del riñón, carcinoma de células de reserva, carcinoma sarcomatoide, carcinoma schneideriano, carcinoma escirro, carcinoma del escroto, carcinoma de células en anillo de sello, carcinoma simple, carcinoma de células pequeñas, carcinoma solanoide, carcinoma de células esféricas, carcinoma de células en huso, carcinoma esponjoso, carcinoma escamoso, carcinoma de células escamosas, carcinoma de cuerda, carcinoma telangiectático, carcinoma telangiectioide, carcinoma de células de transición, carcinoma tuberosum, carcinoma tuberoso, carcinoma verrugoso, y carcinoma vellosos.
- Otros cánceres que pueden inhibirse o tratarse incluyen, por ejemplo, leucemia, enfermedad de Hodgkin, linfoma no hodgkiniano, mieloma múltiple, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer ovárico, cáncer de pulmón, rhabdiosarcoma, trombocitosis primaria, macroglobulinemia primaria, tumores de pulmón microcíticos, tumores

5 cerebrales primarios, cáncer de estómago, cáncer de colon, insulanooma pancreático maligno, carcinoide maligno, cáncer de la vejiga urinaria, lesiones de la piel premalignas, cáncer testicular, linfomas, cáncer de tiroides, cáncer de tiroides papilar, neuroblastoma, cáncer neuroendocrino, cáncer esofágico, cáncer del tracto genitourinario, hipercalcemia maligna, cáncer cervical, cáncer endometrial, cáncer cortical adrenal, cáncer de próstata, cáncer mülleriano, cáncer ovárico, cáncer peritoneal, cáncer de las trompas de Falopio, o carcinoma seroso papilar uterino.

V. Composiciones farmacéuticas

10 También se describe una composición farmacéutica que comprende una construcción de ácido nucleico que expresa una proteína de quimera-FAS empleada en los métodos de la descripción, un adenovirus que comprende la construcción de ácido nucleico, o una población homogénea del adenovirus. La composición farmacéutica puede formularse para la administración a mamíferos, incluyendo seres humanos. Las composiciones farmacéuticas usadas en los métodos de esta descripción comprenden vehículos farmacéuticamente aceptables que incluyen, por ejemplo, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas, tales como la albúmina de suero humana, sustancias tamponantes, tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, bifosfato de disodio, bifosfato de potasio, cloruro de sodio, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias a base de celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa sodio, poliácridatos, ceras, polímeros en bloque de polietileno-polioxipropileno, polietilenglicol y lanolina. En un ejemplo, la composición se formula añadiendo disolución salina.

20 Las composiciones pueden administrarse mediante cualquier método adecuado, por ejemplo, por vía parenteral (que incluye, por ejemplo, técnicas de infusión o inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal), intraventricular, oral, mediante un pulverizado para inhalación, tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o mediante un depósito implantado. Tal como se describió previamente, la composición comprende una construcción de ácido nucleico que comprende un gen de quimera-FAS o la población homogénea del adenovirus que expresa el producto del gen de quimera-FAS en una célula endotelial y, con ello, induce la apoptosis de la célula endotelial. Por consiguiente, la composición puede inhibir, reducir o disminuir el tamaño de un tumor, o una metástasis de este, mediante la inhibición de la neovascularización y/o la angiogénesis de las células endoteliales tumorales. Por tanto, la composición puede administrarse de modo sistémico o local. Para la administración sistémica o local, la formulación farmacéutica que contiene la construcción de ácido nucleico, el adenovirus, o la población homogénea del adenovirus puede utilizar un dispositivo mecánico, tal como una aguja, una cánula o instrumentos quirúrgicos.

35 Las formas inyectables estériles de las composiciones usadas en los métodos pueden ser suspensiones acuosas u oleaginosas. Estas suspensiones pueden formularse según técnicas conocidas en la técnica empleando agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes suspensores. La preparación inyectable estéril también puede ser una disolución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo, como una suspensión en 1,3-butandiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran el agua, la disolución de Ringer y la disolución de cloruro de sodio isotónica. Además, de modo convencional se emplean aceites no volátiles estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite no volátil suave, que incluye mono- o diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, tales como el ácido oleico y sus derivados de glicérido, son útiles para la preparación de inyectables, así como los aceites farmacéuticamente aceptables naturales, tales como el aceite de oliva o el aceite de ricino, en especial en sus versiones polioxietiladas. Estas disoluciones o suspensiones oleosas también pueden contener un dispersante o diluyente de alcohol de cadena larga, tal como carboximetilcelulosa o agentes dispersantes similares, que se emplean de modo habitual en la formulación de formas de dosificación farmacéuticamente aceptables, que incluyen emulsiones y suspensiones. Otros tensioactivos que se emplean habitualmente, tales como Tween, Span y otros agentes emulgentes o potenciadores de la biodisponibilidad que se usan habitualmente para la fabricación de formas de dosificación farmacéuticamente aceptable sólidas, líquidas o de otra forma, también pueden usarse para la formulación.

50 Las formulaciones parenterales pueden ser una única dosis en embolada, una infusión o una dosis en embolada de carga, seguida de una dosis de mantenimiento. Estas composiciones pueden administrarse en intervalos fijados o variables específicos, por ejemplo, una vez diaria, o "según sea necesario".

55 Ciertas composiciones farmacéuticas usadas en los métodos pueden ser administradas por vía oral en una forma de dosificación aceptable que incluye, por ejemplo, cápsulas, comprimidos, suspensiones o disoluciones acuosas. Ciertas composiciones farmacéuticas también pueden administrarse mediante inhalación o aerosol nasal. Estas composiciones pueden prepararse como disoluciones en disolución salina, empleando alcohol bencílico u otro conservante adecuado, promotores de la absorción para potenciar la biodisponibilidad y/u otros agentes dispersantes o solubilizantes convencionales.

60 La cantidad de una construcción de ácido nucleico que expresa una proteína de quimera-FAS, un adenovirus que comprende la construcción de ácido nucleico, o una población homogénea del adenovirus que puede combinarse con los materiales vehículo para producir una única forma de dosificación variará dependiendo del hospedante tratado, el tipo de polipéptido usado y la vía de administración concreta. La composición puede administrarse como

una dosis única, como múltiples dosis o a lo largo de un periodo de tiempo establecido en una infusión. Los regímenes de dosificación también pueden ajustarse para proporcionar la respuesta óptima deseada (por ejemplo, una respuesta terapéutica o profiláctica).

5 Una composición que comprende una construcción de ácido nucleico que expresa una proteína de quimera-FAS, un adenovirus, o una población homogénea del adenovirus puede infundirse en el día 1 (es decir, la primera dosis) y ser seguida de una o más dosis posteriores, por ejemplo, un ciclo semanal, un ciclo de dos semanas, un ciclo de tres semanas, un ciclo de cuatro semanas, un ciclo de cinco semanas, un ciclo de seis semanas, un ciclo de siete semanas, un ciclo de ocho semanas, un ciclo de nueve semanas, un ciclo de diez semanas, un ciclo de 11 semanas o un ciclo de 12 semanas. En otro caso, una composición que comprende una construcción de ácido nucleico que
10 expresa una proteína de quimera-FAS, un adenovirus, o una población homogénea del adenovirus se infunde en el día 1 (es decir, la primera dosis) y es seguida de una o más dosis posteriores, por ejemplo, un ciclo de dos semanas, un ciclo de mes, un ciclo de dos meses, un ciclo de tres meses, un ciclo de cuatro meses, un ciclo de cinco meses o un ciclo de seis meses.

15 Los métodos usan una "cantidad eficaz" o una "cantidad terapéuticamente eficaz" de una composición que comprende una construcción de ácido nucleico que expresa una proteína de quimera-FAS, un adenovirus que comprende la construcción de ácido nucleico, o una población homogénea del adenovirus. Esta cantidad eficaz o cantidad terapéuticamente eficaz puede variar según factores, tales como el estado de enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo. Una cantidad eficaz o una cantidad terapéuticamente eficaz también puede ser una cantidad en la que los efectos terapéuticamente beneficiosos superan a cualquier efecto tóxico o perjudicial.

20 Una dosificación y régimen de tratamiento específicos para cualquier paciente concreto dependerá de una diversidad de factores, que incluyen la composición concreta utilizada, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del paciente, y el momento de la administración, la velocidad de excreción, la combinación de fármacos, y la gravedad de la enfermedad concreta que se está tratando. La consideración de estos factores por los médicos está dentro de la técnica normal. La cantidad también dependerá del paciente individual que se está
25 tratando, de la vía de administración, del tipo de formulación, de las características del compuesto usado, de la gravedad de la enfermedad y del efecto deseado. La cantidad usada puede ser determinada mediante principios farmacológicos y farmacocinéticos muy conocidos en la técnica.

30 Una cantidad eficaz de un adenovirus que comprende la construcción de ácido nucleico que codifica una quimera-FAS o una población homogénea de un adenovirus que comprende la construcción de ácido nucleico que codifica una proteína de quimera-FAS puede ser cualquier dosis adecuada. En un caso, una cantidad eficaz del adenovirus o la población homogénea del adenovirus es al menos aproximadamente 10^9 VP, al menos aproximadamente 10^{10} VP, al menos aproximadamente 10^{11} VP, al menos aproximadamente 10^{12} VP, o al menos aproximadamente 10^{13} VP por sujeto. En otro caso, una cantidad eficaz del adenovirus o la población homogénea del adenovirus es al menos
35 aproximadamente 1×10^{12} VP, al menos aproximadamente 2×10^{12} VP, al menos aproximadamente 3×10^{12} VP, al menos aproximadamente 4×10^{12} VP, al menos aproximadamente 5×10^{12} VP, al menos aproximadamente 6×10^{12} VP, al menos aproximadamente 7×10^{12} VP, al menos aproximadamente 8×10^{12} VP, al menos aproximadamente 9×10^{12} VP, o al menos aproximadamente 1×10^{13} VP por sujeto. En otros casos, una cantidad eficaz del adenovirus o la población homogénea del adenovirus es de aproximadamente 10^9 a aproximadamente 10^{15} VP, de aproximadamente 10^{10} a aproximadamente 10^{14} VP, de aproximadamente 10^{11} a aproximadamente 10^{13} VP, o de
40 aproximadamente 10^{12} a aproximadamente 10^{13} VP, o de aproximadamente 3×10^{12} a aproximadamente 10^{13} VP por sujeto.

45 En otros aspectos, una cantidad eficaz de un adenovirus que expresa una proteína de quimera-FAS o una población homogénea del adenovirus se aumenta si la primera dosis no induce ninguna toxicidad. Por ejemplo, la primera dosis del adenovirus que expresa una proteína de quimera-FAS o una población homogénea del adenovirus puede ser de al menos aproximadamente 1×10^9 , aproximadamente 1×10^{10} VP, al menos aproximadamente 1×10^{11} VP, al menos aproximadamente 1×10^{12} VP, al menos aproximadamente 2×10^{12} VP, al menos aproximadamente 3×10^{12} VP, al menos aproximadamente 4×10^{12} VP, al menos aproximadamente 5×10^{12} VP, al menos aproximadamente 6×10^{12} VP, al menos aproximadamente 7×10^{12} VP, al menos aproximadamente 8×10^{12} VP, o al menos
50 aproximadamente 9×10^{12} VP por sujeto, y la segunda dosis o las dosis posteriores del adenovirus que expresa una proteína de quimera-FAS puede ser de al menos aproximadamente 5×10^{12} VP, al menos aproximadamente 6×10^{12} VP, al menos aproximadamente 7×10^{12} VP, al menos aproximadamente 8×10^{12} VP, o al menos aproximadamente 9×10^{12} VP, al menos aproximadamente 1×10^{13} VP, al menos aproximadamente 2×10^{13} VP, al menos aproximadamente 3×10^{13} VP, al menos aproximadamente 4×10^{13} VP, al menos aproximadamente 5×10^{13} VP, al menos aproximadamente 6×10^{13} VP, al menos aproximadamente 7×10^{13} VP, al menos aproximadamente 8×10^{13} VP, al menos aproximadamente 9×10^{13} VP, al menos aproximadamente 1×10^{14} VP por sujeto. En un ejemplo específico, la primera dosis del adenovirus que expresa una proteína de quimera-FAS o una población homogénea del adenovirus es de aproximadamente 3×10^{12} VP por sujeto, y la segunda dosis de la construcción de adenovirus que expresa la quimera-FAS es de aproximadamente 1×10^{13} VP por sujeto. Sin embargo, una cantidad eficaz del adenovirus que expresa una proteína de quimera-FAS o una población homogénea del adenovirus puede reducirse
60 si una dosis concreta induce una toxicidad limitante de la dosis.

Una composición que comprende el adenovirus o la población homogénea del adenovirus puede infundirse al

- 5 sujeto durante aproximadamente 10 minutos, aproximadamente 20 minutos, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 40 minutos, aproximadamente 50 minutos, aproximadamente 60 minutos, aproximadamente 70 minutos, aproximadamente 80 minutos, aproximadamente 90 minutos, aproximadamente 100 minutos, aproximadamente 110 minutos, o aproximadamente 120 minutos. En un caso, la construcción de ácido nucleico de la invención se infunde por vía intravenosa durante no más de 60 minutos. En otro caso, una composición que comprende el adenovirus o la población homogénea del adenovirus se infunde a una velocidad de 1 ml/minuto para dosis iguales o menores que 3×10^{12} VP por sujeto. Si la dosis es mayor que 3×10^{12} VP por sujeto, la composición que comprende el adenovirus o la población homogénea del adenovirus se infunde a una velocidad de 1 ml/minuto para los primeros 10 ml, y después a una velocidad de 3 ml/minutos para el resto.
- 10 También pueden incorporarse compuestos activos suplementarios en las composiciones usadas en los métodos. Por ejemplo, una construcción de ácido nucleico que codifica un producto del gen de quimera-FAS o una población homogénea de la construcción de ácido nucleico puede coformularse y/o coadministrarse con uno o más agentes terapéuticos adicionales.
- 15 La descripción incluye cualquier método de transporte adecuado para una construcción de ácido nucleico que codifica un producto del gen de quimera-FAS o una población homogénea de la construcción de ácido nucleico hasta un tejido diana seleccionado, que incluye una inyección en embolada de una disolución acuosa o la implantación de un sistema de liberación controlada. El uso de un implante de liberación controlada reduce la necesidad de inyecciones repetidas.
- 20 Una construcción de ácido nucleico que codifica un producto del gen de quimera-FAS, un adenovirus que comprende la construcción de ácido nucleico, o una población homogénea del adenovirus puede infundirse directamente en el tumor. Se conocen diversos implantes para la infusión directa en un tumor de compuestos, y estos son eficaces para transportar compuestos terapéuticos a pacientes humanos que padecen un cáncer ginecológico femenino.
- 25 Las composiciones también pueden comprender una construcción de ácido nucleico que codifica un producto del gen de quimera-FAS, un adenovirus que comprende la construcción de ácido nucleico, o una población homogénea del adenovirus dispersado en un material vehículo biocompatible que actúe como un sistema de transporte o de soporte adecuado para los compuestos. Los ejemplos adecuados de vehículos de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables en forma de artículos conformados, tales como supositorios o cápsulas. Las matrices de liberación sostenida implantables o microcapsulares incluyen polilactidas (patente de EE. UU. n.º 3.773.319; documento EP 58,481), copolímeros del ácido L-glutámico y gamma-etil-L-glutamato (Sidman *et al.*, *Biopolymers*, 22:547-556 (1985)); poli(metacrilato de 2-hidroxietilo), etileno-acetato de vinilo (Langer *et al.*, *J. Biomed. Mater. Res.*, 15:167-277 (1981); Langer, *Chem. Tech.*, 12:98-105 (1982)) o ácido poli-D(-)-3-hidroxi-butírico (documento EP 133.988).
- 30 Según los métodos, la administración de la construcción de ácido nucleico, el adenovirus, o la población homogénea del adenovirus puede combinarse con la administración de uno o más agentes quimioterapéuticos. El agente quimioterapéutico puede administrarse antes, al mismo tiempo o después de la administración del adenovirus que expresa una proteína de quimera-FAS o una población homogénea del adenovirus.
- 35 Dichos uno o más agentes quimioterapéuticos que pueden coadministrarse con el adenovirus de la invención incluyen, pero no se limitan a acivicina; aclarubicina; clorhidrato de acodazol; acronina; adriamicina; adozelesina; aldesleuquina; alimta; altretamina; ambomicina; acetato de ametantrona; aminoglutetimida; amsacrina; anastrozol; antramicina; asparaginasa; asperlina; azacitidina; azetepa; azotomicina; batimastato; benzodepa; bicalutamida; clorhidrato de bisantreno; dimesilato de bisnafida; bevacizumab, bizelesina; sulfato de bleomicina; brequinar sodio; bropirimina; busulfano; cactinomicina; calusterona; caracemida; carbetímero; carboplatino; carmustina; clorhidrato de carubicina; carzelesina; cedefingol; clorambucilo; ciolemicina; cisplatino; cladribina; mesilato de crisnatol; ciclofosfamida; citarabina; dacarbazina; dactinomicina; clorhidrato de daunorubicina; decitabina; dexormaplatino; dezaguanina; mesilato de dezaguanina; diaziquna; docetaxel; doxorubicina; clorhidrato de doxorubicina; droloxifeno; citrato de droloxifeno; propionato de dromostanolona; duazomicina; edatrexato; clorhidrato de eflornitina; elsamitrucina; enloplatino; enpromato; epiropidina; clorhidrato de epirubicina; erbulozol; clorhidrato de esorubicina; estramustina; fosfato de estramustina sodio; etanidazol; etopósido; fosfato de etopósido; etoprina; clorhidrato de fadrozol; fazarabina; fenretinida; floxuridina; fosfato de fludarabina; fluorouracilo; flurocitabina; fosquidona; fostriceína sodio; gemcitabina; clorhidrato de gemcitabina; hidroxixurea; clorhidrato de idarubicina; ifosfamida; ilmofofina; interferón alfa-2a; interferón alfa-2b; interferón alfa-n1; interferón alfa-n3; interferón beta-1a; interferón gamma-1b; iproplatino; clorhidrato de irinotecano; acetato de lanreotida; letrozol; acetato de leuprolida; clorhidrato de liarozol; lometrexol sodio; lomustina; clorhidrato de losoxantrona; masoprocol; maitansina; clorhidrato de mecloretamina; acetato de megestrol; acetato de melengestrol; melfalano; menogarilo; mercaptopurina; metotrexato; metotrexato sodio; metoprina; meturedpa; mitindomida; mitocarcina; mitocromina; mitogilina; mitomalcina; mitomicina; mitospero; mitotano; clorhidrato de mitoxantrona; ácido micofenólico; nocodazol; nogalamicina; ormaplatino; oxisurano; pazotinibo; paclitaxel; pegaspargasa; peliomicina; pentamustina; sulfato de peplomicina; perfosfamida; pipobromano; piposulfano; clorhidrato de piroxantrona; plicamicina; plomestano; porfímero sodio; porfíromicina; prednimustina; clorhidrato de procarbazona; puromicina; clorhidrato de puromicina; pirazofurina; riboprina; rogletimida; safingol; clorhidrato de safingol; semustina; simtrazeno; sorafinibo; esparfosato sodio; esparfomicina;
- 60

clorhidrato de espirogermanio; espiromustina; espiroplatino; estreptonigrina; estreptozocina; sulofenur; sunitinibo; talisomicina; taxol; tecogalano sodio; tegafur; clorhidrato de teloxantrona; temoporquina; tenipósido; teroxirona; testolactona; tiamiprina; tioguanina; tiotepa; tiazofuirina; tirapazamina; clorhidrato de topotecano; citrato de toremifeno; acetato de trestolona; fosfato de triciribina; trimetrexato; glucuronato de trimetrexato; triptorelina; clorhidrato de tubulozol; mostaza de uracilo; uredepa; vapreotida; verteporfina; sulfato de vinblastina; sulfato de vincristina; vindesina; sulfato de vindesina; sulfato de vinepidina; sulfato de vinglicinato; sulfato de vinleurosina; tartrato de vinorelbina; sulfato de vinrosidina; sulfato de vinzolidina; vorozol; zeniplatino; zinostatina; o clorhidrato de zorubicina. Otros agentes antineoplásicos incluyen los descritos en el capítulo 52, Antineoplastic Agents (Paul Calabresi y Bruce A. Chabner), y en su introducción, 1202-1263, de Goodman y Gilman, "The Pharmacological Basis of Therapeutics", 8ª edición, 1990, McGraw-Hill, Inc.

En algunos casos, un sujeto administrado con un adenovirus que expresa una proteína de quimera-FAS o una población homogénea del adenovirus se trata al mismo tiempo con radioterapia. En otros casos, un sujeto administrado con un adenovirus que expresa una proteína de quimera-FAS o una población homogénea del adenovirus se trata al mismo tiempo con dos o más agentes quimioterapéuticos. En ciertos casos, un sujeto administrado con un adenovirus que expresa una proteína de quimera-FAS o una población homogénea del adenovirus se trata al mismo tiempo con un agente quimioterapéutico y radioterapia.

En el aspecto de la terapia de combinación, el agente quimioterapéutico puede ser paclitaxel. En un aspecto, un adenovirus que expresa una proteína de quimera-FAS o una población homogénea del adenovirus puede administrarse al mismo tiempo que paclitaxel. En otro aspecto, un adenovirus que expresa una proteína de quimera-FAS o una población homogénea del adenovirus se administra antes o después de la administración de paclitaxel. En otros casos, el paclitaxel se administra al menos 30 minutos, al menos aproximadamente una hora, al menos aproximadamente dos horas, al menos aproximadamente tres horas, al menos aproximadamente cuatro horas, al menos aproximadamente cinco horas, al menos aproximadamente seis horas, al menos aproximadamente siete horas, al menos aproximadamente ocho horas, al menos aproximadamente nueve horas, al menos aproximadamente diez horas, al menos aproximadamente 11 horas, al menos aproximadamente 12 horas, al menos aproximadamente 13 horas, al menos aproximadamente 14 horas, al menos aproximadamente 19 horas, al menos aproximadamente 20 horas, al menos aproximadamente 21 horas, al menos aproximadamente 22 horas, al menos aproximadamente 23 horas, al menos aproximadamente 24 horas, al menos aproximadamente un día, al menos aproximadamente 36 horas, al menos aproximadamente 2 días, al menos aproximadamente 60 horas, al menos aproximadamente 3 días antes de la administración de un adenovirus que expresa una proteína de quimera-FAS o una población homogénea del adenovirus.

El agente quimioterapéutico también puede administrarse mediante cualquier método adecuado, por ejemplo, por vía parenteral, intraventricular, oral, mediante pulverizado para la inhalación, tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o mediante un depósito implantable. El término "parenteral", tal como se emplea en la presente, incluye técnicas de infusión o inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal.

Una cantidad eficaz del agente quimioterapéutico está disponible en la técnica. En un aspecto, por ejemplo, una cantidad eficaz de paclitaxel puede ser de al menos aproximadamente 10 mg/m², al menos aproximadamente 20 mg/m², al menos aproximadamente 30 mg/m², al menos aproximadamente 40 mg/m², al menos aproximadamente 50 mg/m², al menos aproximadamente 60 mg/m², al menos aproximadamente 70 mg/m², al menos aproximadamente 80 mg/m², al menos aproximadamente 90 mg/m², al menos aproximadamente 100 mg/m², al menos aproximadamente 110 mg/m². En otro aspecto, una cantidad eficaz de paclitaxel es de aproximadamente 10 mg/m² a aproximadamente 200 mg/m², de aproximadamente 20 mg/m² a aproximadamente 150 mg/m², de aproximadamente 30 mg/m² a aproximadamente 100 mg/m², o de 40 mg/m² a aproximadamente 80 mg/m². En otros aspectos, una cantidad eficaz de paclitaxel es de aproximadamente 10 mg/m², aproximadamente 20 mg/m², aproximadamente 30 mg/m², aproximadamente 40 mg/m², aproximadamente 50 mg/m², aproximadamente 60 mg/m², aproximadamente 70 mg/m², aproximadamente 80 mg/m², aproximadamente 90 mg/m², o aproximadamente 100 mg/m².

En ciertos aspectos de la administración de paclitaxel, el paclitaxel se infunde durante al menos 10 minutos, al menos 20 minutos, al menos 30 minutos, al menos 40 minutos, al menos 50 minutos, al menos 60 minutos, al menos 70 minutos, al menos 80 minutos, al menos 90 minutos, al menos 100 minutos, al menos 110 minutos, al menos 120 minutos, al menos 150 minutos, al menos 180 minutos, al menos 210 minutos, al menos 240 minutos, al menos 270 minutos, o al menos 300 minutos. En un ejemplo específico, el paclitaxel se infunde durante al menos una hora. Los métodos de infusión del paclitaxel pueden utilizarse por medio de cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, el paclitaxel puede administrarse a través de un filtro en línea con una membrana microporosa no mayor de 0,22 micrómetros a lo largo de tres horas.

En algunos aspectos, el paclitaxel se infunde en el día 1 (el mismo día que el adenovirus que expresa la proteína de quimera-FAS o una población homogénea del adenovirus) (es decir, la primera dosis) y es seguida de una o más dosis posteriores, por ejemplo, una infusión cada tres días, cada cuatro días, cada cinco días, cada seis días, cada siete días, cada ocho días, cada nueve días, cada diez días, cada 11 días, cada 12 días, cada 13 días, o cada 14 días. En un ejemplo específico, el paclitaxel se administra en el día 1 (es decir, la primera dosis) y es seguida por un

programa en el día 8 (es decir, la segunda dosis), el día 15 (es decir, la tercera dosis) y el día 22 (es decir, la cuarta dosis) cada 28 días.

En otros aspectos, una cantidad eficaz de un agente quimioterapéutico que se va a coadministrar junto con el adenovirus que expresa una proteína de quimera-FAS o una población homogénea del adenovirus se aumenta si la primera dosis no induce ninguna toxicidad. Por ejemplo, la primera dosis de paclitaxel puede ser de aproximadamente 10 a aproximadamente 70 mg/m², de aproximadamente 20 a aproximadamente 60 mg/m², de aproximadamente 30 a aproximadamente 50 mg/m², o aproximadamente 40 mg/m², y la segunda dosis o cualquier dosis posterior puede aumentar en aproximadamente 10 mg/m², aproximadamente 20 mg/m², aproximadamente 30 mg/m², aproximadamente 40 mg/m², aproximadamente 50 mg/m², aproximadamente 60 mg/m², aproximadamente 70 mg/m², o aproximadamente 80 mg/m². En un aspecto, la primera dosis de paclitaxel es de aproximadamente 40 mg/m², y la segunda dosis de paclitaxel es de aproximadamente 80 mg/m². En otro aspecto, la primera dosis de paclitaxel es de aproximadamente 40 mg/m², la segunda dosis de paclitaxel es de aproximadamente 80 mg/m², y la tercera dosis de paclitaxel es de aproximadamente 80 mg/m². En otros aspectos, la primera dosis de paclitaxel es de aproximadamente 40 mg/m², la segunda dosis de paclitaxel es de aproximadamente 80 mg/m², la tercera dosis de paclitaxel es de aproximadamente 80 mg/m², y la cuarta dosis de paclitaxel es de aproximadamente 80 mg/m².

Sin embargo, la cantidad eficaz de paclitaxel puede reducirse si la primera dosis induce una toxicidad limitante de la dosis en el sujeto. La toxicidad limitante de la dosis puede determinarse mediante cualquier método conocido, por ejemplo, (1) un recuento de neutrófilos absolutos (ANC) de $<0,5 \times 10^9/l$ que dura ≥ 4 días, o un recuento de neutrófilos absolutos $<0,5 \times 10^9/l$ con sepsis, o fiebre de grado 3-4 ($>37,9$ °C ($>100,2$ °F)) que no puede controlarse con facilidad con una medicación antipirética; (2) recuento de plaquetas $<10 \times 10^9/l$ durante cualquier duración de tiempo; (3) cualquier otra toxicidad de grado ≥ 3 no hematológica y no hepática relacionada con fármacos, o cualquiera de sus combinaciones. Esto no incluye náuseas o vómitos de grado ≥ 3 que pueden ser controlados médicamente (si las náuseas o los vómitos no pueden controlarse médicamente y aparecen durante el primer ciclo, se considera una DLT) o hipocalcemia, hiponatremia, hipofosfatemia, hipomagnesemia, e hipocalcemia de grado ≥ 3 si pueden corregirse con facilidad, son clínicamente asintomáticas y no vienen acompañadas de complicaciones médicamente significativas (por ejemplo, cambios en ECG).

En un caso, la primera dosis de paclitaxel en el día 1 es 40 mg/m², y si el sujeto no muestra una toxicidad limitante de la dosis, la segunda dosis en el día 8 y las posteriores dosis en el día 15, el día 22, y el día 28 aumentan hasta 80 mg/m². En otro caso, si la ANC/fármaco en un sujeto es $\geq 1.000/mm^3$, al sujeto se le administra una dosis completa de paclitaxel, por ejemplo, 80 mg/m². Si la ANC/fármaco en el sujeto es $<1.000/mm^3$, la administración de paclitaxel se detiene. Si existe otra incidencia de ANC $<1.000/mm^3$, la dosis de paclitaxel puede reducirse hasta 60 mg/m². En otros casos, si un sujeto tiene unas plaquetas/fármaco de $\geq 100.000/mm^3$, o presenta una primera incidencia $<100.000/mm^3$ y $>75.000/mm^3$, al sujeto se le administra una dosis completa de paclitaxel, por ejemplo, 80 mg/m². Si el sujeto muestra unas plaquetas/fármaco de $<75.000/mm^3$, la administración de paclitaxel se detiene. Si el sujeto muestra una incidencia repetida de plaquetas/fármaco de $<100.000/mm^3$ y $>75.000/mm^3$, la dosis de paclitaxel se reduce hasta 69 mg/m². En algunos casos, si un sujeto muestra una primera incidencia de neuropatía de grado >2 , la dosis de paclitaxel se reduce desde la dosis completa, por ejemplo, de aproximadamente 80 mg/m² a aproximadamente 60 mg/m². Si el sujeto muestra una segunda incidencia (o muestra persistencia a pesar de la reducción de la dosis) de neuropatía de grado >2 , la dosis de paclitaxel se reduce hasta 40 mg/m². Si el sujeto muestra una tercera incidencia (o persistencia a pesar de la reducción de la dosis), la administración de paclitaxel se detiene.

No se conoce que el paclitaxel provoque toxicidad hepática; sin embargo, su eliminación se retrasa en pacientes con disfunción hepática grave. Por tanto, la dosis de paclitaxel en un sujeto con disfunción hepática puede modificarse según la siguiente tabla.

Tabla 5 - Modificación de la dosis de paclitaxel para sujetos con disfunción hepática

AST en suero o ALT	Paclitaxel
< 3x ULN	80 mg/m ²
$\geq 3x$ ULN	60 mg/m ²
$\geq 5x$ ULN	detener el fármaco

Los sujetos con bilirrubina elevada $>1,5$ mg/dl pueden no recibir paclitaxel hasta que los valores de laboratorio anómalos mejoren hasta \leq grado 1. El tratamiento puede reanudarse después de la recuperación con paclitaxel a un nivel de dosis menor, según la anterior tabla. Los sujetos que muestran toxicidad al paclitaxel que dure más de 2 semanas pueden abandonar el fármaco.

En ciertos casos, a un sujeto se le administra un agente inmunosupresor antes, al mismo tiempo o después de la administración de uno o más agentes quimioterapéuticos, por ejemplo, paclitaxel. En un caso, el agente

inmunosupresor útil para su administración al sujeto se selecciona del grupo que consiste en antagonistas del receptor H₂, cimetidina, ranitidina, famotidina, corticosteroides, dexametasona, ciclosporina, difenhidramina, o cualquiera de sus combinaciones.

5 En otros casos, los métodos de la descripción comprenden además administrar uno o más agentes antiangiogénicos antes, al mismo tiempo o después de la administración de la construcción de ácido nucleico que expresa una proteína de quimera-FAS.

10 En algunos casos, a un sujeto se le administra un agente antiemético. Los ejemplos de agentes antieméticos adecuados incluyen, pero no se limitan a antagonistas del receptor de 5-HT₃ (por ejemplo, dolasterona, granisetrona, ondansetrona, tropisetrona, palonosetrona, o mirtazapina), antagonistas de dopamina (por ejemplo, domperidona, olanzapina, droperidol, haloperidol, clorpromazina, prometazina, proclorperazina, metoclopramida, alizaprida, o proclorperazina, compazina, estemizina, bucastemo, estemetilo, o fenotilo), antagonistas del receptor de NK1 (por ejemplo, aprepitant o casopitant), antihistaminas (antagonistas del receptor de histamina H₁) (por ejemplo, ciclizina, difenhidramina, dimenhidrinato, doxilamina, meclozina, prometazina, o hidroxizina), cannabinoides (por ejemplo, cannabis, dronabinol, nabilona, la serie JWH, o Sativex), benzodiazepinas (por ejemplo, midazolam o lorazepam), anticolinérgicos (por ejemplo, hioscina), esteroides (por ejemplo, dexametasona), trimetobenzamida, jengibre, emetrol, propofol, menta, muscimol, o ajwaína), o cualquiera de sus combinaciones. En otros casos, los agentes antieméticos adecuados son dexametasona, PRN Ativan, kitrilo, compazina, perfenazina, zofrano, perfenazina, o cualquiera de sus combinaciones.

20 En otros casos, se administran agentes antipiréticos antes, al mismo tiempo o después de la administración de la construcción de ácido nucleico que codifica una proteína de quimera-FAS. Los ejemplos de agentes antipiréticos incluyen, pero no se limitan a NSAID (por ejemplo, ibuprofeno, naproxeno, cetoprofeno, y nimesulida), aspirina, acetaminofeno, metamizol, nabumetona, fenazona, quinina, o cualquiera de sus combinaciones.

25 Los métodos comprenden además determinar la progresión de la enfermedad en el sujeto antes o después de recibir la construcción de ácido nucleico que expresa una proteína de quimera-FAS o el agente quimioterapéutico. En un caso, la progresión de la enfermedad se determina midiendo el tamaño del tumor. En otro caso, la progresión de la enfermedad se determina midiendo la expresión de un antígeno tumoral, por ejemplo, CA-125. Para determinar la progresión de la enfermedad se recoge la sangre y la orina del sujeto antes de la infusión, al final de la infusión, aproximadamente tres horas después de la infusión y/o aproximadamente seis horas después de la infusión de la construcción de ácido nucleico que expresa un producto del gen de quimera-FAS. En otros casos, se registran los signos vitales del sujeto a los 0 minutos-15 minutos (justo antes de la dosificación), 30 minutos±15 minutos después de iniciar la dosificación, 60 minutos±15 minutos después de iniciar la dosificación, cuatro horas±15 minutos después de iniciar la dosificación, seis horas±15 minutos después de iniciar la dosificación y/o cuando aparezca cualquier acontecimiento adverso. Los signos vitales que se van a medir incluyen, pero no se limitan a la presión sanguínea sistólica y diastólica, la frecuencia cardíaca periférica, la temperatura corporal, la tasa de respiración o cualquiera de sus combinaciones. En aún otros casos, se mide en el sujeto la hematología (por ejemplo, recuento sanguíneo completo con diferencial, INR y PTT activado); la coagulación (por ejemplo, nivel de PTT); la biodistribución de la construcción de ácido nucleico que expresa la quimera-FAS; la expresión de biomarcadores angiogénicos e inflamatorios (por ejemplo, VEGF, PIGF, sVEGFR1, bFGF, IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α, sVEGFR2, SDF1α, CD31, CD34, VEGFR2, vWF, o cualquiera de sus combinaciones); la expresión de marcadores tumorales, por ejemplo, CA-125, o cualquiera de sus combinaciones.

40 Los sujetos adecuados para los métodos se tratan de la manera habitual para la fiebre y la neutropenia. Los sujetos deben recuperarse de la fiebre y de problemas infecciosos activos antes de reanudar la terapia. En algunos casos, a los sujetos que no están recibiendo factores de crecimiento se les añade Neupogen o Neulasta a su siguiente ciclo. A los sujetos con Neupogen 5 ug/kg/día se les puede aumentar su dosis hasta 10 ug/kg con el mismo programa.

45 Ejemplos

Ejemplo 1: Construcción y clonación del vector vírico

El vector se construyó empleando un esqueleto que contiene la mayor parte del genoma del adenovirus de tipo 5, así como una homología parcial con un plásmido adaptador, que permite la recombinación.

50 Se delecionó la unidad transcripcional temprana E1 del esqueleto del plásmido, que fue modificado posteriormente delecionando pWE25 y el sitio de marcador de selección de resistencia a la ampicilina.

El plásmido adaptador, que contiene secuencias de Ad5, el promotor de CMV, MCS, y poliA de SV40, se modificó para delecionar el promotor de CMV, y se insertaron el promotor PPE-1 y el fragmento Fas-c mediante digestión de restricción. Se utilizaron el promotor PPE-1 modificado (PPE-1-3X, SEQ ID NO:18) y el transgén de quimera-Fas (Fas-c, SEQ ID NO:9) para la construcción de vector adenovírico. Se construyó el elemento PPE-1-(3X)-Fas-c (2115 pb) a partir del elemento PPE-1-(3X)-luc. Este elemento contiene 1,4 kb del promotor de preproendotelina murino PPE-1-(3X), el gen de luciferasa, el sitio de poliA de SV40 y el primer intrón del gen ET-1 murino, originado del plásmido pEL8 (8848 pb) usado por Harats *et al.* (Harats D. *et al.*, JCI, 1995). Se extrajo el módulo PPE-3-Luc del plásmido pEL8 empleando la enzima de restricción BamHI. El gen de luciferasa se sustituyó por el gen Fas-c

[compuesto de los dominios extracelular e intramembrana de TNF-R1 (receptor 1 del factor de necrosis tumoral, SEQ ID NO:4) humano y el dominio intracelular de Fas (p55) (SEQ ID NO:8) (Boldin *et al.*, JBC, 1995)] para obtener el módulo PPE-1-3x-Fas-c.

5 Plásmido PPE-1 (3x)-Fas-c — El módulo después se introdujo en el esqueleto del plásmido mediante digestión de restricción, produciendo el plásmido PPE-1-(3x)-Fas-c.

10 Plásmido adaptador-PPE-1-(3x)-Fas-c — Se extrajo el elemento PPE-1-3x-Fas-c de la construcción del plásmido PPE-1-3x-Fas-c de primera generación, y se amplificó con cebadores de PCR indicados, introduciendo sitios de restricción *Sna*BI y *Eco*RI en los extremos 5' y 3', respectivamente. Estos sitios se emplearon para clonar el fragmento PPE-Fas-c en el plásmido adaptador digerido con *Sna*BI y *Eco*RI, produciendo el adaptador-PPE-1-3x-Fas-c usado para la transfección de las células hospedantes (por ejemplo, células PER.C6).

Ejemplo 2: Eficacia y seguridad de VB-111 en ratones con carcinoma de pulmón de Lewis metastásico (LLC)

Resumen

En este estudio, ratones modelos de LLC se trataron con VB-111 (10^9 o 10^{11} partículas de virus (VP)), carboplatino (20 o 50 mg/kg) y Alimta (10 o 30 mg/kg) o con una combinación de estas moléculas pequeñas y el adenovector.

15 El tratamiento con VB-111 a ambas dosis produjo 100% de supervivencia. La administración de una dosificación baja de quimioterapia produjo una tasa de supervivencia ligeramente inferior (94,1%), que es similar a la observada con la administración de vehículo (93,8%). Sin embargo, la administración de una dosificación mayor de quimioterapia produjo el porcentaje más bajo de supervivencia (50%). Los tratamientos de combinación disminuyeron la supervivencia, comparado con la administración de VB-111 por sí solo (64%-93%).

20 El peso de los órganos (corazón, riñones y cerebro) fue bastante similar entre los diferentes grupos. Se observaron algunas diferencias entre los grupos en el peso del hígado, bazo y testículos, principalmente un peso mayor para la dosis mayor de VB-111 por sí solo, o cualquiera de las combinaciones con esta dosis.

25 No se observaron diferencias significativas en la función hepática comparado con el tratamiento con vehículo. En general, la terapia de combinación no produjo toxicidades más altas que las terapias individuales a partir de las cuales se forman.

30 La combinación de VB-111 10^9 +alta dosis de quimioterapia es significativamente más eficaz que el tratamiento con alta dosis de quimioterapia por sí solo. Además, el tratamiento combinado mejora el promedio y la mediana de la carga tumoral frente al tratamiento con VB-111 10^9 por sí solo (en 1,5 y 5 veces para el promedio y la mediana, respectivamente), aunque no es estadísticamente significativo. Este efecto puede mostrar significancia estadística cuando se aplique el tratamiento a grupos más grandes.

La combinación de VB-111 10^9 +alta dosis de quimioterapia se parece a la gran reducción en la carga tumoral obtenida con VB-111 10^{11} , puesto que no existe una diferencia significativa entre estos dos grupos. Este parecido significativo con VB-111 10^{11} no se obtiene con el tratamiento con VB-111 10^9 por sí solo.

35 La combinación de VB111 10^9 +alta dosis de quimioterapia puede permitir reducir la dosis de VB-111, al mismo tiempo que conserva su elevada eficacia y mejora la baja eficacia de la quimioterapia solo con carboplatino y Alimta.

Introducción

40 El carcinoma pulmonar de Lewis (LLC) es un modelo de ratón ampliamente utilizado para la metástasis (Varda-Bloom *et al.*, 2001). Este estudio se realiza para identificar la sinergia potencial de los tratamientos combinados de VB-111 con quimioterapias establecidas (por ejemplo, carboplatino y Alimta), para evaluar la eficacia de una dosis única de VB-111 (10^9 o 10^{11} VP/ratón) como único tratamiento o en combinación con tratamientos intraperitoneales repetidos de carboplatino (20 o 50 mg/kg) y Alimta (10 o 30 mg/kg), y para evaluar y caracterizar la seguridad y la tolerabilidad de VB-111 como único tratamiento y en combinación con la quimioterapia mencionada anteriormente.

El diseño del estudio se muestra en la tabla 6.

Tabla 6 - Diseño del estudio

GRUPOS DE ESTUDIO y LÍNEA DE TIEMPO BÁSICA	Se planifican 9 grupos de tratamiento como sigue:			
		Tratamiento	Dosis (vp/ratón)	Número de animales
	Grupo 1	VB-111	10 ¹¹	15
	Grupo 2	VB-111	10 ⁹	15
	Grupo 3	VB-111 carboplatino+ Alimta	10 ¹¹ 20 mg/kg+ 10 mg/kg	15
	Grupo 4	VB-111 carboplatino+ Alimta	10 ⁹ 20 mg/kg+ 10 mg/kg	13
	Grupo 5	carboplatino+ Alimta	20 mg/kg+ 10 mg/kg	16
	Grupo 6	VB-111 carboplatino+ Alimta	10 ¹¹ 50 mg/kg+ 30 mg/kg	15
	Grupo 7	VB-111 carboplatino+ Alimta	10 ⁹ 50 mg/kg+ 30 mg/kg	14
	Grupo 8	carboplatino+ Alimta	50 mg/kg+ 30 mg/kg	14
Grupo 9	Vehículo	-	16	
Cada animal recibió una única inyección de una dosis de VB-111 o de vehículo de modo aleatorizado en el día 0 ± 1, 5 días después de la amputación del tumor primario. Se administraron 2 dosis de tratamiento con carboplatino en los días 5-6, se administraron 10 dosis del tratamiento con Alimta a partir del día 5. Los animales se evaluaron para la seguridad y la eficacia a lo largo del estudio y hasta el día del sacrificio, que tuvo lugar en el mismo día en que el 5º animal control (grupo 9) murió.				
DURACIÓN DEL ESTUDIO	Aproximadamente 1 mes desde el momento 0			
ANIMALES	133 ratones C57B16 macho (11-13 semanas de edad), que se esperaba que habrían desarrollado metástasis en el pulmón después de la inyección de células de carcinoma de Lewis D122 en la almohadilla de la pata izquierda y la extirpación del tumor primario (amputación del segmento distal de la extremidad).			
FÁRMACO DE ENSAYO Y FORMULACION	<p>VB-111: Adenovirus 5, con E1 deletado, E3 parcialmente deletado, con el promotor PPE-1(3x), que contiene el transgén de quimera-FAS formulado en el vehículo (véase a continuación).</p> <p>Vehículo: PBS, glicerol al 10%.</p> <p>Alimta: pemetrexed, 500 mg de polvo.</p> <p>Carboplatino: "EBEWE" 10 mg/ml.</p>			

ES 2 703 913 T3

DOSIFICACIÓN	El tratamiento con VB-111 se administró mediante inyección en la vena de la cola del ratón en un volumen total de 100 µl, se administraron 20 o 50 mg/kg/carboplatino en dos dosis en los días 5-6, 0,1 ml IP, y se administraron 10 dosis de 10 o 30 mg/kg/Alimta a partir del día 5, 0,1 ml IP.
EVALUACIONES DE SEGURIDAD	Se observó la salud general de todos los animales a diario a lo largo del estudio. Se registró el peso de los animales y las señales clínicas antes del comienzo del estudio, después de la extirpación del tumor primario, en el día 0 (día de dosificación), y después cada semana hasta el final del estudio. La evaluación de laboratorio incluyó la química sanguínea (para la función hepática) de muestras tomadas de 5 ratones/grupo al final del estudio. Se evaluaron los órganos principales (hígado, bazo, corazón, riñón, pulmón, gónadas y cerebro) tras el sacrificio del animal (5 ratones/grupo).
EVALUACIONES DE LA EFICACIA	Se evaluó el efecto del tratamiento tras la muerte de cada animal mediante el pesado de los pulmones y la carga tumoral.
ESTADÍSTICA	<p>Los grupos de tratamiento se compararon empleando ANOVA de una vía para la comparación de los parámetros de los pesos de los órganos, la carga tumoral y la función hepática.</p> <p>Para aislar el grupo o los grupos que se diferencian de los demás se siguió el procedimiento de comparación múltiple de Dunn (GPT día 16, GOT día 16 y carga tumoral).</p> <p>Se compararon los pesos corporales de cada grupo en el día 0 con los del día del sacrificio (ensayo de la t apareado).</p> <p>Para la eficacia, los grupos se analizaron empleando ANOVA de una vía. En los casos en que los ensayos de normalidad fallaron se aplicó el método de Dunn. Además, se realizó un ensayo de Mann-Whitney para comparaciones individuales entre dos grupos.</p>

Materiales y métodos

Materiales de ensayo y de referencia:

Nombre: VB-111 (PPE-FAS)

5 Nombre químico: no especificado

Componentes activos: adenovirus 5, con E1 delecionado, E3 parcialmente delecionado, con el promotor PPE-1(3×), que contiene el transgén de quimera-FAS

Vehículo: PBS y glicerol

Suministrado por: VBL

10 Estado físico: líquido

Condiciones de conservación: ≤-65 °C, en viales criogénicos

Preparación del artículo: el vial debe descongelarse en el día del tratamiento y mezclarse mediante inversiones

Nombre: carboplatino

Nombre químico: Ebewe

15 Vehículo: agua para inyección

Suministrado por: Ebewe

Estado físico: líquido (450 mg/45 ml)

Condiciones de conservación: temperatura ambiente

Nombre: Alimta

20 Nombre químico: pemetrexed

Vehículo: agua para inyección

Suministrado por: Lilly

Estado físico: en polvo

Condiciones de conservación: temperatura ambiente

Artículo control:

5 Nombre: PBS, glicerol al 10%

Suministrado por: VBL

Estado físico: líquido

Condiciones de conservación: ≤ -65 °C, en viales criogénicos

10 Preparación del artículo: el vial debe descongelarse en el día del tratamiento y mantenerse en hielo durante no más de 30 minutos

15 Las células de carcinoma de pulmón de Lewis D122 se descongelaron. En el día 1 de la inyección de las células, las células se recogieron y se suspendieron hasta una concentración final de $5 \times 10^5 / 50 \mu\text{l}$ y se inyectaron en la almohadilla de la pata izquierda. Se midió el diámetro del tumor empleando un calibrador cinco días después de la inyección. Después se midió cada semana hasta que alcanzó 5 mm, y después a diario hasta la amputación a 7 mm (definido como día -5). Después del sacrificio se recogieron el cerebro, el corazón, el hígado, el bazo, los riñones y los testículos, se pesaron y se evaluaron según los siguientes parámetros: color y textura del órgano intacto, existencia de lesiones o cualquier prueba de metástasis en el órgano internamente (después de cortarlo). Los análisis de laboratorio de las funciones hepáticas (niveles de GOT y GPT en sangre) incluyeron muestras tomadas de 5 ratones/grupo en el día 5 ± 1 y al final del estudio (día 16).

20 Todos los procedimientos con animales fueron aprobados por the “Animal Care and Use Committee” de Sheba Medical Center, Tel-Hashomer. El estudio se controló con placebo y era ciego. Los ratones C57B16 recibieron células de carcinoma de pulmón de Lewis (D122) mediante una inyección subcutánea en la almohadilla de la pata izquierda. Cuando el tejido tumoral alcanzó un diámetro de 7 mm (aproximadamente 3 semanas después de la inyección de las células), se extirpó con anestesia la almohadilla de la pata con el tumor primario. Este día se define como día -5. El día 0 es el día de la primera dosificación, 5 días después de la extirpación del tumor primario. Los ratones se aleatorizaron en los diversos grupos de tratamiento en el día 0, según se describe en la siguiente tabla. El vector adenovírico ensayado o la sustancia control se inyectó en la vena de la cola en un volumen total de 100 μl por ratón. Se administraron carboplatino y Alimta IP en un volumen total de 100 μl por ratón por dosis diaria.

25 Los animales se controlaron para la seguridad y la eficacia (tal como se lista en el siguiente programa de evaluaciones) a lo largo del estudio y hasta el momento del sacrificio. Se registró la muerte de cada animal durante el estudio y se intentó identificar la causa de la muerte. Se estableció el día del sacrificio para cada ratón como sigue: cuando el 5° de los ratones control (PBS, glicerol al 10% - grupo 9) muere por metástasis, se determina el número de días que pasa desde el día 0 (la primera administración IV del vehículo a ese ratón). Este número de día se establece como el día del sacrificio para todos los ratones supervivientes (es decir, si el 5° ratón control muere en su día 16, cada ratón se sacrifica cuando alcanza su propio día 16).

30 La evaluación de los efectos se programa como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7 - Programa de evaluación

Parámetro	Método	Número de día del estudio					
		< -5	-5, extirpación del tumor primario	0	5 \pm 1	Semanalmente después ± 1	Final
Ancho del tumor primario	Calibrador	Comenzando 5 días después de la inyección de D122, una vez cada 5 días hasta que alcanza 5 mm, y después a diario.					
Peso corporal	—	✓	Peso de la línea de base después de la extirpación con o sin pata	✓		✓	✓
Señales clínicas	Véase a continuación*	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Química sanguínea (funciones hepáticas)**	SM 30-20-06				✓		✓
Salud general	SOP 10-25-01	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Peso de los pulmones	Peso						✓
Evaluación de los órganos principales**	Visual y tinción de los tejidos anómalos						✓

*piel, pelo, ojos, membranas mucosas, respiración, control neural, temblores, salivación, diarrea, actividad somatomotora, letargia, convulsiones, patrones de comportamiento anómalos, sueño, coma.

**Procedente de 5 ratones por grupo

Resultados

- 5 En los grupos de ratones tratados con 10^9 y 10^{11} VP de VB-111 por sí solo, todos los animales sobrevivieron hasta el día 16. El tratamiento de combinación reveló una disminución en la supervivencia, observándose el porcentaje más bajo de supervivencia en ratones tratados con la dosis alta de quimioterapia, tal como se muestra en la tabla 8.

Tabla 8 - Mortalidad para el día 16

Grupo	Total (n)	Supervivientes (n)	Supervivencia (%)
Vehículo	16	15	93,8%
VB-111 10^9 VP	15	15	100%
VB-111 10^{11} VP	15	15	100%
carboplatino 20 mg/kg + Alimta 10 mg/kg	17	16	94,1%
carboplatino 50 mg/kg + Alimta 30 mg/kg	14	7	50%
VB-111 10^9 VP + carboplatino 20 mg/kg + Alimta 10 mg/kg	13	11	84,6%
VB-111 10^9 VP + carboplatino 50 mg/kg + Alimta 30 mg/kg	14	9	64,3%
VB-111 10^{11} VP + carboplatino 20 mg/kg + Alimta 10 mg/kg	15	12	80%
VB-111 10^{11} VP + carboplatino 50 mg/kg + Alimta 30 mg/kg	15	14	93,3%

- 10 Para la evaluación de la eficacia, los pulmones se pesaron en el día del sacrificio. La masa de los pulmones normales es de aproximadamente 0,2 g. La carga tumoral se define como la masa de los pulmones menos 0,2 g. El promedio y la mediana de la carga tumoral se muestran en la tabla 9.

Tabla 9 - Promedio y mediana de la carga tumoral

n.º de grupo	Tratamiento	Promedio de carga tumoral (g) ± DE	Mediana (g)
1	VB111 10^{11}	0,10 ± 0,04	0,10
2	VB111 10^9	0,34 ± 0,21	0,40
8	alta dosis de quimioterapia	0,48 ± 0,15	0,50
5	baja dosis de quimioterapia	0,49 ± 0,34	0,50
6	VB111 10^{11} + alta dosis de quimioterapia	0,22 ± 0,16	0,20
7	VB111 10^9 + alta dosis de quimioterapia	0,20 ± 0,24	0,08

3	VB111 10 ¹¹ + baja dosis de quimioterapia	0,47 ± 0,26	0,46
4	VB111 10 ⁹ + baja dosis de quimioterapia	0,53 ± 0,30	0,62
9	Vehículo	1,00 ± 0,20	0,90

Todos los tratamientos produjeron una carga tumoral menor, comparado con el tratamiento con vehículo, tal como se muestra en la figura 1. La figura 1 demuestra que los tratamientos con E11, E9+alta dosis de quimioterapia y E11+alta dosis de quimioterapia mostraron un promedio de carga tumoral menor que los otros grupos de tratamiento.

Se realizaron varias comparaciones estadísticas para la eficacia. Cuando se empleó el método de ANOVA de una vía se observa una carga tumoral mayor estadísticamente significativa para el tratamiento con vehículo ($p < 0,001$) que para todos los demás tratamientos, excepto para la combinación de VB E9+baja dosis de quimioterapia. La carga tumoral fue significativamente menor para el tratamiento con VB-111 1E11 comparado con ambos tratamientos de quimioterapia y con ambos tratamientos de combinación con baja dosis de quimioterapia. Cuando se emplea el ensayo de Mann-Whitney con comparaciones individuales entre dos grupos, la carga tumoral de VB-111 E11 es significativamente menor en todos los grupos, excepto para E9+alta dosis de quimioterapia. E9+alta dosis de quimioterapia es significativamente menor que todos los grupos, excepto por E11, E9 y E11+alta dosis de quimioterapia. La figura 2 muestra el diagrama de recuadros de los datos.

Conclusión

El tratamiento con VB-111 a ambas dosis produjo 100% de supervivencia. La administración de una dosificación baja de quimioterapia produjo una tasa de supervivencia ligeramente inferior (94,1%), que es similar a la observada con la administración de vehículo (93,8%). Sin embargo, la administración de una dosificación mayor de quimioterapia produjo el porcentaje más bajo de supervivencia (50%). Los tratamientos de combinación disminuyeron la supervivencia, comparado con la administración de VB-111 por sí solo (64%-93%).

El peso de los órganos (corazón, riñones y cerebro) fue bastante similar entre los diferentes grupos. Se observaron algunas diferencias entre los grupos en el peso del hígado, bazo y testículos, principalmente un peso mayor para la dosis mayor de VB-111 por sí solo, o las combinaciones con esta dosis.

No se observaron diferencias significativas en la función hepática comparado con el tratamiento con vehículo. En general, la terapia de combinación no produjo toxicidades más altas que las terapias individuales a partir de las cuales se forman.

La combinación de tratamiento con VB111 10⁹+alta dosis de quimioterapia mejora significativamente el efecto, comparado con el tratamiento de alta dosis de quimioterapia por sí solo. Además, mejora el promedio y la mediana de la carga tumoral, comparado con el tratamiento con VB111 10⁹ por sí solo (en 1,5 y 5 veces para el promedio y la mediana, respectivamente), aunque no es estadísticamente significativo. Este efecto puede mostrar significancia estadística cuando se aplique el tratamiento a grupos más grandes.

La combinación de VB111 10⁹+alta dosis de quimioterapia se parece al efecto de reducción en la carga tumoral obtenido con E11, puesto que no existe una diferencia significativa entre estos dos grupos (tal como puede observarse en la gráfica de recuadros y la comparación estadística de Mann-Whitney). Este parecido significativo con VB111 10¹¹ no se obtiene con el tratamiento con VB111 10⁹ por sí solo.

La combinación de VB111 10⁹+alta dosis de quimioterapia puede permitir reducir la dosis de VB-111, al mismo tiempo que conserva su elevada eficacia y mejora la baja eficacia de la quimioterapia solo con carboplatino y Alimta.

Tanto la tasa de supervivencia como la pérdida de peso en el grupo de tratamiento con VB111 10⁹+alta dosis de quimioterapia fueron mejores que para el tratamiento únicamente con alta dosis de quimioterapia: tasa de supervivencia de 64% y 50%, respectivamente; pérdida de peso de 9,7% y 11,6%, respectivamente. No se observaron diferencias entre estos dos grupos para ninguno de los pesos de órganos ensayados.

Ejemplo 3: Administración de la quimera-Ad5PPE-1-3X-Fas en combinación con paclitaxel

Este es un estudio prospectivo, abierto, de aumento de la dosis, multicéntrico (2 centros) de fase I/II para determinar la seguridad y la eficacia de la administración de la quimera-AD5PPE-1-3X-Fas (VB-111) en el entorno clínico. Se controlarán resultados, tales como toxicidad, efectos adversos, titulación de anticuerpos, biodistribución, progresión de la enfermedad y recurrencia de la enfermedad y supervivencia en sujetos con tumores primarios sólidos y metastásicos (tales como cáncer ovárico epitelial recurrente, de trompas de Falopio, peritoneal primario, MMMT y tumores müllerianos serosos papilares) que reciben una infusión intravenosa de una gama de dosis del vector adenovírico de quimera-Ad5PPE-1-3X-Fas en combinación con paclitaxel.

También se evalúa el efecto de VB-111 sobre el desarrollo de anticuerpos contra el vector adenovírico, la respuesta

tumoral y los biomarcadores angiogénicos.

Materiales y métodos experimentales

Objetivos del estudio

5 La hipótesis investigada consiste en saber si VB-111 más paclitaxel administrado cada semana se asociará con una toxicidad aceptable y una tasa de respuesta o beneficio clínico suficiente para garantizar una futura evaluación.

Objetivos principales

1. Definir las toxicidades de un número limitado de dosis de una combinación de VB-111 y paclitaxel semanal que abarca las dosis eficaces previstas.

10 2. Explorar la eficacia (respuesta de RECIST, respuesta de CA-125 y supervivencia sin progresión ("progression-free survival", PFS)) en una cohorte expandida de la dosis óptimamente tolerada de la combinación de VB-111 y paclitaxel semanal.

Objetivo secundario

Explorar los marcadores predictivos de la toxicidad y la respuesta.

Resumen del diseño del estudio y evaluación

15 Este ensayo abierto, en un solo centro de fase I/II combina VB-111 infundido en el día 1 cada 2º ciclo de 28 días con paclitaxel semanal 40-80 mg/m² infundido a lo largo de 1 hora con un programa de día 1, 8, 15 y 22 cada 28 días para determinar si esta combinación puede o no puede mejorar las tasas de respuesta comparada con controles históricos en esta población pretratada. Los pacientes pueden continuar la terapia si aparecen beneficios, y cambiar a descansos programados en la dosificación de paclitaxel para evitar una excesiva neuropatía, pero sin interrumpir las infusiones de VB-111. El ensayo se diseñó con un diseño de Simon de 2 etapas, basado en ≥ 2 respuestas en 10 pacientes, que hará que se realicen más reclutamientos.

Población de sujetos

Se reclutarán sujetos con cáncer ovárico epitelial recurrente, cáncer de trompos de Falopio, cáncer peritoneal primario, MMMT, y tumores müllerianos serosos papilares.

25 *Número de pacientes previstos para ser reclutados*

Basándose en el diseño del estudio, se calcula que son necesarios de 2 a 42 pacientes con cáncer avanzado (máx. 6 por cohorte durante el aumento de la dosis (=18 pacientes), y hasta 29 pacientes en el nivel de dosis MTD para permitir la evaluación de los estudios correlativos/especiales, así como para confirmar la seguridad.

Selección de pacientes

30 Se realiza un diseño de fase I/II para evaluar las tasas de respuesta definidas por criterios RECIST y CA-125 (criterios de Gynecological Cancer Intergroup (GCIg)) y para describir el perfil de seguridad y caracterizar acontecimientos adversos y toxicidades. El estudio de fase I realizará el reclutamiento con un diseño 3+3 para 3 niveles de dosis. El estudio de fase II reclutará hasta 10 pacientes en la primera etapa, que incluyen los participantes en los niveles de dosis 2 y 3 que reciben una quimioterapia de dosis completa. Si aparecen al menos dos respuestas, el reclutamiento continuará con 19 pacientes más en una cohorte de expansión hasta un máximo de 29 participantes. El análisis será eficaz si se puede calcular la tasa de respuesta. Se realizará un análisis de la seguridad durante el proceso, y si aparecen 2 o más perforaciones GI de grado ≥ 3 en la primera etapa o 3 en cualquier momento, el estudio terminará.

Los criterios para la inclusión del sujeto en el grupo de tratamiento son:

- 40 1. Edad del paciente >18.
2. Cáncer ovárico epitelial, peritoneal o de trompas de Falopio, y carcinomas serosos papilares uterinos ("uterine papillary serous carcinomas", UPSC), y MMMT ginecológicos confirmados histológicamente.
3. Se permiten hasta 3 líneas previas de quimioterapia para la enfermedad metastásica.
4. Los pacientes han debido recibir una terapia de platino o basada en platino previa.
- 45 5. Estado 0-1 de Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG).
6. Una enfermedad resistente o refractaria al platino definida como una enfermedad progresiva mediante la formación de imágenes o CA-125 dentro de los 6 meses tras completar o mientras se recibe un régimen que

contiene platino y taxano (primario o secundario, es decir, los pacientes pueden haber recibido un tratamiento basado en platino para una enfermedad sensible al platino recurrente con un posterior intervalo sin recibir platino <6 meses).

- 5 7. Se requiere una enfermedad mensurable o evaluable utilizando RECIST o CA-125 (para estandarizar la elegibilidad, ya que si algunos pacientes son elegibles mediante RECIST y CA-125, la evaluación por RECIST tiene prioridad).
8. Una función adecuada de la médula ósea.
9. Unas funciones hematológicas adecuadas:
- i. ANC $\geq 1000/\text{mm}^3$
- 10 ii. PLT $\geq 100.000/\text{mm}^3$
- iii. PT y PTT (segundos) $< 1,2 \times \text{ULN}$ (los sujetos con PTT $> \text{ULN}$ deben presentar un LAC negativo)
10. Función adecuada de los órganos:
- a. Una neuropatía CTC menor o igual a grado 1.
- b. La radiación previa no debe haber incluido $\geq 30\%$ de las áreas que contienen la parte principal de la médula ósea (pelvis, espina lumbar).
- 15 c. SGOT/SGPT/fosfatasa alcalina $\leq 2,5 \times \text{ULN}$ o $< 5 \times \text{ULN}$ para metástasis hepática documentada.
- d. Bilirrubina $\leq 1,5 \times \text{ULN}$
- e. Creatinina $\leq 1,5 \times \text{ULN}$
- f. Proteinuria $< 2+$ mediante varilla graduada en la selección o UPC (proporción de proteína creatinina urinaria $< 1,0$).
- 20 11. Debe de haberse recuperado de una toxicidad aguda provocada por un tratamiento previo, que incluye una terapia de radiación, quimioterapia, terapia biológica, con la excepción de una neuropatía de grado I o anemia y alopecia de cualquier grado.
12. Un tratamiento previo con un agente antiangiogénico no es un criterio de exclusión.
13. No se observa perforación GI previa ni obstrucción GI o implicación del intestino en imágenes.
- 25 14. No presenta enfermedad psiquiátrica activa y no tratada ni síntomas neurológicos que requieran tratamiento (se permite una neuropatía sensorial de grado I). No hay presencia de metástasis cerebral o del sistema nervioso central no tratada. No presenta demencia ni un estado mental significativamente alterado que impida la comprensión y/o otorgar el consentimiento informado.
- 30 15. No se incluyen pacientes con hipersensibilidad conocida a Cremophor® EL. Sin embargo, se pueden elegir participantes que hayan presentado una reacción previa al paclitaxel, pero que posteriormente toleraron el fármaco cuando se le volvió a suministrar.
16. No hay pruebas de infecciones bacterianas, víricas o fúngicas no controladas.
17. Los pacientes no han debido recibir otra terapia de investigación durante los últimos 30 días antes de la dosificación.
- 35 18. Deben ser competentes para otorgar el consentimiento informado.
- Los criterios para la exclusión del sujeto en el grupo de tratamiento son:
1. Más de 3 líneas previas de quimioterapia para un cáncer recurrente.
2. No presentan malignidad activa, más que de células basales superficiales y células escamosas superficiales, ni carcinoma in situ del cuello uterino en los últimos 2 años. Un paciente diagnosticado con un tumor mülleriano concurrente (generalmente cáncer endometrial) no se excluirá. Los pacientes con cáncer de mama de riesgo bajo (localizado, no inflamatorio) diagnosticados en los últimos 2 años y tratados con intención curativa no se excluirán.
- 40 3. Incapacidad para cumplir con el estudio y/o los procedimientos de seguimiento.

4. Esperanza de vida menor de 3 meses.
5. Un criterio de toxicidad habitual ("Common Toxicity Criteria", CTC) de grado I o neuropatía de grado mayor (motora o sensorial) provocada por una comorbilidad distinta de una exposición previa al taxano, tal como diabetes.
- 5 6. Aunque raramente aplicable, las mujeres sexualmente activas con potencial de embarazo deben emplear un método eficaz de control de natalidad durante el desarrollo del estudio, de modo que se minimice el riesgo de fracaso. Antes de ser reclutadas en el estudio, las mujeres con potencial de embarazo deben ser advertidas de la importancia de evitar el embarazo durante la participación en el estudio y de los factores de riesgo potenciales de un embarazo no deseado. Todas las mujeres con potencial de embarazo deben presentar una prueba de embarazo negativo dentro de 14 días antes de recibir el producto investigado. Si la prueba de embarazo es positiva, el paciente no debe recibir el producto investigado y no debe ser reclutado en el estudio.
- 10 7. Hipertensión controlada de modo inadecuado.
8. Historia anterior de crisis hipertensiva o encefalopatía hipertensiva.
9. Insuficiencia cardíaca congestiva de grado II de New York Heart Association (NYHA) o mayor.
10. Historia de infarto de miocardio o angina inestable en los 6 meses anteriores al día 1 del estudio.
- 15 11. Historia de ictus o ataque isquémico transitorio en los 6 meses anteriores al día 1.
12. Enfermedad de SNC conocida, excepto por metástasis cerebral tratada. La metástasis cerebral tratada se define como sin pruebas de progresión o hemorragia después del tratamiento y sin requisitos de dexametasona en ese momento, determinado mediante examen clínico y formación de imágenes del cerebro (MRI o CT) durante el periodo de selección. Se permiten anticonvulsivos (dosis estable). El tratamiento para la metástasis cerebral puede incluir radioterapia del cerebro completo ("whole brain radiotherapy", WBRT), radiocirugía ("radiosurgery", RS; Gamma Knife, LINAC, o equivalente) o una combinación según sea considerada adecuada por el médico encargado. Los pacientes con metástasis de SNC tratados por extirpación neuroquirúrgica o biopsia del cerebro realizada en los 3 meses anteriores al día 1 deben excluirse.
- 20 13. Una enfermedad vascular significativa (por ejemplo, aneurisma aórtico que requiere reparación quirúrgica o trombosis arterial periférica reciente) en los 6 meses anteriores al día 1.
- 25 14. Historia de of hemoptisis (>½ cucharadita de sangre de color rojo brillante por episodio) en el mes anterior al día 1.
15. Pruebas de diatesis sangrante o coagulopatía significativa (en ausencia de anticoagulación terapéutica).
16. Procedimiento quirúrgico importante, biopsia abierta o lesiones traumáticas significativas en los 28 días anteriores al día 1 o previsión de necesitar un procedimiento quirúrgico importante durante el desarrollo del estudio.
- 30 17. Biopsia nuclear u otros procedimientos quirúrgicos menores, que excluyen la colocación de un dispositivo de acceso vascular, en los 7 días anteriores al día 1.
18. Historia de fístula abdominal o perforación gastrointestinal en los 6 meses anteriores al día 1.
19. Signos y síntomas en ese momento de obstrucción intestinal.
- 35 20. Dependencia en ese momento de hidratación IV o nutrición parenteral total ("total parenteral nutrition", TPN).
21. Herida no curada grave, úlcera activa o fractura de hueso no tratada.
22. Pacientes que han recibido una terapia antiangiogénica en las 4 semanas previas para un TKI o 6 semanas para una terapia basada en anticuerpos o peptidocuerpos.
23. Pacientes con necesidad en ese momento de un tratamiento inmunosupresor, que incluya el uso de ciclosporina, o con una historia de uso crónico de cualquiera de estas medicaciones en las últimas 4 semanas antes del reclutamiento. Se permite una dosis estable (por ejemplo, comenzada al menos 2 semanas antes de la dosificación) de corticosteroides.
- 40

Composición: quimera-Ad5-PPE-1-3X-FAS

45 La quimera-Ad5-PPF-1-3X-FAS (SEQ ID NO:19) es un producto terapéutico génico destructor vascular que consiste en un vector de adenovirus no replicativo (Ad5, con E1 delecionado) que contiene un promotor de pre-proendotelina murino modificado (PPE-1-3x, SEQ ID NO:18) y un transgén de quimera-FAS [FAS y receptor del factor de necrosis tumoral (TNF) humano] (SEQ ID NO:9). Se formula como una disolución de vector estéril y se suministra congelado (por debajo de -65 °C) en viales de un solo uso. Cada vial contiene 1,1 ml de disolución de vector a una titulación vírica específica.

Objetivos de eficacia y farmacodinámica:

Plan de tratamiento

5 Los pacientes se tratarán con quimera-Ad5-PPE-1-3X-FAS en combinación con paclitaxel una vez semanal. La longitud del ciclo será de 28 días. Los pacientes recibirán paclitaxel como una infusión IV de 60 minutos semanal (días 1, 8, 15, y 22), quimera-Ad5-PPE-1-3X-FAS se administrará como una infusión IV en el día 1 de los ciclos impares comenzando con el ciclo 1 y realizada después cada 2 ciclos. El plan de tratamiento se muestra en la figura 3. Los niveles de dosis para la fase I se muestran a continuación en la tabla 10.

Tabla 10 - Niveles de dosis para el componente de la fase I¹

Nivel de dosis	n	Ciclos de VB-111 × Q2 ²	Paclitaxel IV Q7d
1 ³	3-6	3 × 10 ¹² VP	40 mg/m ²
2	3-6 ⁴	3 × 10 ¹² VP	80 mg/m ²
3	3-6	1 × 10 ¹³ VP	80 mg/m ²
Cohorte de expansión	29	MTD	MTD

Notas:

- 10 1. El paso a la fase II se producirá después de haber definido la dosis máxima tolerada ("maximum tolerated dose", MTD) o tras haber completado el nivel de dosis 3.
2. Nótese que la dosis total de partículas de virus de VB-111 para cada nivel de dosis es diferente del mostrado para aquellos sujetos que pesan <50 kg.
- 15 3. Se planea un aumento de la dosis dentro de los sujetos para el nivel de dosis 1. Para los participantes reclutados en el nivel de dosis 1, en el día 1 del ciclo 2, la dosis de paclitaxel puede aumentar hasta 80 mg/m² si esta es la dosis convencional empleada clínicamente. Si 2 participantes presentan toxicidades limitantes de la dosis (DLT) en el nivel de dosis 1, el estudio terminará sin identificar una MTD.
- 20 4. Estos números pueden reflejar la inclusión de: (a) participantes directamente reclutados para el nivel de dosis 2, y (b) participantes del nivel de dosis 1 a los que se les ha aumentado la dosis hasta el nivel de dosis 2 en el día 1 del ciclo 2 para la evaluación de DLT durante el ciclo 3.

Por tanto, los participantes en la cohorte de fase I se reclutarán empleando un diseño 3+3 modificado tal como se muestra en la tabla 11 y como se describe a continuación.

25 Aumento de la dosis desde el nivel de dosis 1 al nivel de dosis 2: Si 2 participantes presentan DLT en el nivel de dosis 1, el estudio terminará sin identificar una MTD. En el nivel de dosis 1 se planea un aumento de la dosis para participantes dentro de los sujetos hasta 80 mg/m² de paclitaxel en el día 1 del ciclo 2, y estos participantes pueden después contarse con el objetivo de evaluar los participantes reclutados para el nivel de dosis 2, aunque la dosificación de VB-111 y paclitaxel concurrente se produzca en el ciclo 3 en el nivel de dosis 1 (es decir, tanto los participantes reclutados para el nivel de dosis 2 como los participantes que reciben el ciclo 3 en el nivel de dosis 1 con un aumento de la dosis de paclitaxel hasta 80 mg/m² se evaluarán de tal modo que, en el nivel de dosis 2, puede haber de 2 a 12 reclutas, y hasta 6 de ellos hayan sido reclutados inicialmente para el nivel de dosis 1 y después se haya aumentado la dosis). Si no aparece DLT en el nivel de dosis 2 después de haber evaluado a 3 participantes (como nuevos reclutas para el nivel de dosis 2 o como sujetos a los que se les ha aumentado la dosis de paclitaxel en el nivel de dosis 1), el estudio podrá reclutar para el nivel de dosis 3. Este plan solo se aplica al aumento de la dosis dentro de los sujetos para el paclitaxel (para minimizar el número de participantes que reciban una dosis de 40 mg/m²) y no se produce un aumento de la dosis de VB-111 dentro de los sujetos.

40 Aumento de la dosis desde el nivel de dosis 2 al nivel de dosis 3: Tras haber reclutado 3 participantes para el nivel de dosis 2 y habiéndolos observado durante 14 días después de la administración inicial de VB-111 sin DLT, pueden reclutarse sujetos para el nivel de dosis 3 (1×10¹³ VP), puesto que al menos 6 participantes habrán recibido una dosis de 3×10¹² VP en los niveles de dosis 1 y 2. La 2ª dosis de VB-111 en el nivel de dosis 3 puede administrarse solo después de que al menos 2 pacientes hayan recibido una dosis de 3×10¹² VP sin DLT. Además, el control de DLT se realizará simultáneamente en estudios de VB-111 de fase I/II paralelos. Los descubrimientos con respecto a la seguridad que surjan de estos estudios se compartirán con este equipo. Si se produce cualquier DLT en el nivel de dosis 3, los participantes pueden continuar el estudio y recibirán otra dosificación de VB-111 (3×10¹² VP) de nivel de dosis 2.

Tabla 11 - Reglas de decisión para el aumento de la dosis

Número de pacientes con DLT a un nivel de dosis concreto	Regla de decisión para el aumento
0 de 3**	Avanzar al siguiente nivel de dosis: **No se permite un aumento de la dosis dentro de los sujetos a menos que se prevea que 3 participantes hayan sido completamente evaluados para DLT a lo largo de 28 días en el nivel de dosis 1. Si tres participantes son reclutados para el estudio en las 4 semanas después de la dosificación inicial y no muestran DLT, el nivel de dosis 2 se abrirá y se reclutarán para el estudio 3 participantes al mismo tiempo que los tres participantes aumentan la dosis hasta el nivel de dosis 2 en la semana 5 (día 1 del ciclo 2). Así, es posible que, si la acumulación es lenta, los participantes en el nivel de dosis 1 no puedan aumentar la dosis en la semana 5 (día 1 del ciclo 2) hasta que haya finalizado la evaluación de DLT del nivel de dosis 1, y aún se retrasará más si aparece DLT en esta cohorte.
1 de 3	Introducir 3 pacientes adicionales: Si 0 de estos 3 participantes adicionales presenta DLT, se avanza hasta el siguiente nivel de dosis. Si 1 o más de estos participantes presentan DLT, entonces se detiene el aumento de la dosis, y la dosis por debajo de esta dosis es la MTD. Si los participantes adicionales entran en el nivel de dosis 1, el estudio terminará sin identificar una MTD.
≥2	Se detiene el aumento de la dosis, y la dosis por debajo de esta dosis es la MTD. Si 2 participantes presentan DLT en el nivel de dosis 1, el estudio terminará sin identificar una MTD.
≤1 de 6 a la dosis más alta administrada	Esta es la MTD y la dosis de fase II recomendada en esta población.

5 Dada la naturaleza nueva del agente, los nuevos participantes se reclutarán secuencialmente con al menos 2 días entre cada persona nueva que comience el estudio. Es posible que no sean dosificados en el mismo día múltiples nuevos participantes del estudio. Completar un ciclo de 28 días de tratamiento será la base para determinar la MTD y las DLT en cada una de las cohortes de dosificación. El grado de toxicidad se evaluará según the Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), versión 4 (disponible como archivo que puede descargarse de internet: <http://ctep.info.nih.gov>).

Definición de toxicidad limitante de la dosis (DLT)

10 La evaluación de las DLT potenciales se producirá durante el primer ciclo (ciclo 1) y también durante el tercer ciclo para los participantes del DL1 (nivel de dosis 1).

Las toxicidades se evaluarán con CTCAE, versión 4.0. La toxicidad limitante de la dosis se define como sigue:

15 1. Un recuento de neutrófilos absolutos de $<0,5 \times 10^9/l$ que dura ≥ 4 días, o un recuento de neutrófilos absolutos $<0,5 \times 10^9/l$ con sepsis, o fiebre de grado 3-4 ($>37,9$ °C ($>100,2$ °F)) que no puede controlarse con facilidad con una medicación antipirética.

2. Un recuento de plaquetas $<10 \times 10^9/l$ durante cualquier duración de tiempo.

20 3. Cualquier otra toxicidad no hematológica y no hepática relacionada con el fármaco de grado ≥ 3 . Esto no incluye náuseas o vómitos de grado ≥ 3 que pueden ser controlados médicamente (si las náuseas y/o los vómitos no pueden controlarse médicamente y aparecen durante el primer ciclo, se considera una DLT) o hipocalcemia, hiponatremia, hipofosfatemia, hipomagnesemia, e hipocalcemia de grado ≥ 3 si pueden corregirse con facilidad, son clínicamente asintomáticas y no vienen acompañadas de complicaciones médicamente significativas (por ejemplo, cambios en ECG).

25 Los acontecimientos de fiebre de grado 3-4 que aparezcan dentro de 24 horas después de la dosificación con VB-111 no se consideran DLT si responden a una terapia sintomática. Los pacientes con toxicidades inaceptables y/o progresión en cualquier momento se retirarán del estudio.

Procedimientos de estudio

Evaluación del pretratamiento:

Un médico evaluará a los pacientes que cumplan con los criterios de elegibilidad. Se consultará la historia y se realizará un examen físico y el registro del peso y los signos vitales y ECG en los 14 días anteriores al comienzo del primer ciclo de tratamiento. Las investigaciones para establecer mediciones de líneas de base, cuando sean pertinentes, se realizarán en los 28 días anteriores al comienzo del primer ciclo de tratamiento.

5 Antes de cualquier dosificación del estudio, en el día 1 de cada ciclo, debe confirmarse la elegibilidad de los sujetos.

Deberán realizarse las siguientes evaluaciones dentro de los 3 días siguientes a D1 (excepto para el ciclo 1, en el que las pruebas sanguíneas pueden comprobarse dentro de los 14 días siguientes al día 1):

10 1. Evaluación clínica: historia médica, examen físico, signos vitales ("Vital Signs", VS) y comprobación del riesgo de sangrado. En otros momentos, la evaluación de los VS puede realizarse según los protocolos institucionales de cuidado.

2. Hematología: recuento sanguíneo completo con diferencial, INR y PTT activado.

15 3. Coagulación: en el caso de prolongarse el tiempo de tromboplastina parcial (PTT) por encima del límite superior al normal (ULN), debe extraerse sangre para el anticoagulante de lupus (LAC). Los pacientes con aPTT prolongado no deben recibir VB-111 hasta que aPTT se normalice. En pacientes que han dado positivo para el anticoagulante de lupus (LAC), se requiere un ensayo negativo antes de repetir la dosis de VB-111. Para ensayos de LAC o de anticuerpos antifosfolípidos ("antiphospholipid antibodies", APLA) positivos persistentes, el ensayo debe repetirse en las 12 semanas siguientes al ensayo positivo inicial.

4. Panel metabólico exhaustivo: incluye electrolitos, ensayos de la función hepática ("liver function tests", LFTS), nitrógeno de urea en sangre ("blood urea nitrogen", BUN)/creatinina (Cr), calcio y magnesio.

20 5. Orina: recogida para análisis habituales.

6. Ensayos de laboratorio específicos de VB-111: se extrae sangre para:

(i) Biodistribución: determinación de los niveles de ADN adenovírico de VB-111 y expresión del transgén.

25 (ii) Biomarcadores: se ensayarán los biomarcadores para la terapia antiangiogénica en muestras de sangre periférica obtenidas de todos los pacientes reclutados en este estudio. El análisis del plasma se realizará para los biomarcadores inflamatorios y angiogénicos en la circulación VEGF, PlGF, sVEGFR1, bFGF, IL-6, IL-8, y TNF- α (empleando placas de ELISA múltiple de Meso-Scale Discovery) y sVEGFR2 y SDF1 α (empleando kits de R&D Systems). Se contarán las células en la circulación sanguínea en muestras frescas empleando un protocolo de citometría de flujo convencional. El tejido de archivo se evaluará para CD31, CD34, VEGFR2, y vWF.

(iii) Marcador tumoral: CA-125

30 (iv) Anticuerpos: niveles de anticuerpos contra el virus AD-5 (incluyendo los anticuerpos neutralizantes).

Infusión del tratamiento del estudio:

El ANC debe ser $\geq 1.000/\text{mm}^3$ y el recuento de plaquetas $\geq 100.000/\text{mm}^3$ antes de la infusión del tratamiento del estudio (paclitaxel o VB-111).

Infusión de paclitaxel:

35 Terapia antiemética: la terapia antiemética puede incluir dexametasona 10 mg i.v., PRN Ativan 0,3-2,0 mg i.v. y/o compazina 10 mg p.o., o perfenazina 4 mg p.o., según los protocolos convencionales institucionales.

La secuencia de administración será de paclitaxel, seguido de VB-111.

El paclitaxel se administrará cada semana a una dosis inicial de 40-80 mg/m² a través de un filtro en línea con una membrana microporosa no mayor de 0,22 micrómetros a lo largo de 60 minutos.

40 Todos los pacientes deben recibir una premedicación antes de la administración de paclitaxel para prevenir reacciones de hipersensibilidad graves. Los pacientes tomarán 20 mg de dexametasona oral la noche anterior al tratamiento y 20 mg la mañana del tratamiento para la primera dosis, y después, si el paclitaxel es bien tolerado, durante la semana 2 solo tomarán una premedicación IV y no oral, y la dosis puede ser disminuida hasta que ya no se tome después de la semana 3. Un régimen de premedicación típico consiste en lo siguiente, administrado 30-60 minutos antes del paclitaxel: 10-20 mg de dexametasona intravenosa (IV), 50 mg IV de difenhidramina (o su equivalente), y 300 mg de cimetidina o 50 mg IV de ranitidina. Como alternativa, los 20 mg IV de famotidina pueden ser sustituidos por una formulación local. La dosis de dexametasona puede aumentar a discreción del investigador si un paciente experimenta una reacción de hipersensibilidad cuando se le administra paclitaxel.

45

Día 1 de los ciclos impares:

Además de los procedimientos mencionados anteriormente, en el D1 de los ciclos impares se realizarán los siguientes procedimientos.

Mediciones tumorales:

- 5 Antes del D1 del ciclo 1 (se permite hasta un mes antes) y después en cada ciclo impar (por ejemplo, los ciclos 1, 3, 5, etc. = cada 8 semanas) hasta la progresión de la enfermedad, se realizarán mediciones tumorales con CT en el pecho, abdomen, y pelvis. La evaluación se realizará antes de la administración del fármaco, hasta 3 días antes de la dosificación.

Infusión del tratamiento del estudio: VB-111

- 10 Se administrará VB-111 en el día 1 de cada ciclo impar hasta la progresión de la enfermedad.

El VB-111 debe administrarse después del paclitaxel. Esto se basa en el paradigma de que el agente investigado debe administrarse en último lugar como precaución de seguridad. No se prevé que existan alteraciones dependientes de la secuencia en la farmacología de los dos agentes. Aunque se prevé que se administre inmediatamente (dentro de 1 hora) después del paclitaxel, puede administrarse más tarde (dentro de 24 horas) si existe recomendación clínica.

- 15 Los pacientes con aPTT prolongado no deben recibir VB-111 hasta que aPTT se normalice. En pacientes que han dado positivo para LAC y/o APLA, se requiere un ensayo negativo antes de repetir la dosis de VB-111. Mientras que el test siga dando positivo no debe administrarse más VB-111. Para ensayos de LAC o APLA positivos persistentes, el ensayo debe repetirse en las 12 semanas siguientes al ensayo positivo inicial.

- 20 Tratamiento antipirético: se administrarán 1000 mg de acetaminofeno antes de la dosificación de VB-111 y PRN acetaminofeno después de la dosificación. En pacientes que desarrollen fiebre de grado 3, o según el criterio del investigador, pueden administrarse 10 mg de dexametasona IV 10 minutos antes de la dosificación en posteriores dosis de VB-111.

- 25 Preparación e infusión de VB-111: tras completar la infusión de paclitaxel se administra VB-111 como una única dosis de 3×10^{12} VP (niveles de dosis 1-2) o 1×10^{13} VP (nivel de dosis 3) a pacientes que están en ayunas o que han tomado solo una comida blanda ligera. Nótese: se sugiere el ayuno para evitar vómitos si el paciente presenta escalofríos significativos en lugar de la fiebre habitual de grado bajo y autolimitante. Este no es un requisito absoluto. La solución final para la administración debe administrarse no más de 60 minutos después de la preparación. Se permite una comida normal 0,5 horas después de la dosificación. Debe administrarse una única infusión intravenosa de VB-111 diluido a las siguientes velocidades:

- 30 1. Para la dosis de 3×10^{12} VP: 1 ml/minuto
2. Para la dosis de 1×10^{13} VP: 1 ml/minuto para los primeros 10 ml, y después 3 ml/minuto para el resto de la infusión.

Observación después de la administración de VB-111

- 35 Los participantes del estudio deben ser observados en la clínica o en el área donde se realiza la infusión durante las primeras 8 horas después de la primera administración y posteriormente si existe recomendación clínica.

Ensayos de laboratorio para la distribución de VB-111

Se recogerán muestras de sangre y de orina para las determinaciones de los niveles de expresión del ADN adenovirico de VB-111 en los siguientes momentos:

- 40 Sangre:
1. 0 (antes de la dosificación)
 2. Al final de la infusión
 3. $3 \pm 0,5$ horas
 4. $6 \pm 0,5$ horas

- 45 Signos vitales:

Se registrarán los signos vitales (presión sanguínea sistólica y diastólica, frecuencia cardíaca periférica, temperatura corporal, tasa de respiración):

ES 2 703 913 T3

1. 0 minutos (justo antes de la dosificación) (intervalo de -15 minutos)
2. 30 minutos después del inicio de la dosificación (intervalo de +/- 15 minutos)
3. 60 minutos después del inicio de la dosificación (intervalo de +/- 15 minutos)
4. 4 horas después del inicio de la dosificación (intervalo de +/- 15 minutos)
- 5 5. 6 horas después del inicio de la dosificación (intervalo de +/- 15 minutos)
6. Cuando aparezca cualquier acontecimiento adverso

Días 8, 15, y 22 de cada ciclo

Se le pedirá a cada paciente que vuelva a la clínica en ayunas para las siguientes evaluaciones:

- 10 1. Signos vitales: presión sanguínea sistólica y diastólica en posición supina, frecuencia cardíaca periférica, temperatura corporal, tasa de respiración.
2. Hematología: recuento sanguíneo completo con diferencial, INR y PTT activado.
3. Coagulación: si es necesario el seguimiento de unos niveles anómalos de PTT.
4. Orina: recogida para análisis habituales.

La sangre para los ensayos de laboratorio se extraerá en el día 8 de los ciclos 1-6. Se extraerá sangre para:

- 15 1. Biodistribución: determinación de los niveles de ADN adenovírico de VB-111 y expresión del transgén (cada 2º ciclo después de la infusión de VB-111)
- 20 2. Biomarcadores: el análisis del plasma se realizará para los biomarcadores inflamatorios y angiogénicos en la circulación VEGF, PIGF, sVEGFR1, bFGF, IL-1 β , IL-6, IL-8, y TNF- α (empleando placas de ELISA múltiplex de Meso-Scale Discovery) y sVEGFR2 y SDF1 α (empleando kits de R&D Systems). Se contarán las células en la circulación sanguínea en muestras frescas empleando un protocolo de citometría de flujo convencional. El tejido de archivo se evaluará para CD31, CD34, VEGFR2, y vWF.
3. Marcador tumoral: CA-125
4. Anticuerpos: niveles de anticuerpos contra el virus (incluyendo los anticuerpos neutralizantes).

25 Nota: es necesario un panel metabólico exhaustivo que incluye electrolitos, LFTS, BUN/Cr, calcio y magnesio en el D1, y los LFT solo en los días 1, 8, 15, 22.

El paclitaxel se administrará como se detalló anteriormente. El ANC debe ser $>1.000/\text{mm}^3$ y el recuento de plaquetas $>100.000/\text{mm}^3$

30 Terapia antiemética: la terapia antiemética puede incluir kitrilo 750 μg i.v. o 1 mg p.o. o zofrán 10 mg i.v. o 8 mg p.o., con dexametasona 10 mg i.v., así como PRN Ativan 0,5-2,0 mg i.v. y/o compazina 10 mg p.o., o perfenazina 4 mg p.o. según los estándares institucionales.

Vista de finalización del estudio

Los sujetos serán dosificados con la terapia de combinación (paclitaxel y VB-111) según el programa de ciclos descrito anteriormente hasta la progresión de la enfermedad.

35 Después de la dosis final con VB-111, se pedirá a cada paciente que vuelva a la clínica para una visita final de seguimiento, realizándose la misma evaluación clínica y extrayéndose las mismas muestras para el laboratorio habituales, y en respuesta a un acontecimiento clínicamente significativo, que se documentará como evaluaciones de laboratorio no programadas. Los acontecimientos adversos y las medicaciones concomitantes deben registrarse del mismo modo que en fases más tempranas del estudio. El sujeto se someterá a un examen físico que será realizado por el médico encargado. Se realizará una ECG.

40 Los pacientes que abandonaron el estudio o mostraron una progresión en la enfermedad serán sometidos a un seguimiento en la clínica o mediante contacto telefónico para evaluar la supervivencia. Sin embargo, tras la progresión de la enfermedad, los datos que describen CA125 y RECIST se mantendrán en los archivos de investigación de la clínica.

Otros procedimientos

45 *Acontecimientos adversos*

5 Deben emplearse medidas de apoyo total en los pacientes con cualquier acontecimiento adverso. Todos los acontecimientos adversos que aparezcan después de la administración del fármaco se documentarán en los formularios de informe del caso ("case report forms", CRF), junto con la intensidad, las medidas terapéuticas aplicadas, el resultado y una evaluación de la relación con el fármaco investigado. Los acontecimientos adversos relacionados se seguirán hasta la resolución. Los acontecimientos adversos no relacionados se seguirán hasta la resolución o el final del estudio.

10 Los efectos secundarios habituales incluyen náuseas, vómitos y pérdida del apetito. El paciente también puede experimentar estreñimiento, deposiciones sueltas o diarrea. Es importante aumentar la ingesta de fluidos si aparece diarrea. Si acaba siendo grave, es posible que el paciente deba hospitalizarse y recibir fluidos intravenosos. La administración de cualquier producto investigado implica un riesgo general de efectos secundarios. Puesto que VB-111 es un producto en investigación, no se conocen todos los efectos secundarios potenciales en seres humanos. El VB-111 puede provocar todos, algunos o ninguno de los efectos secundarios listados a continuación. Los efectos secundarios son trastornos médicos no deseables o un empeoramiento de un trastorno médico preexistente que pueden aparecer cuando un sujeto está participando en un estudio. Además de los posibles efectos adversos listados a continuación, pueden aparecer efectos secundarios inesperados o poco frecuentes, que pueden ser graves o potencialmente mortales, cuando el VB-111 se administra por sí solo o cuando se combina con otras medicaciones. Uno de los objetivos de este estudio es investigar los posibles efectos secundarios de VB-111. El médico del estudio controlará atentamente al paciente durante este estudio y analizará con el paciente cualquier pregunta relacionada con los riesgos, las molestias y los acontecimientos adversos.

20 *Riesgos asociados con VB-111:*

Probables (probabilidad de más del 50% de que aparezcan):

- Síntomas similares a la gripe, tales como fiebre, dolores musculares, fatiga, escalofríos

- Náuseas

- Vómitos

25 Ocasionales (probabilidad de entre 1-10% de que aparezcan):

- Estreñimiento

- Niveles altos anómalos de enzimas producidas por el hígado, lo cual significa que el hígado no está funcionando de modo adecuado y puede provocar fatiga e ictericia (color amarillo en la piel y los ojos). Aunque esto habitualmente tiene un carácter suave y reversible, puede ser grave o potencialmente mortal.

30 - Aumento en el tamaño del bazo que habitualmente no provoca síntomas, pero puede provocar dolor de estómago. Si el bazo se rompe, puede ser potencialmente mortal.

- Aumento en la formación de nuevas células sanguíneas en la médula ósea que puede provocar un aumento en los recuentos de células sanguíneas, pero sin un riesgo aumentado de leucemia

35 - Una reacción alérgica en el sitio en que se administra una inyección, que puede provocar cierto enrojecimiento e hinchamiento

- Sangrado

- Ensayos de coagulación (PTT) anómalos prolongados y desarrollo de ciertos tipos de anticuerpos (anticuerpos antifosfolípidos) que pueden interferir con la coagulación normal de la sangre. Esto puede provocar trombosis (coágulos de sangre) o sangrado que pueden requerir tratamiento y ser graves o potencialmente mortales.

40 - La capacidad de curación de heridas puede verse afectada. Esto puede conducir a infecciones y puede requerir hospitalización.

- Alta presión sanguínea

- Exceso de proteínas en la orina. Este es un descubrimiento que habitualmente se realiza en el laboratorio y es asintomático, y puede provocar retención de fluidos, tal como el hinchamiento de las piernas.

45 - Dolor de cabeza

- Pérdida de apetito y pérdida de peso (anorexia)

- Disminución de los niveles de sodio en la sangre que puede provocar confusión, ataques, fatiga y niveles bajos de conciencia

- Exceso de azúcar en la sangre que, si es grave, puede requerir de hospitalización y un tratamiento urgente

- Mayor sudoración (hiperhidrosis)

Poco frecuentes (probabilidad menor que 1% de que aparezcan):

- Un número bajo de eritrocitos que puede provocar cansancio y falta de aliento. Esto puede requerir una transfusión de sangre.

5 - Un número bajo de plaquetas, que puede provocar sangrado y hematomas. El sangrado puede ser grave o potencialmente mortal, y puede requerir una transfusión de sangre.

- Un aumento suave de los leucocitos (puede aumentar el riesgo de infección)

- Sangrado grave

10 - La función de los riñones puede deteriorarse (insuficiencia renal aguda), lo cual puede requerir tratamiento y puede ser grave o potencialmente mortal.

- Puede desarrollarse un edema cerebral en pacientes con un tumor en el que esté implicado el cerebro (por ejemplo, metástasis cerebral)

- Diarrea

15 - Complicaciones cardíacas (corazón) y de los vasos sanguíneos: ataque al corazón, angina (dolor de pecho), o coágulos sanguíneos (trombosis) que pueden ocluir el suministro de sangre hacia órganos vitales y provocar ictus o daños en otros órganos.

- Insuficiencia cardíaca congestiva: el corazón no es capaz de bombear la sangre de modo adecuado, lo cual puede provocar debilidad y cansancio, retención de fluidos, y acumulación de fluidos en los pulmones, que puede provocar falta de aliento. Esto puede ser grave o potencialmente mortal.

20 *Riesgos asociados con el paclitaxel:*

Probables (probabilidad de más del 50% de que aparezcan):

- Una reacción alérgica de suave a grave que puede ser potencialmente mortal

- Falta de sensibilidad y dolor en las manos y pies que a veces empeora con un tratamiento adicional y puede no desaparecer hasta que se retira el fármaco

25 - Pérdida de pelo

- Dolor en músculos y articulaciones

- Fatiga

Frecuentes (probabilidad de 10-50% de que aparezcan):

- Náuseas y/o vómitos

30 - Diarrea

- Llagas en la boca o garganta

- Mareos

- Dolores de cabeza

- Daños hepáticos

35 - Irritación de la piel e hinchamiento si el fármaco se filtra desde la vena en la que se ha inyectado hacia la piel circundante

- Cambios en el sentido del gusto

- Irritación de la piel en el un sitio de radiación previa

- Sarpullido

40 Ocasionales (probabilidad de entre 1-10% de que aparezcan):

- Inflamación del colon que puede provocar un cambio en los movimientos intestinales

- Inflamación del páncreas que puede provocar dolor abdominal que dura poco tiempo
- Sensación de manchas o luces destellantes
- Daños renales
- Mayor nivel en sangre de una forma de grasa llamada triglicérido (hipertrigliceridemia)

- 5
- Disminución de la frecuencia cardíaca
 - Latidos irregulares

Poco frecuentes (probabilidad menor que 1% de que aparezcan):

- Insuficiencia hepática
- Ataques

- 10
- Confusión, cambios en el estado de ánimo

Riesgos asociados con las biopsias:

Las biopsias normalmente se realizan ayudándose de una técnica de formación de imágenes. Cada procedimiento requiere un consentimiento separado antes de la biopsia. Los riesgos pueden incluir:

- 15
- Dolor y molestias. La cantidad de dolor y molestias puede variar, dependiendo de la localización del sitio de la biopsia. Estos riesgos pueden analizarse con el médico del estudio.
 - Un pequeño sangrado en el sitio de la biopsia.
 - Dolor en el sitio de la biopsia.
 - Formación de cicatrices en el sitio de la biopsia.
 - Con muy poca frecuencia, una infección en el sitio de la biopsia.

- 20
- En ocasiones poco habituales, las complicaciones que pueden surgir de una biopsia pueden ser potencialmente mortales. Como con cualquier otro procedimiento de intervención, pueden producirse otras complicaciones potencialmente graves debido al sangrado o a daños en órganos. Estas pueden requerir otras intervenciones quirúrgicas.

Riesgos asociados con barridos radiológicos y rayos X:

- 25
- Cuando el paciente se encuentra en el estudio de investigación, pueden emplearse barridos de CT para evaluar la enfermedad. La frecuencia de estos exámenes será la habitual. A largo plazo, a lo largo de muchos años, existe un riesgo muy bajo de desarrollar un nuevo cáncer como resultado de la evaluación radiológica y el tratamiento del cáncer. Ciertos tipos de fármacos o combinaciones de estos fármacos con la radiación también pueden aumentar ligeramente el riesgo de desarrollar un nuevo cáncer.

- 30
- Existe un pequeño riesgo cuando se emplea el agente de contraste que se inyecta en la vena durante el barrido. Puede empeorar la función renal en aquellas personas que ya presentan una función renal disminuida. Por tanto, la función renal debe controlarse cuidadosamente durante la participación en este estudio. Si se produce cualquier cambio en la función renal del paciente, este debe retirarse del estudio.

- 35
- De modo poco frecuente, algunas personas presentan reacciones alérgicas (tales como urticaria y picor) frente al agente de contraste. Las reacciones graves (por ejemplo, disminución en la presión sanguínea, dificultad para respirar o reacción alérgica grave y muerte) son muy poco frecuentes.

Riesgos reproductivos:

- 40
- Los fármacos utilizados en este estudio de investigación pueden afectar al feto. Mientras esté participando en este estudio de investigación, es necesario que la paciente no se quede embarazada y no debe amamantar a un bebé. Si la paciente se queda embarazada, debe comunicárselo inmediatamente al médico. Se proporcionarán consejos para evitar embarazos a los hombres o mujeres participantes en el estudio.

Medicaciones concomitantes

- 45
- No existen restricciones acerca de medicaciones concomitantes, más allá de los fármacos listados en los criterios de exclusión. Sin embargo, el VB-111 no debería mezclarse con otros fármacos. Toda la medicación concomitante administrada durante el estudio se documentará desde la línea de base hasta la visita de seguimiento un mes

después de la dosis final. Los fármacos habituales se registrarán con el nombre del producto, indicaciones, dosificación, unidades, frecuencia y fechas de inicio y de terminación. Cualquier medicación concomitante en curso se registrará, y no será necesario que vuelva a registrarse a menos que se indique una fecha de terminación antes del final del estudio.

5 *Regímenes antieméticos*

Se prevé que las náuseas serán un efecto secundario suave. Se sugieren los siguientes regímenes antieméticos representativos: dexametasona 4-8 mg PO, o lorazepam 0,5-1,0 mg, o proclorperazina 10 mg PO, o metoclopramida 10-20 mg, 30 minutos antes de la administración de la quimioterapia.

Aspirina

- 10 Puede comenzarse o continuarse con aspirina a dosis baja (≤ 325 mg/d) en sujetos con mayor riesgo de enfermedad tromboembólica arterial. Los sujetos que desarrollen signos de isquemia arterial o sangrado durante el estudio deben evaluarse por si deberían dejar de tomar el fármaco.

Tratamiento antipirético

- 15 La administración de VB-111 está asociada con fiebre autolimitante que habitualmente dura 24 horas después de la dosificación y, en algunos casos, una fiebre de grado bajo puede extenderse durante hasta 2-3 días después de la dosificación. Se administrarán 1000 mg de acetaminofeno 1-2 horas antes de la dosificación de VB-111, y PRN acetaminofeno después de la dosificación. En pacientes que desarrollen fiebre de grado 3, o según el criterio del investigador, pueden administrarse 10 mg de dexametasona IV 10 minutos antes de la dosificación en posteriores dosis de VB-111.

20 *Otros análisis de laboratorio*

- Las muestras para los análisis de laboratorio extraídas en respuesta a un acontecimiento clínicamente importante serán documentadas como evaluaciones de laboratorio no programadas. Cuando aparezcan valores de laboratorio anómalos clínicamente importantes, los ensayos se seguirán realizando hasta que los valores vuelvan al intervalo normal y/o hasta que se encuentre una explicación adecuada a la anomalía. Estas investigaciones en el laboratorio se realizarán en el sitio de estudio, excepto para las evaluaciones de distribución, que se enviarán a un laboratorio central independiente. Si alguno de estos resultados requiere confirmación, se volverán a realizar los ensayos en el mismo laboratorio hospitalario cuando sea posible. A cada laboratorio hospitalario se le deben proporcionar los certificados de acreditación del laboratorio y los intervalos de referencia normales. Si se extraen muestras con problemas de seguridad en laboratorios locales, se debe intentar por todos los medios obtener certificados de acreditación del laboratorio e intervalos de referencia normales para estos laboratorios.
- 25
- 30

El ECG se realizará en la visita de selección y cada 6 meses o en una visita de abandono temprano.

Duración del estudio

- Cada paciente recibirá paclitaxel semanalmente y VB-111 cada segundo ciclo. Los pacientes participarán en este estudio hasta la progresión de su enfermedad y después solo sus archivos estarán disponibles para la recogida de los detalles de CA125 y RECIST.
- 35

- Los pacientes pueden decidir abandonar el estudio en cualquier momento. El contacto con los pacientes que lo abandonen debe mantenerse y deben ser preguntados acerca de acontecimientos adversos ("adverse effects", AE). Todos los AE, independientemente de que estén relacionados con el fármaco o la enfermedad, serán documentados en el registro y CRF del paciente. Basándose en el perfil de toxicidad de los estudios preclínicos completados hasta la fecha, así como en la especificidad de la expresión del transgén, se considera que un año es el tiempo adecuado para identificar cualquier toxicidad a largo plazo que pueda surgir después del tratamiento. Se contactará con los pacientes que hayan abandonado el estudio o que sufran una progresión de la enfermedad cada 2 meses aproximadamente para los datos de supervivencia.
- 40

Toxicidad limitante de la dosis (solo ciclo n.º 1, 2 y 3)

- 45 Las toxicidades limitantes de la dosis (DLT) se definirán en el primer ciclo del protocolo, y todos los pacientes que alerten sobre alguna definición de DLT durante estos ciclos se retirarán del protocolo. No se permitirán reducciones de la dosis durante el ciclo 1. La DLT se define como >4 días de neutropenia de grado IV ($ANC < 500/mm^3$), fiebre y neutropenia (definidas como una temperatura $>37,9$ °C ($>100,2$ °F) y $ANC < 500/mm^3$), trombocitopenia de grado IV (plaquetas $< 25.000/mm^3$) y toxicidad no hematológica de grado $\geq III$, excluyendo las náuseas y los vómitos de grado III.
- 50

Los acontecimientos de fiebre de grado 3-4 que aparezcan dentro de 24 horas después de la dosificación con VB-111 no se consideran DLT si responden a una terapia sintomática.

Puesto que paclitaxel 80 mg/m² es la dosis clínicamente aceptada para el programa semanal, no está planeado

aumentar esta dosis.

Modificaciones de la dosis - paclitaxel

No puede modificarse la dosis durante el primer ciclo de la fase de aumento de la dosis del estudio.

5 En pacientes con neuropatía sintomática se permite una "semana de descanso" después de analizarlo con el médico del estudio. Se prevé que se permita un programa de dosificación de 3 de 4 semanas, o de 7 de 8 semanas para los ciclos alternantes. Si no puede mantenerse la densidad de dosis en uno de estos programas, el paciente debe retirarse del estudio. Si se realiza una modificación de la dosis en el programa de paclitaxel, no es necesario modificar la dosificación de VB-111 para que sea concordante con los ciclos de paclitaxel.

10 Los participantes pueden mantenerse dentro del estudio con interrupciones en la dosificación de hasta 3 semanas para permitir que se recuperen de la toxicidad o por compromisos sociales.

Nota: después del día 28, tras haber reducido la dosis de un paciente, no se permite aumentar la dosis y el paciente debe continuar con esta dosis durante todos los ciclos posteriores.

Los ajustes de la dosis deben realizarse según el sistema que muestra la mayor toxicidad, clasificada por the Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE-4).

15 En general, las modificaciones de la dosis para la toxicidad hematológica se basarán en recuentos sanguíneos obtenidos dentro de 72 horas del momento del retratamiento, a menos que se indique específicamente lo contrario. La dosificación del paclitaxel se determinará basándose en ANC (tabla 12), el recuento de plaquetas (tabla 13), y la neuropatía (tabla 14).

Tabla 12 - Dosis presemnal para la neutropenia

ANC/fármaco	Paclitaxel
$\geq 1000/\text{mm}^3$	Dosis total
$< 1000/\text{mm}^3$	Detener fármaco
Otra incidencia si ANC $< 1000/\text{mm}^3$	Reducir la dosis a $60 \text{ mg}/\text{m}^2$

20

Tabla 13 - Dosis presemnal para la trombocitopenia

Plaquetas/fármaco	Paclitaxel
$\geq 100,000/\text{mm}^3$ o primera incidencia de $< 100,000/\text{mm}^3$ y $> 75,000/\text{mm}^3$	Dosis total
$< 75,000/\text{mm}^3$	Detener fármaco
Incidencia repetida de plaquetas $< 100,000/\text{mm}^3$ y $> 75,000/\text{mm}^3$	Reducir la dosis a $60 \text{ g}/\text{m}^2$

Tabla 14 - Esquema de reducción de la dosis para la neuropatía sensorial

Neuropatía de grado > 2	
Primera incidencia	1ª reducción de la dosis - paclitaxel $60 \text{ mg}/\text{m}^2$
Segunda incidencia (o persistencia a pesar de la reducción de la dosis)	2ª reducción de la dosis - paclitaxel $40 \text{ mg}/\text{m}^2$
Tercera incidencia (o persistencia a pesar de la reducción de la dosis)	Abandonar el estudio

25 Tras haber reducido la dosis de paclitaxel, no debe volver a aumentarse.

Gestión de la mielosupresión prolongada

Si las plaquetas o los neutrófilos no han podido recuperarse para el día 28, se permitirán 7 días adicionales para la recuperación hematológica. Los pacientes con recuperación incompleta ($ANC < 1.000/mm^3$ o plaquetas $< 100.000/mm^3$) a los 35 días se retirarán del protocolo.

Gestión de la fiebre y la neutropenia

- 5 Los pacientes se gestionarán de la manera habitual para la fiebre y la neutropenia. Los pacientes deben recuperarse de la fiebre y de problemas infecciosos activos antes de reanudar la terapia. A los pacientes que no están recibiendo factores de crecimiento se les añade Neupogen o Neulasta a su siguiente ciclo. A los sujetos con Neupogen 5 ug/kg/día se les aumentará su dosis hasta 10 ug/kg con el mismo programa.

Otras toxicidades y ajustes de la dosis

- 10 No se prevén otras toxicidades en este estudio, aunque son posibles. Los pacientes que desarrollen toxicidades no mucósicas o no hematológicas de grado III o IV asociadas al fármaco que no se resuelvan o mejoren hasta el grado 1 dentro de 7 días del siguiente ciclo se retirarán del protocolo. Los pacientes que desarrollen toxicidades no mucósicas/no hematológicas de grado III o IV graves que se resuelvan o que mejoren hasta el grado 1 dentro de una semana del inicio del siguiente ciclo pueden continuar el ensayo si el paciente está respondiendo a la terapia y las toxicidades del paciente hayan sido evaluadas por el principal investigador.

Las reducciones de la dosis en caso de ensayos defunción hepática anómala son las siguientes:

No se conoce que el paclitaxel provoque toxicidad hepática; sin embargo, su eliminación se retrasa en pacientes con disfunción hepática grave. Por tanto, la dosis de paclitaxel en pacientes con disfunción hepática puede modificarse según la tabla 15.

- 20 Tabla 15 - Dosificación de paclitaxel basándose en los niveles de aspartato aminotransferasa en suero (AST) y alanina aminotransferasa (ALT)

AST en suero, o ALT	Paclitaxel
<3x ULN	80 mg/m ²
≥3x ULN	60 mg/m ²
≥5x ULN	Detener fármaco

- 25 Los pacientes con bilirrubina elevada $> 1,5$ mg/dl no deberían recibir paclitaxel hasta que los valores de laboratorio anómalos mejoren hasta $<$ grado I. El tratamiento debe reanudarse después de la recuperación con paclitaxel a un nivel de dosis menor, según la anterior tabla, y si la toxicidad dura más de 2 semanas se retirarán del estudio. Tras haber reducido la dosis de un paciente no se permite aumentar la dosis y el paciente debe continuar con esta dosis durante todos los ciclos posteriores.

- 30 Los pacientes con aPTT prolongado no deben recibir VB-111 hasta que aPTT se normalice. En pacientes que han dado positivo para el anticoagulante de lupus (LAC) y/o anticuerpos antifosfolípidos (APLA), se requiere un ensayo negativo antes de repetir la dosis de VB-111. Mientras que el test siga dando positivo no debe administrarse más VB-111. Para ensayos de LAC o APLA positivos persistentes, el ensayo debe repetirse en las 12 semanas siguientes al ensayo positivo inicial.

- 35 Los pacientes que desarrollen toxicidades graves que se cree que sean secundarias a su carcinoma ovárico (concretamente, obstrucción intestinal) también se retirarán del protocolo. En la circunstancia poco habitual de que aparezca una toxicidad de 3-4 reversible secundaria al carcinoma y se considere que el paciente se beneficie de una quimioterapia, el médico encargado del tratamiento deberá consultar con el investigador principal del estudio para determinar la continuación potencial en el protocolo tras haberse resuelto la toxicidad.

El siguiente ciclo de tratamiento solo puede comenzar si toda la toxicidad no hematológica se haya resuelto hasta el grado I o mayor.

- 40 Se permiten hasta dos retrasos en la dosis, cada uno de una semana. Si existe una toxicidad persistente, el paciente se retirará del estudio.

Seguridad de los participantes

Se tomarán una serie de medidas para asegurar la seguridad de los pacientes que participan en este ensayo. Estas medidas se tomarán considerando los criterios de exclusión y el control rutinario como sigue.

- 45 Los pacientes que participan en este estudio se evaluarán clínicamente y con ensayos de laboratorio convencionales

antes y a intervalos regularse durante su participación en este estudio. Las evaluaciones de seguridad consistirán en entrevistas médicas, registro de acontecimientos adversos, exámenes físicos, presión sanguínea y mediciones de laboratorio (realizadas por laboratorios locales). Los pacientes se evaluarán para los acontecimientos adversos (todos los grados), acontecimientos adversos graves, y acontecimientos adversos que requieran la interrupción o el abandono del fármaco en cada visita del estudio durante la duración de su participación en el estudio. Los pacientes que abandonen la fase de tratamiento del estudio por cualquier razón se evaluarán aproximadamente 30 días (28-42 días) después de la decisión de abandonar el tratamiento.

Si los pacientes en tratamiento requieren una cirugía mayor electiva, se recomienda que la terapia se detenga durante 2-4 semanas antes del procedimiento quirúrgico.

10 *Criterios de retratamiento*

Los ajustes de la dosis al inicio de un ciclo deben basarse en la toxicidad no hematológica o los recuentos sanguíneos en ese momento. Los pacientes no deben comenzar un nuevo ciclo de tratamiento a menos que el recuento de neutrófilos absoluto sea >1.000 células/mm³, el recuento de plaquetas sea >100.000 células/mm³, y las toxicidades no hematológicas hayan mejorado hasta grado 1 (suaves) o se hayan resuelto.

15 Los pacientes pueden retrasarse hasta tres semanas antes del retratamiento. Si la recuperación de la toxicidad dura más de tres semanas, deben retirarse del estudio.

El tratamiento puede continuar en el escenario de fatiga de grado 2, diarrea, alopecia y náuseas si se considera que la compensación entre toxicidad y beneficio sea ventajosa para el participante y el médico.

Formulación, suministro, conservación y estabilidad del paclitaxel

20 *Paclitaxel (NSC n.º 673089)*

El paclitaxel 40-80 mg/m² se infundirá IV a lo largo de 1 hora el día 1, 8, 15 y 22, siendo un ciclo 28 días. El fármaco se dosificará hasta un máximo de superficie específica corporal ("body surface area", BSA) de 2,0 m², y la BSA se calculará a partir del peso de ese día.

Formulación

25 El paclitaxel se suministra como una disolución no acuosa 6 mg/ml en viales de múltiples dosis que contienen 30 mg/5 ml, 100 mg/16,7 ml, o 300 mg/50 ml de paclitaxel. Además de 6 mg de paclitaxel, cada ml de disolución apirógena estéril contiene 527 mg de Cremophor® EL purificado (aceite de ricino polioxiethylado) y alcohol deshidratado al 49,7% (en v/v), USP.

Conservación

30 Los viales cerrados de paclitaxel son estables hasta la fecha indicada en el envase cuando se conservan entre 20 a 25 °C (68 a 77 °F). Deben protegerse de la luz.

Preparación

35 El paclitaxel se diluirá antes de la infusión. El paclitaxel se diluirá en cloruro de sodio para inyección al 0,9%, USP; dextrosa para inyección al 5%, USP; dextrosa al 5% y cloruro de sodio al 0,9% para inyección, USP; o dextrosa al 5% en disolución de Ringer para inyección hasta una concentración final de 0,3 a 1,2 mg/ml. Las disoluciones son física y químicamente estables durante hasta 27 horas a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C/77 °F) y condiciones de luz ambiental. Para minimizar la exposición del paciente al plastificante DEHP, que puede filtrarse de los estuches o las bolsas de infusión de PVC, las disoluciones de paclitaxel diluidas deben conservarse en botellas (de vidrio, de polipropileno) o bolsas de plástico (polipropileno, poliolefina) y administrarse a través de estuches de administración revestidos con polietileno.

Administración

El paclitaxel se administrará a través de un filtro en línea con una membrana microporosa no mayor de 0,22 micrómetros. El uso de dispositivos de filtro, tales como IVEX-2® o IVEX-HP®, que incorporan tubos revestidos de PVC de entrada y de salida cortos, no ha producido una filtración significativa de DEHP.

45 *Premedicación*

50 Todos los pacientes serán premedicados con corticosteroides, difenhidramina, y antagonistas de H₂ antes de la primera administración de paclitaxel para prevenir reacciones de hipersensibilidad graves. Puede ser necesario que los pacientes que sufran reacciones de hipersensibilidad graves al fármaco repitan la premedicación y vuelvan a recibir una disolución diluida y una infusión lenta. Para reacciones de hipersensibilidad graves al paclitaxel, no es necesario volver a recibirlo. Cuando el fármaco es bien tolerado o se haya establecido una tolerancia al Cremophor, puede retirarse progresivamente la dexametasona oral. Puede que no haya que sustituir al docetaxel.

Acontecimientos adversos: consultar el inserto en el envase para obtener una información completa y más actualizada.

Suministrador: disponible en el mercado en Bristol-Myers Squibb Oncology, así como en fabricantes de genéricos. Consúltense la guía American Hospital Formulary Service Drug Information Guide, Facts and Comparisons, o el inserto en el envase para más información.

5

VB-111

Descripción

Los viales del fármaco del estudio se suministrarán para cada dosis para sujetos en crioviales de 1,8 ml etiquetados (polipropileno). Cada criovial contiene un volumen de 1,1 ml (10^{12} vp/ml).

10 **Formulación**

El VB-111 se formula como una disolución de vector estéril. La disolución se suministra congelada (por debajo de 65 °C) en viales de tapón de rosca de plástico de un solo uso. Cada vial contiene 1,1 ml del vector a una titulación vírica de 10^{12} vp/ml y vehículo (glicerol al 10% en disolución salina tamponada con fosfato). La disolución del vector debe descongelarse y mantenerse a 2-8 °C durante la dilución y la manipulación.

15 **Estabilidad y conservación**

Se están realizando estudios de estabilidad de VB-111 y, hasta la fecha, han indicado una caducidad de 30 meses por debajo de 65 °C. Los viales abiertos y/o diluidos no deben reutilizarse. Los viales de VB-111 deben conservarse en viales cerrados congelados (por debajo de 65 °C), protegidos de la luz.

Preparación

20 El VB-111 se preparará como se muestra en la tabla 16.

Tabla 16 - Preparación de VB-111

Dosis	Concentración en el vial (VP/ml)	Volumen de VB-111 en el tubo	n.º de viales de VB-111	Tomar este volumen de VB-111 (ml)	Tipo de jeringa para VB-111	Volumen de disolución salina	Tipo de jeringa para la disolución salina	Volumen total preparado	Volumen a inyectar para un sujeto con peso ≥ 50 kg	Volumen a inyectar para un sujeto con peso < 50 kg
3x10¹² VP, niveles de dosis 1+2	10^{12}	1,1 ml	3	3 ml, 3 x 1 ml	3 ml	12 ml (2 x 6 ml)	2 x 10 ml	15 ml	volumen completo (15 ml)	10,5 ml
1x10¹³ VP, nivel de dosis 3	10^{12}	1,1 ml	10	10 x 1 ml	10 ml	40 ml	*	50 ml	volumen completo (50 ml)	35 ml

* El farmacéutico puede usar una bolsa vacía estéril y añadir individualmente 40 ml de NS + 10 ml de VB-111 a la bolsa, o el farmacéutico puede usar una bolsa de 50 ml de NS y retirar el exceso de volumen y después añadir VB-111. Ambas formas son aceptables en la práctica farmacéutica.

25 El proceso completo de preparación del fármaco debe realizarse a temperatura ambiente en una cámara BSC de tipo II. Después de descongelar, el fármaco puede mantenerse hasta 3 horas en agua helada durante las preparaciones.

El fármaco se diluye en disolución salina a temperatura ambiente.

30 La preparación del fármaco y la inyección del fármaco deben completarse en el menor tiempo posible, no mayor de 1 hora.

El farmacéutico que prepare el fármaco verificará que la información en el recipiente es adecuada para el estudio y para el sujeto: nombre del producto, concentración, número de lote.

35 Se coloca el volumen necesario de disolución salina (que esté a temperatura ambiente) en un tubo de plástico estéril. Se descongelan los viales de disolución de VB-111 frotándolos entre las manos enguantadas. Inmediatamente se extrae 1 ml de VB-111 de cada uno de los crioviales previstos para el sujeto específico. Se emplea una nueva jeringa para cada 1 ml de VB-111. Se añade VB-111 al tubo de plástico que contiene la

- 5 disolución salina preparada anteriormente. Se mezcla el fármaco diluido agitando el contenido a mano. Se determina el volumen que se va a aplicar según el peso del paciente y se extrae el volumen requerido para la inyección hacia la jeringa para la administración (véase la tabla 16). Después de completar la preparación, se realiza un proceso de reconciliación: se comprueba que se ha usado el número correcto de viales fuente y que el volumen que queda en los tubos es aproximadamente el esperado, y se completa la documentación de responsabilidad del fármaco. Después de la preparación de la disolución de fármaco, se limpia el área de la formulación del fármaco en la farmacia según procedimientos farmacéuticos.

Infusión

- 10 1. Debe administrarse una única infusión intravenosa de VB-111 diluido a través de una bomba de jeringa según las siguientes instrucciones:
- a. Niveles de dosis 1-2: deben administrarse 3×10^{12} VP (15 o 10,5 ml dependiendo del peso del sujeto) a una velocidad de 1 ml/minuto
- b. Nivel de dosis 3: 1×10^{13} VP (50 o 35 ml dependiendo del peso del sujeto)
- i. La infusión debe administrarse a la siguiente velocidad:
- 15 1. 1 ml/minuto para los primeros 10 minutos
2. 3 ml/minuto para el resto del volumen de la infusión

Puede proporcionarse una comida normal al sujeto 30 minutos después de completar la dosificación.

Abandono del sujeto

Los sujetos que cumplan los siguientes criterios deben abandonar el tratamiento del estudio:

- 20 1. Neuropatía de grado 3 que dura >7 días
2. Hipertensión de grado 4 o hipertensión de grado 3 no controlada con medicación
3. Síndrome nefrótico
4. Hemorragia del SNC o pulmonar de grado ≥ 2 ; cualquier hemorragia de grado 4
5. Un acontecimiento tromboembólico arterial de cualquier grado
- 25 6. Insuficiencia cardíaca congestiva de grado 4
7. Perforación gastrointestinal
8. Fístulas de cualquier grado
9. Obstrucción intestinal de cualquier grado
10. Dehiscencia de heridas que requieran de intervención médica o quirúrgica
- 30 11. Desgana o incapacidad del sujeto para cumplir con los requisitos del estudio
12. Determinación por parte del investigador de que ya no es seguro que el sujeto continúe con la terapia
13. Todos los acontecimientos de grado 4 que el investigador crea que están relacionados con el tratamiento del estudio

Contraindicaciones

- 35 La medicación del estudio está contraindicada en pacientes que tengan una historia anterior conocida y grave (NCI CTC de grado 3/grado 4) de reacción de hipersensibilidad a un fármaco formulado en Cremophor®EL (aceite de ricino polioxiethylado).

Ensayos y procedimientos clínicos

- 40 Se realizará una serie de procedimientos y ensayos clínicos a intervalos especificados a lo largo del estudio según la tabla 17.

Tabla 17 - Ensayos y procedimientos clínicos

	Selección	Tratamiento		Seguimiento
Evaluación	Línea de base ^a	D1 de cada ciclo	Días 8, 15, 22	Finalización del estudio ⁱ
Criterios de inclusión/exclusión	X			
Consentimiento informado	X			
Historia médica: signos vitales (incluyendo BP, HR, peso) [#]	X	X	X	X
Toxicidad		X	X	X
Examen físico	X	X		X
Estado de actuación	X	X		X
CBC dif. ^b	X	X	X	X
Panel metabólico exhaustivo ^b	X	X	solo LFT	X
Análisis de orina ^d	X	X	X	X
Coagulación ^e	X	X		X
EKG	X			X
Biodistribución		X* (solo ciclos impares)	X*	X
Respuesta tumoral ^f	X	ciclos q2 ^c		
Anticuerpos Ad-5		X* (solo ciclos impares)	X [^]	X
Ciencia correlativa/biomarcadores ^g	X	ciclo 1, 2 y después solo ciclos impares	ciclo 1, día 8 para los ciclos 2-6	
Biopsia opcional del tumor ^h				X ^h
CA-125	X	X		X
Dosis de paclitaxel		X	X	
Dosis de VB-111		solo ciclos impares		

* Muestras que se recogen en los días de dosificación de VB-111 (cada ciclo alterno) antes de la dosificación, al final de la infusión, 6 horas después de la dosificación, y en el día 8 de ese ciclo (ciclos impares).

[^] Muestras que se recogen antes de la dosificación.

5 [#] Signos vitales que se controlan en los días de dosificación de VB-111 antes de la dosificación, y 30 minutos, 60 minutos, 4 horas y 6 horas después de la dosificación.

^a Todos los exámenes físicos, ensayos sanguíneos y análisis de orina deben realizarse dentro de los 14 días anteriores al registro. La evaluación radiológica de los tumores debe realizarse dentro de las 4 semanas anteriores al registro.

10 ^b La sangre puede extraerse dentro de 3 días de D1, 8, 15, 22 de todos los ciclos posteriores. CBC dif.: CBC con diferencial y plaquetas; el panel metabólico exhaustivo incluye electrolitos, LFT, BUN/Cr, calcio y magnesio. Solo son necesarios LFT y un CBC dif. en los días 8, 15, 22.

^c Se prevé que la respuesta tumoral se evaluará en 2 ciclos.

15 ^d Si aparece una nueva proteinuria o la proteinuria aumenta, puede ser necesaria orina a 24 hr. La varilla graduada +2 requiere una recolección a 24 horas, pero la varilla graduada +3 requiere una detención del fármaco del estudio y

una recolección a 24 horas. El análisis de orina se obtendrá en D1, D8, D15, D22, y según sea indicado clínicamente, puesto que la proteinuria no ha sido una característica de la dosificación con VB-111.

5 ^e La sangre puede extraerse dentro de 3 días de D1 de cada ciclo para PT, PTT. En el caso de que PTT se prolongue por encima de ULN, debe extraerse sangre para el anticoagulante del lupus (LAC) y para anticuerpos antifosfolípidos (IgG e IgM para beta-2-GP-1 y anticardiolipina).

^f La evaluación tumoral puede realizarse según los protocolos convencionales institucionales, tales como las evaluaciones de la respuesta tumoral: CT, MRI, etc. NOTA: La evaluación tumoral se programa para que se haga a intervalos regulares (cada 8 semanas), que generalmente coincidirán con cada 2 ciclos, pero a un intervalo fijado que permita una evaluación más limpia de PFS, el criterio de evaluación principal.

10 ^g Se recolectarán biomarcadores específicos antes de la dosificación en el día 1 del ciclo 1 y en los días 8, 15, 22 del ciclo 1, el día 1 del ciclo 2, el día 1 del ciclo 3 antes de la dosificación y posteriormente cada 2 ciclos hasta la progresión de la enfermedad.

15 ^h La adquisición de tejidos no es una parte obligatoria del estudio, sino que es opcional con un presupuesto para cubrir biopsias o paracentesis no clínicamente indicadas para obtener muestras. No hay un momento específico para realizarlas. Véase la sección de recolección de tejidos a continuación.

ⁱ Los datos de finalización del estudio deben completarse dentro de una semana a 30 días desde la última dosis de la medicación del estudio. Después, los datos de supervivencia pueden recogerse mediante llamadas telefónicas.

Evaluaciones de eficacia y seguridad

Criterios de RECIST

20 La respuesta tumoral se evaluará empleando los criterios de RECIST 1.1 en la línea de base y después cada ciclo alterno, es decir, después de los ciclos 2, 4, 6, etc. Si los pacientes continúan con paclitaxel se continuará la evaluación formal. Tumor Metrics realizará una evaluación independiente de la formación de las imágenes.

Medición del tumor

25 Enfermedad mensurable: presencia de al menos una lesión mensurable. Si la enfermedad mensurable se limita a una lesión solitaria, debe confirmarse su naturaleza neoplásica mediante citología/histología.

Lesiones mensurables

Son lesiones que pueden medirse con precisión en al menos una dimensión, siendo el diámetro más largo >2,0 cm. Con un barrido de CT en espiral, la lesión debe tener >1,0 cm en al menos una dimensión y, para nódulos linfáticos, el diámetro más corto debe ser >1,5 cm.

30 *Lesiones no mensurables*

35 Son todas las demás lesiones, incluyendo lesiones pequeñas (diámetro más largo <2,0 cm con técnicas convencionales o <1,0 cm con barridos de CT en espiral) y otras lesiones no mensurables. Estas incluyen lesiones óseas; enfermedad leptomenigeal; fluido de ascitis; efusión pleural/pericárdica; enfermedad del pecho inflamatoria; linfangitis cutánea/pulmonar; masas abdominales que no están confirmadas ni seguidas mediante técnicas de formación de imágenes; y lesiones quísticas.

Todas las mediciones deben registrarse en anotación métrica, empleando una regla o calibradores. Todas las evaluaciones de la línea de base deben realizarse en un momento lo más cercano posible al inicio del tratamiento y nunca después de 4 semanas antes del inicio del tratamiento.

40 Debe usarse el mismo método de evaluación y la misma técnica para caracterizar cada lesión identificada e informada en la línea de base y durante el seguimiento.

Las lesiones clínicas solo se considerarán mensurables cuando sean superficiales (por ejemplo, nódulos de la piel, nódulos linfáticos palpables). Para el caso de lesiones de la piel, se recomienda documentarlas mediante fotografías a color que incluyan una regla para calcular el tamaño de las lesiones.

Documentación en la línea de base de lesiones diana y no diana

45 Todas las lesiones mensurables hasta un máximo de 5 lesiones representativas de cada órgano implicado deben identificarse como lesiones diana y serán registradas y medidas en la línea de base.

Las lesiones diana deben seleccionarse basándose en su tamaño (las lesiones con el diámetro más largo) y su idoneidad para poder hacer mediciones repetitivas precisas (mediante técnicas de formación de imágenes o clínicamente).

Se calcula la suma del diámetro más largo ("longest diameter", LD) para todas las lesiones diana y se indica como la suma de LD en la línea de base. La suma de LD en la línea de base se utilizará como referencia para caracterizar mejor la respuesta tumoral objetiva de la dimensión mensurable de la enfermedad.

- 5 Todas las otras lesiones (o sitios de enfermedad) deben identificarse como lesiones no diana y también deben registrarse en la línea de base. No se requieren mediciones y estas lesiones deben seguirse como "presentes" o "ausentes".

Criterios de respuesta

Evaluación de las lesiones diana:

- Respuesta completa ("complete response", CR): desaparición de todas las lesiones diana.
- 10 - Respuesta parcial ("partial response", PR): una disminución de al menos 30% en la suma de los LD de las lesiones diana, tomando como referencia la suma de LD en la línea de base.
- Progresión (PD): un aumento de al menos 20% en la suma de los LD de las lesiones diana, tomando como referencia la suma más baja de LD registrados desde que comenzó el tratamiento o la aparición de una o más lesiones nuevas.
- 15 - Enfermedad estable ("stable disease", SD): no se produce un encogimiento suficiente para clasificarlo como PR ni se produce un aumento suficiente para clasificarlo como PD, tomando como referencias la suma más baja de LD desde que comenzó el tratamiento.

Evaluación de las lesiones no diana:

- 20 - Respuesta completa (CR): desaparición de todas las lesiones diana y normalización del nivel de marcadores tumorales.
- Respuesta no completa (no CR)/persistencia sin progresión (no PD) de una o más lesiones no diana y/o mantenimiento del nivel de marcadores tumorales por encima de los límites normales.
- Enfermedad progresiva ("progressive disease", PD): aparición de una o más lesiones nuevas. Progresión inequívoca de las lesiones no diana existentes. Aunque una progresión clara de lesiones no diana solo es excepcional, en estas circunstancias la opinión del médico encargado del tratamiento debe prevalecer, y el estado de progresión debe confirmarse más tarde por un panel de revisión (o el investigador principal/director del estudio).
- 25

Evaluación de la mejor respuesta global

- 30 La mejor respuesta global es la mejor respuesta registrada desde el inicio del tratamiento hasta la progresión/recurrencia de la enfermedad (tomando como referencia para la enfermedad progresiva las mediciones más bajas registradas desde que comenzó el tratamiento). En general, la asignación de la mejor respuesta del paciente depende del cumplimiento de los criterios de medición y de confirmación, tal como se muestra en la tabla 18.

Tabla 18 - Respuestas globales de pacientes basadas en la medición de lesiones diana, no diana y nuevas

Lesiones diana	Lesiones no diana	Lesiones nuevas	Respuesta global
CR	CR	No	CR
CR	no CR/no PD	No	PR
PR	no PD	No	PR
SD	no PD	No	SD
PD	ninguna	Sí o No	PD
ninguna	PD	Sí o No	PD
ninguna	ninguna	Sí	PD

- 35 Los pacientes con un deterioro global del estado de salud que haga necesario abandonar el tratamiento sin pruebas objetivas de progresión de la enfermedad en ese momento se indicarán como "deterioro clínico". Se debe intentar por cualquier medio documentar la progresión objetiva incluso después de abandonar el tratamiento.

En algunas circunstancias puede ser difícil distinguir la enfermedad residual del tejido normal. Cuando la evaluación de la respuesta completa depende de esta determinación, se recomienda que la lesión residual se investigue (aspirado con una aguja fina/biopsia) antes de confirmar el estado de respuesta completa.

5 Confirmación: para poder asignar un estado de respuesta parcial (PR) o respuesta completa (CR), deben confirmarse cambios en las mediciones tumorales por medio de estudios repetidos que deben realizarse no menos de 4 semanas después de que se haya cumplido por primera vez el criterio de la respuesta. En el caso de SD, es necesario que las mediciones de seguimiento cumplan los criterios de SD al menos una vez después de entrar en el estudio a un intervalo mínimo de 6-8 semanas.

10 Criterio de Rustin: si solo puede evaluarse CA125 (mayor que 35 U/ml), la respuesta se definirá según GCIG en lugar de con el criterio de Rustin.

15 Definición de la respuesta de CA125 GCIG: se produce una respuesta según CA125 si existe una reducción de al menos 50% en los niveles de CA125 en una muestra de pretratamiento. La respuesta debe confirmarse y mantenerse durante al menos 28 días. Los pacientes pueden evaluarse según CA125 solo si presentan una muestra de pretratamiento que se encuentra por encima de al menos el doble del límite normal y dentro de las 2 semanas anteriores al inicio del tratamiento.

Se produce una progresión según CA125 si existe un aumento confirmado (documentado en dos ocasiones) de CA125 o un nivel de CA125 previamente normal aumenta a $\geq 2 \times \text{ULN}$ documentado en dos ocasiones.

Acontecimientos adversos previstos

20 El VB-111 ha provocado una toxicidad mínima en estudios de toxicología previos en ratones. Se observó una anemia suave, una trombocitopenia suave, una leucocitosis suave, esplenomegalia, e hiperplasia de médula ósea. También se observaron unos aumentos transitorios de las enzimas hepáticas sin correlación con la patología clínica. La administración de vectores de adenovirus sistémicamente ha sido bien tolerada. Los síntomas similares a la gripe (fiebre, fatiga, escalofríos náuseas y/o vómitos) son los acontecimientos adversos más habituales. Se observó una
25 prolongación asintomática de aPTT y LAC positivo en varios pacientes que participaban en ensayos de fase I/II. Además, se indicó un único caso de diarrea grave en un paciente de fase II. La mayoría de los adeno-VP inyectados por vía intravenosa fueron secuestrados por el hígado que, a su vez, provoca una respuesta inflamatoria caracterizada por una transaminitis aguda y daños vasculares. Los efectos adversos más importantes de los agentes antiangiogénicos han sido trastornos de curación de heridas, sangrado, acontecimientos tromboembólicos y cardiovasculares, hipertensión y proteinuria.

30 *Estudios correlativos*

Distribución

35 Para la evaluación de la distribución se recogerán muestras de sangre de todos los pacientes según el apéndice I. Se realizarán ensayos de estas muestras para la determinación del nivel de transgén VB-111 y adenovirus en el grupo de dosis máxima tolerada o en la cohorte de dosis mayor. La distribución se evaluará mediante la determinación de los niveles de ADN vírico y transgén mediante Q-PCR y Q-RT-PCR, respectivamente, en la sangre en momentos predeterminados después de la dosificación. Se recogerán muestras de todos los pacientes en momentos predefinidos. El ensayo se realizará en muestras procedentes de pacientes, comenzando con las dosis más altas y continuando con las dosis menores. Las muestras en que no aparezcan niveles detectables de ADN vírico después de la dosificación no se ensayarán para los niveles del transgén y no se evaluarán para momentos
40 posteriores.

Anticuerpos

Se recogerán muestras de suero para el análisis de los niveles de anticuerpos (anticuerpos neutralizantes e IgG totales) contra el adenovirus.

Biomarcadores angiogénicos

45 Hasta la fecha, no existen biomarcadores para la terapia antiangiogénica, pero se han identificado varios candidatos a biomarcadores [Jain, 2009]. Estos se ensayarán en muestras de sangre periférica obtenidas de todos los pacientes reclutados en este estudio. El análisis del plasma se realizará para los biomarcadores inflamatorios y angiogénicos en la circulación VEGF, PIGF, sVEGFR1, bFGF, IL-1 β , IL-6, IL-8, y TNF- α (empleando placas de ELISA múltiple de Meso-Scale Discovery) y sVEGFR2 y SDF1 α (empleando kits de R&D Systems), con muestras
50 ensayadas por duplicado empleando protocolos establecidos [Horowitz Clinical Ovarian Cancer, 2011, en imprenta]. Se contarán las células en la circulación sanguínea en muestras frescas empleando un protocolo de citometría de flujo convencional. El criterio de valoración del análisis cuantitativo es el cambio en la fracción de CPC CD34brightCD45dim o células monocíticas-VEGPR2+CD45 en la circulación entre las células mononucleares sanguíneas después del tratamiento, como se ha descrito previamente (Horowitz Clinical Ovarian Cancer, 2011, en imprenta). El tejido de archivo se evaluará para CD31, CD34, VEGFR2, y vWp.
55

Recogida de tejido

La adquisición de tejidos no es una parte obligatoria del estudio, sino que es opcional con un presupuesto para cubrir biopsias o paracentesis no clínicamente indicadas para obtener muestras. No hay un momento específico para realizarlas. Se considera que el momento óptimo es de uno o dos meses después de la primera dosis de VB-111. Se prevé que 20-50% de los participantes puedan presentar áreas adecuadas para realizar una biopsia segura o fluido de ascitis susceptible a una paracentesis.

Descripción de los métodos estadísticos

La MTD de VB-111 se determinará empleando un diseño de “3+3” convencional, es decir, 3 pacientes se tratarán inicialmente con un nivel de dosis concreto. Si más de un paciente presenta DLT, se detendrá el incremento y el siguiente nivel de dosis menor se aceptará como la MTD. Si no se producen DLT, comenzará a administrarse el siguiente nivel de dosis mayor. Si aparece una DLT entrarán 3 pacientes adicionales a ese nivel de dosis. El VB-111 aumentará hasta el siguiente nivel mayor si ninguno de estos 3 pacientes muestra DLT. Sin embargo, si uno o más pacientes presentan dicho acontecimiento, se detendrá el aumento de la dosis y la MTD se definirá como el siguiente nivel de dosis menor. Con este esquema de aumento de la dosis, la tabla 19 indica la probabilidad de aumento hasta el siguiente nivel de dosis mayor para una diversidad de hipótesis subyacentes a las tasas de toxicidad.

Tabla 19 - Probabilidad de aumento de la dosis de VB-111 basándose en DLT

Tasa real de DLT	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%
Probabilidad de aumento	0,91	0,71	0,49	0,31	0,17	0,08	0,03

Tal como puede observarse de la tabla 19, existe una probabilidad >71% de aumentar la dosis de la combinación si el riesgo subyacente de DLT es <20%, y una probabilidad de aumento >91% si el riesgo subyacente es <10%. Por contraste, existe una probabilidad máxima de aumento del 17% si el riesgo de DLT subyacente es >50%, y una probabilidad del <8% si el riesgo es >60%.

La evaluación de la respuesta objetiva principalmente será descriptiva. En general, se calculará la tasa de respuesta global y el correspondiente intervalo de confianza del 95%.

El aspecto de fase II del diseño evaluará las tasas de respuesta definidas por criterios RECIST o CA-125 (GCIG, no criterios de Rustin) y describirá el perfil de seguridad y caracterizará acontecimientos adversos y toxicidades. Se elegirá el 30% como tasa de respuesta diana, basándose en respuestas publicadas de agentes químicos y antiangiogénicos en combinación en pacientes con cáncer ovárico recurrente, generalmente en el intervalo del 20-25%.

El diseño será un diseño óptimo en dos etapas, en el que se reclutarán 10 pacientes iniciales durante la etapa I. Estos incluirán participantes que comiencen a una dosis de paclitaxel de 80 mg/m² en la fase I (es decir, los participantes en los niveles de dosis 2 u 3). Con un intervalo de dos a seis pacientes reclutados de las cohortes de DL-2 y 3 de la parte de la fase I del estudio, se reclutarán otros ocho a cuatro participantes en la primera etapa de la fase II antes de un análisis interno de la eficacia. Si no se observa respuesta, entonces el ensayo detendrá el reclutamiento. Pero si existen dos o más respuestas, estos 19 participantes adicionales se reclutarán (concretamente, un posible máximo total = 29) en la fase II (por tanto, el total para el estudio completo serán 2-18 para la fase I, que se solapan con 0-29 para la fase II). Si se producen cinco o menos respuestas, entonces no se garantiza la futura investigación de esta terapia.

Si RR verdadero ≤10%, la probabilidad de finalizar el ensayo durante la etapa I es de al menos 74%. Si RR verdadero ≥30%, la probabilidad de finalizar el ensayo durante la etapa I es ≤15%. La potencia del análisis final es del 80% para rechazar H₀: RR≤10% en favor de H₁: RR≥30% a una tasa de erro de tipo 1 diana de 5%.

El ensayo terminará si se observan más de 2 perforaciones GI de grado IV durante la etapa I. Si se producen 3 perforaciones GI en cualquier momento, entonces se finalizará este ensayo. Suponiendo una tasa de perforaciones GI verdaderas del 4%, la probabilidad de observar más de 2 acontecimientos durante la etapa I es del 6,2%, y la probabilidad de observar más de 3 en el ensayo completo es del 2,7%.

Los datos cuantitativos y semicuantitativos, tales como los datos de IHC, se considerarán datos piloto preliminares, empleando estadísticas descriptivas y análisis no paramétricos que intentan explorar las correlaciones, considerando que estos tamaños de muestras carecen de la potencia suficiente como para extraer conclusiones definitivas, aunque la ventaja de utilizar el mismo conjunto de análisis en múltiples estudios permitirá evaluar los predictores potencialmente más útiles de la eficacia y la toxicidad.

Biomarcadores

Se emplearán métodos principalmente no paramétricos (por ejemplo, ensayo de rangos señalados de Wilcoxon o de suma de rangos) para evaluar el impacto de VB-111 sobre CEC, y mediciones correlativas/predictivas. Todos los ensayos de significancia estadística serán bilaterales y no se realizarán ajustes para múltiples comparaciones.

5 *Nivel de significancia*

Se calcularán los intervalos de confianza al nivel (bilateral) de 95% de confianza.

Ensayos de laboratorio

Análisis de los biomarcadores de la angiogénesis (local)

10 El análisis del plasma se realizará para los biomarcadores inflamatorios y angiogénicos en la circulación VEGF, PIGF, sVEGFR1, bFGF, IL-1 β , IL-6, IL-8, y TNF- α (empleando placas de ELISA múltiplex de Meso-Scale Discovery) y sVEGFR2 y SDF1 α (empleando kits de R&D Systems). Se contarán las células en la circulación sanguínea en muestras frescas empleando un protocolo de citometría de flujo convencional. El tejido de archivo se evaluará para CD31, CD34, VEGFR2, y vWF. Marcador tumoral: CA-125 Se ensayan 10 cc de plasma total para cada momento, en tubos con EDTA a temperatura ambiente.

15 Las muestras se recogerán en los siguientes momentos:

1. En la línea de base
 2. En el ciclo 1: en los días 1 anteriores a la dosificación del fármaco del estudio, y los días 8, 15, y 22
 3. En el día 1 del ciclo 2 antes de la dosificación del fármaco del estudio
 4. Después, cada 2 ciclos comenzando con el ciclo 3, antes de la dosificación del fármaco del estudio, hasta la
- 20 progresión de la enfermedad

Ensayos de anticuerpos

Se recogerán las titulaciones de anticuerpos contra el virus Ad-5, que incluyen anticuerpos IgG y neutralizantes, para el análisis. Las muestras se recogerán en los siguientes momentos:

1. En cada ciclo: en los días 1, 8, 15, y 22 anteriores a la dosificación del fármaco del estudio.
- 25 2. En la visita de finalización del estudio.

La sangre se recogerá y se preparará de la siguiente manera:

1. Se recogerán 6 ml de sangre en tubos sin anticoagulante.
2. Las muestras se dejarán a temperatura ambiente durante 1 hora, y después se conservarán a 2-8 °C durante la noche para permitir la retracción del coágulo.
- 30 3. La sangre se centrifugará al día siguiente.
4. Se extraerán aproximadamente 2 ml de suero y se dividirán en 4 tubos en partes alícuotas (0,5 ml cada uno, un total de 2 ml cada uno en 1,5 ml de Nalgene 100) y se conservarán a -20 °C hasta que se trasladen para el análisis.

Ensayos de biodistribución

Se realizarán los siguientes ensayos:

- 35 1. Biodistribución en sangre: ADN vírico y expresión del transgén.
2. Biodistribución en la orina: ADN vírico.

Se recogerá una muestra de sangre completa para la biodistribución en los siguientes momentos:

1. En el día 1 y 8 de cada ciclo impar, antes de la dosificación del fármaco del estudio.
2. En los días de dosificación de VB-111:
 - 40 a. Antes de la infusión (igual que la muestra del día 1)
 - b. Al final de la infusión

c. $3 \pm 0,5$ horas

d. $6 \pm 0,5$ horas

e. En la visita de finalización del estudio.

Las muestras de sangre se prepararán de la siguiente manera:

5 1. Se recogerá sangre de cada momento en 4 tubos (0,75 ml/tubo) que contienen EDTA.

a. 2 tubos para el análisis de ADN vírico

b. 2 tubos para el análisis de la expresión del transgén

2. Los tubos deben etiquetarse con los números de los sujetos, iniciales, fecha y momento de recogida de la muestra, y conservarse en una nevera a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ o menos.

10 Las muestras de orina se prepararán de la siguiente manera:

1. Se recogerán dos muestras de orina de 1-2 ml del volumen total recogido conservado.

2. Las muestras de orina y los volúmenes recogidos totales se conservarán congelados hasta su posterior análisis.

Resultados

15 Se administró VB-111 a seis pacientes, cada uno con cáncer de trompas de Falopio o cáncer ovárico epitelial, durante al menos 1 año antes de ser incluidos en el estudio, a una dosis de 3×10^{12} VP en combinación con paclitaxel (40 mg o 80 mg) por sujeto como se muestra en la figura 3. Los pacientes no mostraron ningún acontecimiento adverso grave que estuviese relacionado con VB-111. No se observaron toxicidades limitantes de la dosis.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Breibart, Eyal Leubitz, Andrea Feige, Erez Penson, Richard

<120> MÉTODOS DE TRATAMIENTO QUE USAN ADENOVIRUS

5 <130> 3182.043PC02

<140> A asignar

<141> Con la presente

<160> 27

<170> PatentIn versión 3.5

10 <210> 1

<211> 1365

<212> ADN

<213> Homo sapiens TNFRSF1A

<400> 1

atgggcctct	ccacogtgcc	tgacctgctg	ctgccgctgg	tgctcctgga	gctgttggtg	60
ggaatatacc	cctcaggggt	tattggactg	gtccctcacc	taggggacag	ggagaagaga	120
gatagtgtgt	gtccccaagg	aaaatatatc	caccctcaaa	ataattcgat	ttgctgtacc	180
aagtgccaca	aaggaaccta	cttgtacaat	gactgtccag	gcccggggca	ggatacggac	240
tgcagggagt	gtgagagcgg	ctccttcacc	gcttcagaaa	accacctcag	acactgcctc	300
agctgctcca	aatgccgaaa	ggaaatgggt	caggtggaga	tctcttcttg	cacagtggac	360
cgggacaccg	tgtgtggctg	caggaagaac	cagtaccggc	attattggag	tgaaaacctt	420
ttccagtgtc	tcaattgcag	cctctgcctc	aatgggaccg	tgcacctctc	ctgccaggag	480
aaacagaaca	ccgtgtgcac	ctgccatgca	ggtttctttc	taagagaaaa	cgagtgtgtc	540
tcctgtagta	actgtaagaa	aagcctggag	tgcacgaagt	tgtgcctacc	ccagattgag	600
aatgttaagg	gactgagga	ctcaggcacc	acagtgctgt	tgccctggt	cattttcttt	660
ggtctttgcc	ttttatccct	cctcttcatt	ggtttaatgt	atcgctacca	acggtggaag	720
tccaagctct	actccattgt	ttgtgggaaa	tcgacacctg	aaaagaggg	ggagcttgaa	780
ggaactacta	ctaagcccct	ggccccaaac	ccaagttca	gtcccactcc	aggcttcacc	840
cccaccctgg	gcttcagtcc	cgtgcccagt	tccaccttca	cctccagctc	cacctatacc	900
cccgtgact	gtcccaactt	tgcggctccc	cgcagagagg	tggcaccacc	ctatcagggg	960
gctgacccca	tccttgcgac	agccctcgcc	tccgacccca	tccccaacct	ccttcagaag	1020
tgggaggaca	gcgcccacaa	gccacagagc	ctagacactg	atgaccccg	gacgctgtac	1080
gccgtggtgg	agaacgtgcc	cccgttgccg	tggaaggaat	tcgtgcgccg	cctagggctg	1140
15 agcgaccacg	agatcgatcg	gctggagctg	cagaacgggc	gctgcctgcg	cgaggcgcaa	1200
tacagcatgc	tggcgacctg	gaggcggcgc	acgccgggc	gcgaggccac	gctggagctg	1260
ctgggacgcg	tgctccgcga	catggacctg	ctgggctgcc	tggaggacat	cgaggaggcg	1320
ctttgcggcc	ccgccccct	cccgcccgcg	cccagctctc	tcaga		1365

<210> 2

<211> 455

ES 2 703 913 T3

<212> PRT

<213> Receptor 1 de Homo Sapiens Tipo Salvaje

<400> 2

Met Gly Leu Ser Thr Val Pro Asp Leu Leu Leu Pro Leu Val Leu Leu
1 5 10 15

Glu Leu Leu Val Gly Ile Tyr Pro Ser Gly Val Ile Gly Leu Val Pro
20 25 30

His Leu Gly Asp Arg Glu Lys Arg Asp Ser Val Cys Pro Gln Gly Lys
35 40 45

Tyr Ile His Pro Gln Asn Asn Ser Ile Cys Cys Thr Lys Cys His Lys
50 55 60

Gly Thr Tyr Leu Tyr Asn Asp Cys Pro Gly Pro Gly Gln Asp Thr Asp
65 70 75 80

Cys Arg Glu Cys Glu Ser Gly Ser Phe Thr Ala Ser Glu Asn His Leu
85 90 95

Arg His Cys Leu Ser Cys Ser Lys Cys Arg Lys Glu Met Gly Gln Val
100 105 110

Glu Ile Ser Ser Cys Thr Val Asp Arg Asp Thr Val Cys Gly Cys Arg
115 120 125

Lys Asn Gln Tyr Arg His Tyr Trp Ser Glu Asn Leu Phe Gln Cys Phe
130 135 140

Asn Cys Ser Leu Cys Leu Asn Gly Thr Val His Leu Ser Cys Gln Glu
145 150 155 160

Lys Gln Asn Thr Val Cys Thr Cys His Ala Gly Phe Phe Leu Arg Glu
165 170 175

Asn Glu Cys Val Ser Cys Ser Asn Cys Lys Lys Ser Leu Glu Cys Thr
180 185 190

5

ES 2 703 913 T3

Lys Leu Cys Leu Pro Gln Ile Glu Asn Val Lys Gly Thr Glu Asp Ser
 195 200 205

Gly Thr Thr Val Leu Leu Pro Leu Val Ile Phe Phe Gly Leu Cys Leu
 210 215 220

Leu Ser Leu Leu Phe Ile Gly Leu Met Tyr Arg Tyr Gln Arg Trp Lys
 225 230 235 240

Ser Lys Leu Tyr Ser Ile Val Cys Gly Lys Ser Thr Pro Glu Lys Glu
 245 250 255

Gly Glu Leu Glu Gly Thr Thr Thr Lys Pro Leu Ala Pro Asn Pro Ser
 260 265 270

Phe Ser Pro Thr Pro Gly Phe Thr Pro Thr Leu Gly Phe Ser Pro Val
 275 280 285

Pro Ser Ser Thr Phe Thr Ser Ser Ser Thr Tyr Thr Pro Gly Asp Cys
 290 295 300

Pro Asn Phe Ala Ala Pro Arg Arg Glu Val Ala Pro Pro Tyr Gln Gly
 305 310 315 320

Ala Asp Pro Ile Leu Ala Thr Ala Leu Ala Ser Asp Pro Ile Pro Asn
 325 330 335

Pro Leu Gln Lys Trp Glu Asp Ser Ala His Lys Pro Gln Ser Leu Asp
 340 345 350

Thr Asp Asp Pro Ala Thr Leu Tyr Ala Val Val Glu Asn Val Pro Pro
 355 360 365

Leu Arg Trp Lys Glu Phe Val Arg Arg Leu Gly Leu Ser Asp His Glu
 370 375 380

Ile Asp Arg Leu Glu Leu Gln Asn Gly Arg Cys Leu Arg Glu Ala Gln
 385 390 395 400

Tyr Ser Met Leu Ala Thr Trp Arg Arg Arg Thr Pro Arg Arg Glu Ala
 405 410 415

Thr Leu Glu Leu Leu Gly Arg Val Leu Arg Asp Met Asp Leu Leu Gly
 420 425 430

Cys Leu Glu Asp Ile Glu Glu Ala Leu Cys Gly Pro Ala Ala Leu Pro
 435 440 445

Pro Ala Pro Ser Leu Leu Arg
 450 455

<210> 3
 <211> 591
 <212> ADN
 <213> Dominio de Unión del Ligando Homo sapiens de TNFR1

ES 2 703 913 T3

<400> 3
atgggcctct ccaccgtgcc tgacctgctg ctgccgctgg tgctcctgga gctgttggtg 60
ggaatatacc cctcaggggt tattggactg gtcctcacc taggggacag ggagaagaga 120
gatagtgtgt gtccccaagg aaaatatatc caccctcaaa ataattcgat ttgctgtacc 180
aagtgccaca aaggaaccta cttgtacaat gactgtccag gcccggggca ggatacggac 240
tgcagggagt gtgagagcgg ctccttcacc gcttcagaaa accacctcag aactgcctc 300
agctgtcca aatgccgaaa ggaaatgggt cagtgggaga tctcttcttg cacagtggac 360
cgggacaccg tgtgtggctg caggaagaac cagtaccggc attattggag tgaaaacctt 420
ttccagtgtc tcaattgcag cctctgcctc aatgggaccg tgcacctctc ctgccaggag 480
aaacagaaca ccgtgtgcac ctgccatgca ggtttctttc taagagaaaa cgagtgtgtc 540
tcctgtagta actgtaagaa aagcctggag tgcacgaagt tgtgcctacc a 591

<210> 4

<211> 197

5 <212> PRT

<213> Dominio de Unión del Ligando Homo sapiens de TNFR1

<400> 4

Met Gly Leu Ser Thr Val Pro Asp Leu Leu Leu Pro Leu Val Leu Leu
1 5 10 15

Glu Leu Leu Val Gly Ile Tyr Pro Ser Gly Val Ile Gly Leu Val Pro
20 25 30

His Leu Gly Asp Arg Glu Lys Arg Asp Ser Val Cys Pro Gln Gly Lys
35 40 45

Tyr Ile His Pro Gln Asn Asn Ser Ile Cys Cys Thr Lys Cys His Lys
50 55 60

Gly Thr Tyr Leu Tyr Asn Asp Cys Pro Gly Pro Gly Gln Asp Thr Asp
65 70 75 80

Cys Arg Glu Cys Glu Ser Gly Ser Phe Thr Ala Ser Glu Asn His Leu
85 90 95

ES 2 703 913 T3

Arg His Cys Leu Ser Cys Ser Lys Cys Arg Lys Glu Met Gly Gln Val
 100 105 110

Glu Ile Ser Ser Cys Thr Val Asp Arg Asp Thr Val Cys Gly Cys Arg
 115 120 125

Lys Asn Gln Tyr Arg His Tyr Trp Ser Glu Asn Leu Phe Gln Cys Phe
 130 135 140

Asn Cys Ser Leu Cys Leu Asn Gly Thr Val His Leu Ser Cys Gln Glu
 145 150 155 160

Lys Gln Asn Thr Val Cys Thr Cys His Ala Gly Phe Phe Leu Arg Glu
 165 170 175

Asn Glu Cys Val Ser Cys Ser Asn Cys Lys Lys Ser Leu Glu Cys Thr
 180 185 190

Lys Leu Cys Leu Pro
 195

<210> 5

<211> 1008

5 <212> ADN

<213> FAS de longitud completa de Homo sapiens

<400> 5

atgctgggca tctggaccct cctacctctg gttcttacgt ctggtgctag attatcgtcc	60
aaaagtgtta atgcccaagt gactgacatc aactccaagg gattggaatt gaggaagact	120
gttactacag ttgagactca gaacttgaa ggcctgcac atgatggcca attctgccat	180
aagccctgtc ctccagggtga aaggaaagct agggactgca cagtcaatgg ggatgaacca	240
gactgcgtgc cctgccaaaga agggaaggag tacacagaca aagcccattt ttcttccaaa	300
tgcagaagat gtagattgtg tgatgaagga catggcttag aagtggaaat aaactgcacc	360
cggccccaga ataccaagtg cagatgtaaa ccaaactttt tttgtaactc tactgtatgt	420
gaacactgtg acccttgcac caaatgtgaa catggaatca tcaaggaatg cacactcacc	480
agcaacacca agtgcaaaga ggaaggatcc agatctaact tgggggtggct ttgtcttctt	540
cttttgccaa ttccactaat tgtttgggtg aagagaaagg aagtacagaa aacatgcaga	600
aagcacagaa aggaaaacca aggttctcat gaatctcaa ctttaaatcc tgaacagtg	660
gcaataaatt tatctgatgt tgacttgagt aatatatca cactattgc tggagtcatg	720
acactaagtc aagttaaagg ctttgttcga aagaatggtg tcaatgaagc caaaatagat	780
gagatcaaga atgacaatgt ccaagacaca gcagaacaga aagttcaact gcttcgtaat	840
tggcatcaac tcatggaaa gaaagaagcg tatgacacat tgattaaaga tctcaaaaaa	900
gccaatcttt gtactcttgc agagaaaatt cagactatca tcctcaagga cactactagt	960
gactcagaaa attcaaactt cagaaatgaa atccaaagct tgggtctag	1008

10

<210> 6

<211> 335

ES 2 703 913 T3

<212> PRT

<213> FAS de longitud completa de Homo sapiens

<400> 6

```

Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala
1          5          10          15

Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser
          20          25          30

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn
          35          40          45

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro
          50          55          60

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro
          65          70          75          80

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His
          85          90          95

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly
          100          105          110

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg
          115          120          125

Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp
          130          135          140

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr
          145          150          155          160

Ser Asn Thr Lys Cys Lys Glu Glu Gly Ser Arg Ser Asn Leu Gly Trp
          165          170          175

Leu Cys Leu Leu Leu Leu Pro Ile Pro Leu Ile Val Trp Val Lys Arg
          180          185          190

Lys Glu Val Gln Lys Thr Cys Arg Lys His Arg Lys Glu Asn Gln Gly
          195          200          205

```


ES 2 703 913 T3

Ser His Glu Ser Pro Thr Leu Asn Pro Glu Thr Val Ala Ile Asn Leu
 210 215 220

Ser Asp Val Asp Leu Ser Lys Tyr Ile Thr Thr Ile Ala Gly Val Met
 225 230 235 240

Thr Leu Ser Gln Val Lys Gly Phe Val Arg Lys Asn Gly Val Asn Glu
 245 250 255

Ala Lys Ile Asp Glu Ile Lys Asn Asp Asn Val Gln Asp Thr Ala Glu
 260 265 270

Gln Lys Val Gln Leu Leu Arg Asn Trp His Gln Leu His Gly Lys Lys
 275 280 285

Glu Ala Tyr Asp Thr Leu Ile Lys Asp Leu Lys Lys Ala Asn Leu Cys
 290 295 300

Thr Leu Ala Glu Lys Ile Gln Thr Ile Ile Leu Lys Asp Ile Thr Ser
 305 310 315 320

Asp Ser Glu Asn Ser Asn Phe Arg Asn Glu Ile Gln Ser Leu Val
 325 330 335

<210> 7
 <211> 505
 5 <212> ADN
 <213> Dominio efector de Homo sapiens de FAS

<400> 7
 aggatccaga tctaacttgg ggtggctttg tcttcttctt ttgccaatc cactaattgt 60
 ttgggtgaag agaaggaag tacagaaaac atgcagaaag cacagaaag aaaaccaag 120
 ttctcatgaa tctccaacct taaatcctga aacagtggca ataaatttat ctgatgttga 180
 cttgagtaaa tatatcacca ctattgctgg agtcatgaca ctaagtcaag ttaaaggctt 240
 tgttcgaaag aatggtgtca atgaagccaa aatagatgag atcaagaatg acaatgtcca 300
 agacacagca gaacagaaag ttcaactgct tcgtaattgg catcaacttc atggaaagaa 360
 agaagcgtat gacacattga ttaaagatct caaaaaagcc aatctttgta ctcttgca 420
 gaaaattcag actatcatcc tcaaggacat tactagtgac tcagaaaatt caaacttcag 480
 aatgaaatc caagcttgg tctag 505

<210> 8
 10 <211> 167
 <212> PRT
 <213> Dominio efector de Homo sapiens de FAS

ES 2 703 913 T3

<400> 8

Gly Ser Arg Ser Asn Leu Gly Trp Leu Cys Leu Leu Leu Leu Pro Ile
1 5 10 15

Pro Leu Ile Val Trp Val Lys Arg Lys Glu Val Gln Lys Thr Cys Arg
20 25 30

Lys His Arg Lys Glu Asn Gln Gly Ser His Glu Ser Pro Thr Leu Asn
35 40 45

Pro Glu Thr Val Ala Ile Asn Leu Ser Asp Val Asp Leu Ser Lys Tyr
50 55 60

Ile Thr Thr Ile Ala Gly Val Met Thr Leu Ser Gln Val Lys Gly Phe
65 70 75 80

Val Arg Lys Asn Gly Val Asn Glu Ala Lys Ile Asp Glu Ile Lys Asn
85 90 95

Asp Asn Val Gln Asp Thr Ala Glu Gln Lys Val Gln Leu Leu Arg Asn
100 105 110

Trp His Gln Leu His Gly Lys Lys Glu Ala Tyr Asp Thr Leu Ile Lys
115 120 125

Asp Leu Lys Lys Ala Asn Leu Cys Thr Leu Ala Glu Lys Ile Gln Thr
130 135 140

Ile Ile Leu Lys Asp Ile Thr Ser Asp Ser Glu Asn Ser Asn Phe Arg
145 150 155 160

Asn Glu Ile Gln Ser Leu Val
165

<210> 9

<211> 1101

5 <212> ADN

<213> FAS-quimera Homo sapiens

<400> 9

atgggcctct ccaccgtgcc tgacctgctg ctgccgctgg tgctcctgga gctggtggtg 60

ggaatataacc cctcaggggt tattggactg gtcctcacc taggggacag ggagaagaga 120

gatagtgtgt gtcccaagg aaaatatatc caccctcaaa ataattcgat ttgctgtacc 180

aagtgccaca aaggaaccta cttgtacaat gactgtccag gcccggggca ggatacggac 240

tgcagggagt gtgagagcgg ctccttcacc gcttcagaaa accacctcag aactgcctc 300

ES 2 703 913 T3

agctgctcca aatgccgaaa ggaaatgggt caggtggaga tctcttcttg cacagtggac 360
 cgggacaccg tgtgtggctg caggaagaac cagtaccggc attattggag tgaaaacctt 420
 ttccagtgct tcaattgcag cctctgcctc aatgggaccg tgcacctctc ctgccaggag 480
 aaacagaaca ccgtgtgcac ctgccatgca ggtttctttc taagagaaaa cgagtgtgct 540
 tcctgtagta actgtaagaa aagcctggag tgcacgaagt tgtgcctacc aagcttagga 600
 tccagatcta acttgggggtg gctttgtctt cttcttttgc caattccact aattgtttgg 660
 gtgaagagaa aggaagtaca gaaaacatgc agaaagcaca gaaaggaaaa ccaagttct 720
 catgaatctc caaccttaaa tcctgaaaca gtggcaataa atttatctga tgttgacttg 780
 agtaaataata tcaccactat tgctggagtc atgacactaa gtcaagttaa aggctttgtt 840
 cgaaagaatg gtgtcaatga agccaaaata gatgagatca agaatgacaa tgtccaagac 900
 acagcagaac agaaagttca actgcttcgt aattggcatc aacttcatgg aaagaaagaa 960
 gcgatgaca cattgattaa agatctcaaa aaagccaatc tttgtactct tgcagagaaa 1020
 attcagacta tcatcctcaa ggacattact agtgactcag aaaattcaaa cttcagaaat 1080
 gaaatccaaa gcttgggtcta g 1101

<210> 10

<211> 366

5 <212> PRT

<213> FAS-quimera Homo sapiens

<400> 10

Met Gly Leu Ser Thr Val Pro Asp Leu Leu Leu Pro Leu Val Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Leu Leu Val Gly Ile Tyr Pro Ser Gly Val Ile Gly Leu Val Pro
 20 25 30

His Leu Gly Asp Arg Glu Lys Arg Asp Ser Val Cys Pro Gln Gly Lys
 35 40 45

Tyr Ile His Pro Gln Asn Asn Ser Ile Cys Cys Thr Lys Cys His Lys
 50 55 60

Gly Thr Tyr Leu Tyr Asn Asp Cys Pro Gly Pro Gly Gln Asp Thr Asp
 65 70 75 80

Cys Arg Glu Cys Glu Ser Gly Ser Phe Thr Ala Ser Glu Asn His Leu
 85 90 95

Arg His Cys Leu Ser Cys Ser Lys Cys Arg Lys Glu Met Gly Gln Val
 100 105 110

ES 2 703 913 T3

Glu Ile Ser Ser Cys Thr Val Asp Arg Asp Thr Val Cys Gly Cys Arg
 115 120 125

Lys Asn Gln Tyr Arg His Tyr Trp Ser Glu Asn Leu Phe Gln Cys Phe
 130 135 140

Asn Cys Ser Leu Cys Leu Asn Gly Thr Val His Leu Ser Cys Gln Glu
 145 150 155 160

Lys Gln Asn Thr Val Cys Thr Cys His Ala Gly Phe Phe Leu Arg Glu
 165 170 175

Asn Glu Cys Val Ser Cys Ser Asn Cys Lys Lys Ser Leu Glu Cys Thr
 180 185 190

Lys Leu Cys Leu Pro Ser Leu Gly Ser Arg Ser Asn Leu Gly Trp Leu
 195 200 205

Cys Leu Leu Leu Leu Pro Ile Pro Leu Ile Val Trp Val Lys Arg Lys
 210 215 220

Glu Val Gln Lys Thr Cys Arg Lys His Arg Lys Glu Asn Gln Gly Ser
 225 230 235 240

His Glu Ser Pro Thr Leu Asn Pro Glu Thr Val Ala Ile Asn Leu Ser
 245 250 255

Asp Val Asp Leu Ser Lys Tyr Ile Thr Thr Ile Ala Gly Val Met Thr
 260 265 270

Leu Ser Gln Val Lys Gly Phe Val Arg Lys Asn Gly Val Asn Glu Ala
 275 280 285

Lys Ile Asp Glu Ile Lys Asn Asp Asn Val Gln Asp Thr Ala Glu Gln
 290 295 300

Lys Val Gln Leu Leu Arg Asn Trp His Gln Leu His Gly Lys Lys Glu
 305 310 315 320

Ala Tyr Asp Thr Leu Ile Lys Asp Leu Lys Lys Ala Asn Leu Cys Thr
 325 330 335

Leu Ala Glu Lys Ile Gln Thr Ile Ile Leu Lys Asp Ile Thr Ser Asp
 340 345 350

Ser Glu Asn Ser Asn Phe Arg Asn Glu Ile Gln Ser Leu Val
 355 360 365

<210> 11

<211> 47

5 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Elementos potenciadores específicos de células endoteliales

<400> 11

10 ctggagggtg actttgcttc tggagccagt acttcatact tttcatt 47

ES 2 703 913 T3

	<210> 12		
	<211> 47		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
5	<220>		
	<223> Potenciador específico de célula endotelial		
	<400> 12		
	aatgaaaagt atgaagtact ggctccagaa gcaaagtcac cctccag	47	
10	<210> 13		
	<211> 44		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> Potenciador específico de célula endotelial		
15	<400> 13		
	gtacttcata cttttcattc caatggggtg actttgcttc tgga	44	
	<210> 14		
	<211> 44		
	<212> ADN		
20	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> Elemento potenciador específico de célula endotelial		
	<400> 14		
	tccagaagca aagtcacccc attggaatga aaagtatgaa gtac	44	
25	<210> 15		
	<211> 131		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
30	<223> Elemento Potenciador 3X específico de célula endotelial		
	<400> 15		
	ctccagaagc aaagtcacccc cattggaatg aaaagtatga agtacaatga aaagtatgaa	60	
	gtactggctc cagaagcaaa gtcaccctcc agaagcaaag tcacccatt ggaatgaaaa	120	
	gtatgaagta c	131	
35	<210> 16		
	<211> 131		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
40	<223> Elemento Potenciador específico de célula endotelial 3X		
	<400> 16		
	gtacttcata cttttcattc caatggggtg actttgcttc tggagggtga ctttgcttct	60	
	ggagccagta cttcatactt ttcattgtac ttcatacttt tcattccaat ggggtgactt	120	
	tgcttctgga g	131	
	<210> 17		
	<211> 850		
45	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		

ES 2 703 913 T3

<220>

<223> Promotor endotelial específico de célula PPE-1

<400> 17

gtacgtgtac ttctgatcgg cgatactagg gagataagga tgtgcctgac aaaaccacat	60
tgttggtggtt atcattatta tttagttttc cttccttgct aactcctgac ggaatctttc	120
tcacctcaaa tgcgaagtac tttagtttag aaaagacttg gtggaagggg tgggtggtgga	180
aaagtagggg gatcttccaa actaatctgg ttccccgcc gccccagtag ctgggattca	240
agagcgaaga gtggggatcg tccccttggt tgatcagaaa gacataaaaag gaaaatcaag	300
tgaacaatga tcagccccac ctccacccca cccccctgcg cgcgcaaat acaatctatt	360
taattgtact tcatactttt cattccaatg gggtagcttt gcttctggag aaactcttga	420
ttcttgaact ctggggctgg cagctagcaa aaggggaagc gggctgctgc tctctgcagg	480
ttctgcagcg gctctgtct agtgggtggt ttctttttct tagccctgcc cctggattgt	540
cagacggcgg gcgtctgcct ctgaagttag ccgtgatttc ctctagagcc gggctttatc	600
tctggctgca cgttgctgt gggtgactaa tcacacaata acattgttta gggctggaat	660
gaagtcagag ctgtttacc cactctata ggggttcaat ataaaaagc ggcggagaac	720
tgtccgagtc agaagcgttc ctgcaccggc gctgagagcc tgaccggctc tgctccgctg	780
tccttgccgg ctgcctccc gctgcccggc acgctttcgc cccagtggaa gggccaattg	840
ctgcggccgc	850

5

<210> 18

<211> 987

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> Promotor endotelial específico de célula PPE-1 3X

ES 2 703 913 T3

<400> 18
 gtacgtgtac ttctgatcgg cgatactagg gagataagga tgtgcctgac aaaaccacat 60
 tgttgttgtt atcattatta tttagttttc cttccttgct aactcctgac ggaatctttc 120
 tcacctcaaa tgcgaagtac tttagtttag aaaagacttg gtggaagggg tgggtgtgga 180
 aaagtagggg gatcttccaa actaatctgg ttccccgccc gccccagtag ctgggattca 240
 agagcgaaga gtggggatcg tccccttggt tgatcagaaa gacataaaag gaaaatcaag 300
 tgaacaatga tcagccccac ctccacccca cccccctgcg cgcgcaaat acaatctatt 360
 taattgtact tcatactttt cattccaatg gggtgacttt gcttctggag aaactcttga 420
 ttcttgaact ctggggctg gagctagcct ccagaagcaa agtcacccca ttggaatgaa 480
 aagtatgaag tacaatgaaa agtatgaagt actggctcca gaagcaaagt caccctccag 540
 aagcaaagtc accccattgg aatgaaaagt atgaagtacg ctagcaaaag ggggaagcggg 600
 ctgctgctct ctgcaggttc tgcagcggtc tctgtctagt ggggtgtttc tttttcttag 660
 ccctgcccct ggattgtcag acggcggggc tctgcctctg aagttagccg tgatttcctc 720
 tagagccggg tcttatctct ggctgcacgt tgcctgtggg tgactaatca cacaataaca 780
 ttgtttaggg ctggaatgaa gtcagagctg tttaccccca ctctataggg gttcaatata 840
 aaaaggcggc ggagaactgt ccgagtcaga agcgttctct caccggcgct gagagcctga 900
 cccggtctgc tccgctgtcc ttgcgcgctg cctcccggtc gcccgcgacg ctttcgcccc 960
 agtggaaagg ccacttgctg cggccgc 987

<210> 19
 <211> 35207
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Construcción entera VB-111

<400> 19
 catcatcaat aatatacctt attttggatt gaagccaata tgataatgag ggggtggagt 60
 ttgtgacgtg gcgcggggcg tgggaacggg gcgggtgacg tagtagtgtg gcggaagtgt 120
 gatgttgcaa gtgtggcga acacatgtaa gcgacggatg tggcaaaagt gacgtttttg 180
 gtgtgcgccg gtgtacacag gaagtgacaa ttttcgcgcg gttttaggcg gatgtttag 240
 taaatttggg cgtaaccgag taagatttgg ccattttcgc gggaaaactg aataagagga 300
 agtgaatct gaataatgtt gtgttactca tagcgcgtaa tatttgtcta gggcccgggg 360
 gactttgacc gtttacgtgg agactcgcgc aggtgttttt ctcaggtgtt ttccgcgttc 420

5

10

ES 2 703 913 T3

cgggtcaaag ttggcgtttt attattatag tcagtacgta cgtgtacttc tgatcggcga 480
 tactagggag ataaggatgt gcctgacaaa accacattgt tgttgttatc attattattt 540
 agttttcctt ccttgctaac tcctgacgga atctttctca cctcaaatgc gaagtacttt 600
 agtttagaaa agacttggtg gaaggggtgg tgggtggaaaa gtagggtgat cttccaaact 660
 aatctggttc cccgcccgcc ccagtagctg ggattcaaga gcgaagagtg gggatcgtcc 720
 ccttgtttga tcagaaagac ataaaaggaa aatcaagtga acaatgatca gccccacctc 780
 caccaccacc ccctgcgcgc gcacaataca atctatttaa ttgtacttca tacttttcat 840
 tccaatgggg tgactttgct tctggagaaa ctcttgattc ttgaactctg gggctggcag 900
 ctagcctcca gaagcaaagt caccaccattg gaatgaaaag tatgaagtac aatgaaaagt 960
 atgaagtact ggctccagaa gcaaagtcac cctccagaag caaagtcacc ccattggaat 1020
 gaaaagtatg aagtacgcta gcaaaagggg aagcgggctg ctgctctctg caggttctgc 1080
 agcggctctc gtctagtggg tgttttcttt ttcttagccc tgcccctgga ttgtcagacg 1140
 gcgggctctc gcctctgaag ttagccgtga ttctctctag agccgggtct tatctctggc 1200
 tgcacgttgc ctgtgggtga ctaatcacac aataacattg tttagggtct gaatgaagtc 1260
 agagctgttt acccccactc tataggggtt caatataaaa aggcggcggg gaactgtccg 1320
 agtcagaagc gttcctgcac cggcctgagc agcctgacct ggtctgetcc gctgtccttg 1380
 cgcgctgcct cccggtgcc cgcgacgctt tcgccccagt ggaagggcca cttgctgagg 1440
 ccgctaattc tgcagatcgg gatccggcat gggcctctcc accgtgcctg acctgtgct 1500
 gccgctggtg ctcttgagc tgttggtggg aatatacccc tcaggggta ttggactggt 1560
 ccctcaccta ggggacaggg agaagagaga tagtgtgtgt cccaaggaa aatatacca 1620
 ccctcaaat aattcgattt gctgtaccaa gtgccacaaa ggaacctact tgtacaatga 1680
 ctgtccaggc ccggggcagg atacggactg cagggagtgt gagagcggct ccttcaccgc 1740
 ttcagaaaac cacctcagac actgcctcag ctgctccaaa tgccgaaagg aaatgggtca 1800
 ggtggagatc tcttcttgca cagtggaccg ggacaccgtg tgtggctgca ggaagaacca 1860
 gtaccggcat tattggagtg aaaacctttt ccagtgcctc aattgcagcc tctgcctcaa 1920
 tgggaccgtg cacctctcct gccaggagaa acagaacacc gtgtgcacct gccatgcagg 1980
 tttctttcta agagaaaacg agtgtgtctc ctgtagtaac tgtaagaaaa gcctggagtg 2040
 cacgaagtgt tgcctaccaa gcttaggatc cagatctaac ttgggggtggc tttgtcttct 2100
 tcttttgcca attccactaa ttgtttgggt gaagagaaag gaagtacaga aaacatgcag 2160
 aaagcacaga aaggaaaacc aaggttctca tgaatctcca accttaaatc ctgaaacagt 2220
 ggcaataaat ttatctgatg ttgacttgag taaatatatc accactattg ctggagtcac 2280
 gacactaagt caagttaaag gctttgttcg aaagaatggt gtcaatgaag ccaaaaataga 2340

ES 2 703 913 T3

tgagatcaag aatgacaatg tccaagacac agcagaacag aaagttcaac tgcttcgtaa 2400
 ttggcatcaa cttcatggaa agaaagaagc gtatgacaca ttgattaaag atctcaaaaa 2460
 agccaatctt tgtactcttg cagagaaaat tcagactatc atcctcaagg acattactag 2520
 tgactcagaa aattcaaact tcagaaatga aatccaaagc ttggtctagc tcgagcatgc 2580
 atctaggcgg cgcgatggca gaaattcggc aattcgttag cgttaacgga tcctctagac 2640
 gagatccgaa cttgtttatt gcagcttata atggttacaa ataaagcaat agcatcacia 2700
 atttcacaaa taaagcattt ttttctactgc attctagttag tggtttgtcc aaactcatca 2760
 atgtatctta tcatgtctag atctgtactg aaatgtgtgg gcgtggctta aggggtggaa 2820
 agaatatata aggtgggggt cttatgtagt tttgtatctg ttttgcagca gccgcccgg 2880
 ccatgagcac caactcgttt gatggaagca ttgtgagctc atatttgaca acgagcatgc 2940
 ccccatgggc cggggtgctt cagaatgtga tgggctccag cattgatggt cccccgtcc 3000
 tgcccgcaaa ctctactacc ttgacctacg agaccgtgtc tggaacgccg ttggagactg 3060
 cagcctccgc cgcgcttca gccgctgcag ccaccgccg cgggattgtg actgactttg 3120
 ctttctctag cccgcttgca agcagtgcag cttcccgttc atccgccgc gatgacaagt 3180
 tgacggctct tttggcacia ttggattctt tgaccggga acttaatgtc gtttctcagc 3240
 agctgttgga tctgcgccag caggtttctg cctgaaggc ttcctcccct cccaatgcgg 3300
 tttaaaacat aaataaaaaa ccagactctg tttggatttg gatcaagcaa gtgtcttgct 3360
 gtctttattt aggggttttg cgcgcgggt agggccggga ccagcggctc cggtcggtga 3420
 gggcctctgt tattttttcc aggacgtggt aaaggtgact ctggatgttc agatacatgg 3480
 gcataagccc gtctctgggg tggaggtagc accactgcag agcttcatgc tgcggggtgg 3540
 tgtttagat gatccagctg tagcaggagc gctgggcgtg gtgcctaaa atgtctttca 3600
 gtagcaagct gattgccagg ggcagccctt tgggtgaagt gtttaciaaag cggttaagct 3660
 gggatgggtg catacgtggg gatatgagat gcatcttggc ctgtattttt aggttggcta 3720
 tgttcccagc catatccctc cggggattca tgttgtgcag aaccaccagc acagtgtatc 3780
 cgggtgcactt gggaaatttg tcatgtagct tagaagaaa tgcgtggaag aacttggaga 3840
 cggccttctg acctccaaga ttttccatgc attcgtccat aatgatggca atggggccac 3900
 gggcggcggc ctgggcgaag atatttctgg gatcactaac gtcatagttg tgttccagga 3960
 tgagatcgtc ataggccatt tttaciaaagc gcgggcggag ggtgccagac tgcggtataa 4020
 tggttccatc cggcccaggg gcgtagttag cctcacagat ttgcatttcc cacgctttga 4080
 gttcagatgg ggggatcatg tctacctgcg gggcgatgaa gaaaacggtt tccggggtag 4140
 gggagatcag ctgggaagaa agcaggttcc tgagcagctg cgacttaccg cagccgggtg 4200

ES 2 703 913 T3

gcccgtaa at cacacctatt accggctgca actggtagtt aagagagctg cagctgccgt 4260
catccctgag cagggggggcc acttcggttaa gcatgtccct gactcgcgatg ttttcctga 4320
ccaaatccgc cagaaggcgc tcgccgccca gcgatagcag ttcttgcaag gaagcaaagt 4380
ttttcaacgg tttgagaccg tccgccgtag gcatgctttt gagcgtttga ccaagcagtt 4440
ccaggcggtc ccacagctcg gtcacctgct ctacggcatc togatccagc atatctcctc 4500
gtttcgcggg ttgggggggc tttcgctgta cggcagtagt cgggtgctcgt ccagacgggc 4560
cagggtcatg tctttccacg ggcgcagggc cctcgtcagc gtagtctggg tcacggtgaa 4620
ggggtgcgct ccgggctgcg cgtggtccag ggtgctcttg aggctgggcc tgctggtgct 4680
gaagcgtgct cggctcttgc cctgcgcgtc ggcaggtag catttgacca tgggtgcata 4740
gtccagcccc tccgcggcgt ggccttggc gcgcagcttg cocttgagg aggcccgca 4800
cgaggggcag tgcagacttt tgagggcgta gagcttgggc gcgagaaata ccgattccgg 4860
ggagtaggca tccgcgccgc agggcccgca gacggtctcg cattccacga gccaggtgag 4920
ctctggccgt tcggggtcaa aaaccaggtt tccccatgc tttttgatgc gtttcttacc 4980
tctggtttcc atgagccggt gtccacgctc ggtgacgaaa aggctgtccg tgtcccgta 5040
tacagacttg agaggcctgt cctcgagcgg tgttccgagg tcctcctcgt atagaaactc 5100
ggaccactct gagacaaagg ctcgcgtcca ggcagcagc aaggaggcta agtgggaggg 5160
gtagcggctg ttgtccacta gggggtccac tcgctccagg gtgtgaagac acatgtcgcc 5220
ctcttcggca tcaaggaagg tgattggttt gtaggtgtag gccacgtgac cgggtgttcc 5280
tgaagggggg ctataaaagg ggggtggggc gcgttcgtcc tccctctctt ccgcatcgct 5340
gtctgcgagg gccagctggt ggggtgagta ctccctctga aaagcgggca tgacttctgc 5400
gctaagattg tcagtttcca aaaacgagga ggatttgata ttcacctggc ccgcggtgat 5460
gcctttgagg gtggccgcat ccatctggtc agaaaagaca atctttttgt tgtcaagctt 5520
gggtggcaaac gacccgtaga gggcgttga cagcaacttg gcgatggagc gcagggtttg 5580
gtttttgtcg cgatcggcgc gctccttggc cgcgatggtt agctgcacgt attcgcgcgc 5640
aacgcaccgc cattcgggaa agacggtggt gcgctcgtcg ggcaccaggt gcacgcgcca 5700
accgcggttg tgcaggggtga caaggtcaac gctggtggct acctctccgc gtaggcgctc 5760
gttgggtccag cagagggcgc cgccttgcg cgagcagaat ggcggtaggg ggtctagctg 5820
cgtctcgtcc ggggggtctg cgtccacggt aaagaccccg ggcagcaggc gcgcgtcgaa 5880
gtagtctatc ttgcatcctt gcaagtctag cgcctgctgc catgcccggg cggcaagcgc 5940
gcgctcgtat ggggtgagtg ggggacccca tggcatgggg tgggtgagcg cggaggcgta 6000
catgccgcaa atgctgtaaa cgtagagggg ctctctgagt attccaagat atgtagggta 6060
gcatcttcca ccgcggtgct tggcgcgcac gtaatcgtat agttcgtgcg agggagcgag 6120

ES 2 703 913 T3

gaggtcggga ccgaggttgc tacgggcggg ctgctctgct cggaagacta tctgcctgaa 6180
gatggcatgt gagttggatg atatggttg acgctggaag acgttgaagc tggcgtctgt 6240
gagacctacc gcgtcacgca cgaaggaggc gtaggagtcg cgcagcttgt tgaccagctc 6300
ggcggtgacc tgcacgtcta gggcgcagta gtccagggtt tccttgatga tgcatactt 6360
atcctgtccc ttttttttcc acagctcggg gttgaggaca aactcttcgc ggtctttcca 6420
gtactcttgg atcggaaacc cgtcggcctc cgaacggtaa gacacctagca tgtagaactg 6480
gttgacggcc tggtagggcg agcatccctt ttctacgggt agcgcgtatg cctgcgcggc 6540
cttccggagc gaggtgtggg tgagcgcaaa ggtgtccctg accatgactt tgaggtactg 6600
gtatttgaag tcagtgtcgt cgcacccgcc ctgctcccag agcaaaaagt cctgtcgcctt 6660
tttggaacgc ggatttggca gggcgaaggc gacatcgttg aagagtatct tccccgcgcg 6720
aggcataaag ttgctgtgta tgcggaaggg tcccggcacc tcggaacggt tgtaattac 6780
ctggcgggcg agcacgatct cgtcaaagcc gttgatgttg tggcccacaa tgtaaagttc 6840
caagaagcgc gggatgccct tgatggaagg caatttttta agttcctcgt aggtgagctc 6900
ttcaggggag ctgagcccgt gctctgaaag ggcccagtct gcaagatgag ggttgggaagc 6960
gacgaatgag ctccacaggc cacgggccat tagcatttgc aggtggtcgc gaaaggtcct 7020
aaactggcga cctatggcca ttttttctgg ggtgatgcag tagaaggtaa gcggttcttg 7080
tccccagcgg tcccatccaa ggttcgcggc taggtctcgc gcggcagtca ctagaggctc 7140
atctccgccg aacttcatga ccagcatgaa gggcacgagc tgcttcccaa aggcccccat 7200
ccaagtatag gtctctacat cgtaggtgac aaagagacgc tcggtgcgag gatgcgagcc 7260
gatcgggaag aactggatct cccgccacca attggaggag tggctattga tgtggtgaaa 7320
gtagaagtcc ctgcgacggg ccgaacactc gtgctggcct ttgtaaaaac gtgcgcagta 7380
ctggcagcgg tgcacgggct gtacatcctg cacgaggttg acctgacgac cgcgcacaag 7440
gaagcagagt gggaaattga gccctcggc tggcgggttt ggctgggtgt cttctacttc 7500
ggctgcttgt ccttgaccgt ctggctgctc gaggggagtt acggtggatc ggaccaccac 7560
gccgcgcgag cccaaagtcc agatgtccgc gcgcggcggc cggagcttga tgacaacatc 7620
gcgcagatgg gagctgtcca tggctctggag ctcccgcggc gtcaggtcag gcgggagctc 7680
ctgcaggttt acctcgcata gacgggtcag ggcgcgggct agatccaggc gatacctaata 7740
ttccaggggc tggttgggtg cggcgtcgat ggcttgcaag aggcgcgcat cccgcggcgc 7800
gactacggta ccgcgcggcg ggcggtgggc cgcgggggtg tccttggatg atgcatctaa 7860
aagcgggtgac gcgggcgagc ccccggaggc agggggggct ccggaccgcg cgggagaggg 7920
ggcaggggca cgtcggcgcc gcgcgcgggc aggagctggt gctgcgcgcg taggttgctg 7980

ES 2 703 913 T3

gcgaacgcga cgacgcgccg gttgatctcc tgaatctggc gcctctgcgt gaagacgacg 8040
ggcccgggta gcttgaacct gaaagagagt tgcacagaat caatttcggg gtcggtgacg 8100
gcgccctggc gcaaaatctc ctgcacgtct cctgagttgt cttgataggg gatctcggcc 8160
atgaactgct cgatctcttc ctccctggaga tctcccgctc cggctcgctc cacggtggcg 8220
gcgaggtcgt tggaaatgcg ggccatgagc tgcgagaagg cgttgaggcc tcctcgttc 8280
cagacgcgcc tgtagaccac gcccccttcg gcatcgggg cgcgcatgac cacctcgcgg 8340
agattgagct ccacgtgccg ggcgaagacg gcgtagtttc gcaggcgctg aaagaggtag 8400
ttgagggggtg tggcgggtgt ttctgccacg aagaagtaca taaccacgcg tcgcaactgt 8460
gattcgttga tatcccccaa ggcctcaagg cgctccatgg cctcgtagaa gtccacggcg 8520
aagtgaaaa actgggagtt gcgcgccgac acggttaact cctcctccag aagacggatg 8580
agctcggcga cagtgtcgcg cacctcgcgc tcaaaggcta caggggcctc ttcttcttct 8640
tcaatctcct ctccataag ggcctcccct tcttcttctt ctggcggcgg tgggggaggg 8700
gggacacggc ggcgacgacg gcgcaccggg aggcggtcga caaacgctc gatcatctcc 8760
ccgcgccgac ggcgcatggg ctccgtgacg gcgcggccgt tctcgcgggg gcgcagttgg 8820
aagacgccgc ccgtcatgtc ccggttatgg gttgcccggg ggctgccatg cggcagggat 8880
acggcgctaa cgatgcactc caacaattgt tgtgtaggta ctccgccgcc gagggacctg 8940
agcgagtccg catcgaccgg atcggaaaac ctctcgagaa aggcgtctaa ccagtcacag 9000
tcgcaaggta ggctgagcac cgtggcgggc ggcagcgggc ggcggtcggg gttgttctg 9060
gcggaggtgc tgctgatgat gtaattaaag taggcggtct tgagacggcg gatggtcgac 9120
agaagcacca tgtccttggg tccggcctgc tgaatgcgca ggcggtcggc catgccccag 9180
gcttcgtttt gacatcgccg caggtctttg tagtagtctt gcatgagcct ttctaccggc 9240
acttcttctt ctccctcctc ttgtcctgca tctcttgcac ctatcgtgcg ggcggcggcg 9300
gagtttgccg gtaggtggcg ccctcttctc cccatgcgtg tgaccccgaa gccctcatc 9360
ggctgaagca gggctaggtc ggcgacaacg cgctcggcta atatggcctg ctgcacctgc 9420
gtgagggtag actggaagtc atccatgtcc acaaagcggg ggtatgcgcc cgtggtgatg 9480
gtgtaagtgc agttggccat aacggaccag ttaacggctc ggtgacccgg ctgcgagagc 9540
tcggtgtacc tgagacgcca gtaagccctc gagtcaaata cgtagtcggt gcaagtccgc 9600
accaggtact ggtatcccac caaaaagtgc ggcgcccggc ggcggtagag gggccagcgt 9660
aggggtggccg gggctccggg ggcgagatct tccaacataa ggcgatgata tccgtagatg 9720
tacctggaca tccaggtgat gccggcggcg gtggtggagg cgcgcgaaa gtcgcgacg 9780
cggttccaga tgttgccgag cggcaaaaag tgctccatgg tcgggacgct ctggccggtc 9840
aggcgcgcgc aatcgttgac gctctagacc gtgcaaaaag agagcctgta agcgggcact 9900

ES 2 703 913 T3

cttccgtggt ctggtggata aattcgcaag ggtatcatgg cggacgaccg gggttcgagc 9960
 cccgtatccg gccgtccgcc gtgatccatg cggttaccgc ccgctgtcgc aaccaggtg 10020
 tgcgacgtca gacaacgggg gagtgctcct tttggcttcc ttccaggcgc ggcggctgct 10080
 gcgctagcct ttttggccac tggccgcgcg cagcgtaacg ggttaggctg gaaagcgaag 10140
 gcattaagtg gctcgtccc tgtagccgga gggttatfff ccaagggtg agtcgaggga 10200
 cccccggttc gagtctogga cggcccgac tggggcgaac gggggtttgc ctccccgtca 10260
 tgcaagacc cgcttgcaaa ttcctccgga aacagggacg agcccctttt ttgcttttcc 10320
 cagatgcatc cgggtgtcgc gcagatgccc cccctctc agcagcggca agagcaagag 10380
 cagcggcaga catgcagggc accctcccct cctcctaccg cgtcaggagg ggcgacatcc 10440
 gcggttgacg cggcagcaga tgggtattac gaacccccgc ggcgcccggc ccggcactac 10500
 ctggaacttg aggagggcga gggcctggcg cggctaggag cgcctctccc tgagcggcac 10560
 ccaagggtgc agctgaagcg tgatacgcgt gaggcgtacg tgcccgggca gaacctgttt 10620
 cgcgaccgcg agggagagga gcccgaggag atgcgggatc gaaagttcca cgcagggcgc 10680
 gagctgcccg atggcctgaa tcgcgagcgg ttgctgcccg aggaggactt tgagcccgcac 10740
 gcgcaaccg ggattagtcc cgcgcgcgca cacgtggcgg ccgcccacct ggtaaccgca 10800
 tacgagcaga cgggtgaacca ggagattaac tttcaaaaaa gctttaacaa ccacgtgcgt 10860
 acgcttgtag cgcgcgagga ggtggctata ggactgatgc atctgtggga ctttgtaagc 10920
 gcgctggagc aaaaccctaaa tagcaagccg ctcatggcgc agctgttcct tatagtgcag 10980
 cacagcaggg acaacgaggc attcagggat gcgctgctaa acatagtaga gcccgagggc 11040
 cgctggctgc tcgatttgat aaacatcctg cagagcatag tgggtgcagga gcgagcctg 11100
 agcctggctg acaagggtggc cgccatcaac tattccatgc ttagcctggg caagttttac 11160
 gcccgaaga tataccatac cccttacgtt cccatagaca aggaggtaa gatcgagggg 11220
 ttctacatgc gcatggcgc gaaggtgctt accttgagcg acgacctggg cgtttatcgc 11280
 aacgagcgc tccacaaggc cgtgagcgtg agccggcggc gcgagctcag cgaccgcgag 11340
 ctgatgcaca gcctgcaaag ggcctggct ggcacgggca gcggcgatag agaggccgag 11400
 tcctactttg acgcggggcg tgacctgcgc tgggccccaa gccgacgcgc cctggaggca 11460
 gctggggccg gacctgggct ggcggtggca cccgcgcgcg ctggcaacgt cggcggcgtg 11520
 gaggaatatg acgaggacga tgagtacgag ccagaggacg gcgagtacta agcgggtgatg 11580
 tttctgatca gatgatgcaa gacgcaacgg acccggcggg gcggggcggc ctgcagagcc 11640
 agccgtccg ccttaactcc acggacgact ggcgccaggt catggaccgc atcatgtcgc 11700
 tgactgcccg caatcctgac gcgttccggc agcagccgca ggccaaccg ctctccgcaa 11760

ES 2 703 913 T3

ttctggaagc	ggtggtcccg	gcgcgcgcaa	accccacgca	cgagaaggtg	ctggcgatcg	11820
taaaacgcgct	ggccgaaaac	agggccatcc	ggcccacgca	ggccggcctg	gtctacgacg	11880
cgctgcttca	gcgcgtggct	cgttacaaca	gcggcaacgt	gcagaccaac	ctggaccggc	11940
tggtagggga	tgtgcgcgag	gccgtggcgc	agcgtgagcg	cgcgacgagc	cagggcaacc	12000
tgggctccat	ggttgcaacta	aacgccttcc	tgagtacaca	gcccgccaac	gtgccgcggg	12060
gacaggagga	ctacaccaac	tttgtgagcg	cactgcggct	aatggtgact	gagacaccgc	12120
aaagtgaggt	gtaccagtct	ggccacgact	atTTTTTcca	gaccagtaga	caaggcctgc	12180
agaccgtaaa	cctgagccag	gctttcaaaa	acttgcaggg	gctgtggggg	gtgcgggctc	12240
ccacaggcga	ccgcgcgacc	gtgtctagct	tgctgacgcc	caactcgcgc	ctggtgctgc	12300
tgctaatagc	gcccttcacg	gacagtggca	gcgtgtcccg	ggacacatac	ctaggtcact	12360
tgctgacact	gtaccgcgag	gccataggtc	aggcgcagt	ggacgagcat	actttccagg	12420
agattacaag	tgctagccgc	gcgctggggc	aggaggacac	gggcagcctg	gaggcaaccc	12480
taaactacct	gctgaccaac	cggcgcgaga	agatcccctc	gttgcacagt	ttaaacagcg	12540
aggaggagcg	cattttgcgc	tacgtgcagc	agagcgtgag	ccttaacctg	atgcgcgacg	12600
gggtaacgcc	cagcgtggcg	ctggacatga	ccgcgcgcaa	catggaaccg	ggcatgtatg	12660
cctcaaaccg	gccgtttatc	aaccgcctaa	tggactactt	gcatcgcgcg	gccgcctgta	12720
accccagta	ttcaccaat	gccatcttga	acccgcactg	gctaccgccc	cctggtttct	12780
acaccggggg	attcagagtg	cccaggggta	acgatggatt	cctctgggac	gacatagacg	12840
acagcgtggt	ttccccgcaa	ccgcagaccc	tgctagagtt	gcaacagcgc	gagcaggcag	12900
aggcggcgct	gcgaaaggaa	agcttccgca	ggccaagcag	cttgtccgat	ctaggcgcctg	12960
cggccccgcg	gtcagatgct	agtagcccat	ttccaagctt	gataggtctt	cttaccagca	13020
ctcgcaccac	ccgcccgcgc	ctgctggggc	aggaggagta	cctaaacaac	tcgctgctgc	13080
agccgcagcg	cgaaaaaac	ctgcctcccg	catttcccaa	caacgggata	gagagcctag	13140
tggacaagat	gagtagatgg	aagacgtacg	cgcaggagca	cagggacgtg	ccaggccccg	13200
gccccccac	ccgtcgtcaa	aggcacgacc	gtcagcgggg	tctggtgtgg	gaggacgatg	13260
actcggcaga	cgacagcagc	gtcctggatt	tgggagggag	tggcaaccgg	tttgcgcacc	13320
ttcgcgccag	gctggggaga	atgttttaa	aaaaaaaaa	gcatgatgca	aaataaaaa	13380
ctcaccaag	ccatggcacc	gagcgttgg	tttctgtat	tccccttagt	atgcggcgcg	13440
cggcgatgta	tgaggaaggt	cctcctccct	cctacgagag	tgtggtgagc	gcggcgccag	13500
tggcggcggc	gctgggttct	cccttcgatg	ctcccctgga	cccgcggtt	gtgcctccgc	13560
ggtacctgcg	gcctaccggg	gggagaaaca	gcatccgtta	ctctgagttg	gcaccctat	13620
tcgacaccac	ccgtgtgtac	ctggtggaca	acaagtcaac	ggatgtggca	tcctgaact	13680

ES 2 703 913 T3

accagaacga ccacagcaac tttctgacca cggtcattca aaacaatgac tacagcccgg 13740
 gggaggcaag cacacagacc atcaatcttg acgaccggtc gactggggc ggcgacctga 13800
 aaaccatcct gcataccaac atgccaaatg tgaacgagtt catgtttacc aataagtta 13860
 aggcgcgggt gatggtgtcg cgcttgccca ctaaggacaa tcaggtggag ctgaaatacg 13920
 agtgggtgga gttcacgctg cccgagggca actactccga gaccatgacc atagacctta 13980
 tgaacaacgc gatcgtggag cactacttga aagtgggcag acagaacggg gttctgga 14040
 gcgacatcgg ggtaaagttt gacacccgca acttcagact ggggtttgac cccgtcactg 14100
 gtcttgtcat gcctgggta tatacaaagc aagccttcca tccagacatc attttctgctg 14160
 caggatgcgg ggtggaactc acccacagcc gcctgagcaa cttggtggc atccgcaagc 14220
 ggcaaccctt ccaggagggc tttaggatca cctacgatga tctggagggt ggtaacattc 14280
 ccgcaactgt ggatgtggac gcctaccagg cgagcttgaa agatgacacc gaacagggcg 14340
 ggggtggcgc aggcggcagc aacagcagtg gcagcggcgc ggaagagaac tccaacgcgg 14400
 cagccgcggc aatgcagccg gtggaggaca tgaacgatca tgccattcgc ggcgacacct 14460
 ttgccacacg ggctgaggag aagcgcgctg aggcggaagc agcggccgaa gctgccgccc 14520
 ccgctgcgca acccgaggtc gagaagcctc agaagaaacc ggtgatcaa cccctgacag 14580
 aggacagcaa gaaacgcagt tacaacctaa taagcaatga cagcacctc acccagtacc 14640
 gcagctggta ccttgcatc aactacggcg accctcagac cggaatccgc tcatggacct 14700
 tgctttgcac tcttgacgta acctgcggct cggagcaggt ctactggtcg ttgccagaca 14760
 tgatgcaaga ccccgtagcc ttccgctcca cgcgccagat cagcaacttt ccggtggtgg 14820
 ggcgccgagc gttgcccgct cactccaaga gcttctacaa cgaccaggcc gtctactccc 14880
 aactcatccg ccagtttacc tctctgacct acgtgttcaa tcgctttccc gagaaccaga 14940
 ttttggcgcg cccgccagcc cccaccatca ccaccgtcag tgaaaacgtt cctgctctca 15000
 cagatcacgg gacgctaccg ctgcgcaaca gcacggagg agtccagcga gtgaccatta 15060
 ctgacgccag acgcccacc tgcccctacg tttacaaggc cctgggcata gtctcgccgc 15120
 gcgtcctatc gagccgcaact ttttgagcaa gcacgtccat ccttatatcg cccagcaata 15180
 acacaggctg gggcctgcgc ttccaagca agatgtttgg cggggccaag aagcgtccg 15240
 accaacacc agtgccgctg cgcgggcact accgcgcgcc ctggggcgcg cacaacgcg 15300
 gccgcaactg gcgcaccacc gtcgatgacg ccatcgacgc ggtggtggag gaggcgcgca 15360
 actacacgcc cacgccgcca ccaggttcca cagtggacgc ggccattcag accgtggtgc 15420
 gcggagcccc gcgctatgct aaaatgaaga gacggcggag gcgcgtagca cgtcgccacc 15480
 gccgccgacc cggcaactgcc gcccaacgcg cgcggcggc cctgcttaac cgcgcacgct 15540

ES 2 703 913 T3

gcaccggccg acggggggcc atgcggggcc ctccaaggct ggccgcgggt attgtcactg 15600
 tgccccccag gtccaggcga cgagcgggcc ccgcagcagc cgcggccatt agtgctatga 15660
 ctcaagggtcg caggggcaac gtgtattggg tgcgcgactc ggttagcggc ctgcccgtgc 15720
 ccgtgcccac ccgccccccg cgcaactaga ttgcaagaaa aaactactta gactcgtact 15780
 gttgtatgta tccagcggcg gcggcgcgca acgaagctat gtccaagcgc aaaatcaaag 15840
 aagagatgct ccaggtcac cgcgccggaga tctatggccc cccgaagaag gaagagcagg 15900
 attacaaacc ccgaaagcta aagcgggtca aaaagaaaaa gaaagatgat gatgatgaac 15960
 ttgacgacga ggtggaactg ctgcacgcta ccgcgccccag gcgacgggta cagtggaaag 16020
 gtcgacgcgt aaaacgtggt ttgcgacccc gcaccaccgt agtctttacg cccggtgagc 16080
 gctccacccc cacctacaag cgcgtgtatg atgaggtgta cggcgacgag gacctgcttg 16140
 agcaggccaa cgagcgcctc ggggagtttg cctacggaaa gcggcataag gacatgctgg 16200
 cgttgcccgt ggacgagggc aaccacaacac ctacgctaaa gcccgtaaca ctgcagcagg 16260
 tgctgcccgc gcttgaccg tccgaagaaa agcgcggcct aaagcgcgag tctggtgact 16320
 tggcaccac cgtgcagctg atggtaccca agcgcacgag actggaagat gtcttgaaa 16380
 aatgaccgt ggaacctggg ctggagccc aggtccgct gcggccaatc aagcaggtgg 16440
 cgcggggact gggcgtgag accgtggagc ttcagatacc cactaccagt agcaccagta 16500
 ttgccaccgc cacagagggc atggagacac aaacgtcccc ggttgccctca gcggtggcgg 16560
 atgccgcggt gcagcgggtc gctgcggccc cgtccaagac ctctacggag gtgcaaacgg 16620
 acccgtggat gtttcgcggt tcagcccccc ggcgcccgcg ccggttcgagg aagtacggcg 16680
 ccgccagcgc gctactgccc gaatatgccc tacatccttc cattgcgcct acccccggct 16740
 atcgtggcta cacctaccgc ccagaagac gagcaactac ccgacgccga accaccactg 16800
 gaaccgcggc ccgcccgtgc cgtcgcacgc ccgtgctggc cccgatttcc gtgcccaggg 16860
 tggctcgcga aggagcgagg accctggtgc tgccaacagc gcgctaccac cccagcatcg 16920
 tttaaaagcc ggtctttgtg gttcttgagc atatggccct cacctgccgc ctccgtttcc 16980
 cggtgcccggg attccgagga agaatgcacc gtaggagggg catggccggc cacggcctga 17040
 cgggcggcat gcgtcgtgcg caccaccggc ggccgcgcgc gtcgcaccgt cgcagcgcg 17100
 gcggtatcct gccctcctt attccactga tcgcccgggc gattggcgcc gtgcccggaa 17160
 ttgcatccgt ggccttgag gcgcagagac actgattaaa aacaagttgc atgtgaaaa 17220
 atcaaaaataa aaagtctgga ctctcacgct cgcttgggtcc tgtaactatt ttgtagaatg 17280
 gaagacatca actttgcgtc tctggccccg cgacacggct cgcgccggtt catgggaaac 17340
 tggcaagata tcggcaccag caatatgagc ggtggcgcct tcagctgggg ctgctgtgg 17400
 agcggcatta aaaatttcg ttccaccggt aagaactatg gcagcaaggc ctggaacagc 17460

ES 2 703 913 T3

agcacaggcc agatgctgag ggataagttg aaagagcaaa atttccaaca aaagtggtta 17520
 gatggcctgg cctctggcat tagcggggtg gtggacctgg ccaaccaggc agtgcaaaat 17580
 aagattaaca gtaagcttga tccccgccct cccgtagagg agcctccacc ggccgtggag 17640
 acagtgtctc cagaggggcg tggcgaaaag cgtccgcgcc ccgacagga agaaactctg 17700
 gtgacgcaaa tagacgagcc tccctcgtac gaggaggcac taaagcaagg cctgccacc 17760
 acccgtccca tcgcgcccat ggctaccgga gtgctgggcc agcacacacc cgtaacgctg 17820
 gacctgcctc cccccgccga caccagcag aaacctgtgc tgccaggccc gaccgccgtt 17880
 gttgtaaccg gtcctagccg cgcgtccctg cgcgcgccc ccagcggctc gcgatcgtt 17940
 cggcccgtag ccagtggcaa ctggcaaagc aactgaaca gcatcgtggg tctgggggtg 18000
 caatccctga agcgcgcagc atgcttctga tagctaactg gtcgtatgtg tgtcatgtat 18060
 gcgtccatgt cgcgcgcaga ggagctgctg agccgcgcg cgcgcgctt ccaagatggc 18120
 taccctctc atgatgccg agtggcttta catgcacatc tcgggccagg acgcctcgga 18180
 gtacctgagc cccgggctgg tgcagtttgc ccgcgccacc gagacgtact tcagcctgaa 18240
 taacaagttt agaaacccca cggtgccgcc tacgcacgac gtgaccacag accggtccca 18300
 gcgtttgacg ctgcggttca tccctgtgga ccgtgaggat actgcgtact cgtacaaggc 18360
 gcggttcacc ctagctgtgg gtgataaccg tgtgctggac atggcttcca cgtactttga 18420
 catccgcggc gtgctggaca ggggccctac ttttaagccc tactctggca ctgcctaaa 18480
 cgccttggt cccaaggtg ccccaaatcc ttggaatgg gatgaagctg ctactgctct 18540
 tgaataaac ctagaagaag aggacgatga caacgaagac gaagtagacg agcaagctga 18600
 gcagcaaaaa actcacgtat ttgggcaggc gccttattct ggtataaata ttacaaagga 18660
 gggatttcaa ataggtgtcg aaggtaaacc acctaaatat gccgataaaa catttcaacc 18720
 tgaacctcaa ataggagaat ctcagtggtg cgaaacagaa attaatcatg cagctgggag 18780
 agtcctaaaa aagactacct caatgaaacc atgttacggt tcatatgcaa aaccacaaa 18840
 tgaatgga gggcaaggca ttcttgtaaa gcaacaaaat ggaaagctag aaagtcaagt 18900
 ggaaatgcaa tttttctcaa ctactgaggc agccgcaggc aatggtgata acttgactcc 18960
 taaagtggta ttgtacagtg aagatgtaga tatagaaacc ccagacactc atatttctta 19020
 catgccactc attaaggaag gtaactcacg agaactaatg ggccaacaat ctatgcccaa 19080
 caggcctaatac tacattgctt ttagggacaa ttttattggt ctaatgtatt acaacagcac 19140
 gggtaatatg ggtgttctg cgggccaagc atcgcagttg aatgctgtt tagatttgca 19200
 agacagaaac acagagcttt cataccagct tttgcttgat tccattggtg atagaaccag 19260
 gtacttttct atgtggaatc aggctgttga cagctatgat ccagatgta gaattattga 19320

ES 2 703 913 T3

aatcatgga actgaagatg aacttccaaa ttactgcttt cactgggag gtgtgattaa 19380
 tacagagact ottaccaagg taaaacctaa aacaggtcag gaaaatggat gggaaaaaga 19440
 tgctacagaa ttttcagata aaaatgaaat aagagttgga aataattttg ccatggaaat 19500
 caatctaaat gccaacctgt ggagaaattt cctgtactcc aacatagcgc tgtatttgcc 19560
 cgacaagcta aagtacagtc cttccaacgt aaaaatttct gataacccaa acacctacga 19620
 ctacatgaac aagcgagtgg tggctcccg gctagtggac tgctacatta accttggagc 19680
 acgctggtcc cttgactata tggacaacgt caaccattt aaccaccacc gcaatgctgg 19740
 cctgcgctac cgctcaatgt tgctgggcaa tggctgctat gtgcccttcc acatccaggt 19800
 gcctcagaag ttctttgcca ttaaaaacct ccttctcctg cggggtcat acacctacga 19860
 gtggaacttc aggaaggatg ttaacatggt tctgcagagc tocctaggaa atgacctaag 19920
 ggttgacgga gccagcatta agtttgatag catttgctt tacgccacct tcttcccat 19980
 ggcccacaac accgcctcca cgcttgaggc catgcttaga aacgacacca acgaccagtc 20040
 cttaacgac tatctctccg ccgccaacat gctctaccct ataccgcca acgctaccaa 20100
 cgtgcccata tccatcccct ccgcaactg ggcggttcc cgcggtggg ccttcacgcy 20160
 ccttaagact aaggaacct catcactggg ctcggtctac gacccttatt acacctactc 20220
 tggctctata ccctacctag atggaacctt ttacctcaac cacacctta agaagtgggc 20280
 cattacctt gactcttctg tcagctggcc tggcaatgac cgcctgetta ccccaacga 20340
 gtttgaatt aagcgtcag ttgacggga ggttacaac gttgccagc gtaacatgac 20400
 caaagactgg ttcttggtac aatgctagc taactataac attggctacc agggcttcta 20460
 tatcccagag agctacaagg accgcatgta ctcttcttt agaaacttcc agcccatgag 20520
 ccgtcaggtg gtggatgata ctaaatacaa ggactaccaa caggtgggca tcctacacca 20580
 acacaacaac tctggatttg ttggctacct tgccccacc atgcgcgaag gacaggccta 20640
 ccctgctaac ttcccctatc cgcttatagg caagaccgca gttgacagca ttaccagaa 20700
 aaagtttctt tgcgatcgca cccttggcg catcccattc tccagtaact ttatgtccat 20760
 gggcgcactc acagacctgg gccaaaacct tctctacgcc aactccgcc acgcgctaga 20820
 catgactttt gagtggtatc ccatggacga gccaccctt ctttatggtt tgtttgaagt 20880
 ctttgacgtg gtccgtgtgc accagccgca ccgcgcgctc atcgaaccg tgtacctgcy 20940
 cacgcccttc tcggccggca acgccacaac ataaagaagc aagcaacatc aacaacagct 21000
 gccccatgg gctccagtga gcaggaactg aaagccattg tcaaagatct tggttgtggg 21060
 ccatatttt tgggcacctg tgacaagcgc tttccaggct ttgtttctcc acacaagctc 21120
 gcctgcgcca tagtcaatac ggccggctgc gagactggg gcgtacactg gatggcctt 21180
 gcctggaacc cgcaactcaa aacatgctac ctctttgagc cctttggctt ttctgaccag 21240

ES 2 703 913 T3

cgactcaagc aggtttacca gtttgagtac gagtcactcc tgcgccgtag cgccattgct 21300
tcttccccgc accgctgtat aacgctggaa aagtccaccc aaagcgtaca ggggcccaac 21360
tcggccgcct gtggactatt ctgctgcatg tttctccacg cctttgccaa ctggcccaaa 21420
actcccatgg atcacaaccc caccatgaac cttattaccg gggtagccaa ctccatgctc 21480
aacagtcccc aggtacagcc caccctgcgt cgcaaccagg aacagctcta cagcttcctg 21540
gagcgccact cgccctactt cgcgagccac agtgcgcaga ttaggagcgc cacttccttt 21600
tgtcacttga aaaacatgta aaaataatgt actagagaca ctttcaataa aggcaaatgc 21660
ttttatttgt acactctcgg gtgattattt acccccaccc ttgccgtctg cgccgtttaa 21720
aatcaaagc ggttctgcgc cgcctcgcga tgcgccactg gcagggacac gttgcgatac 21780
tgggtgttag tgctccactt aaactcaggc acaaccatcc gcggcagctc ggtgaagtgt 21840
tcactccaca ggctgcgcac catcaccaac gcgtttagca ggtcgggcgc cgatatcttg 21900
aagtcgcagt tggggcctcc gccctgcgcg cgcgagttgc gatacacagg gttgcagcac 21960
tgaaacacta tcagcgcgcg gtggtgcacg ctggccagca cgctcttgtc ggagatcaga 22020
tccgcgtcca ggtcctccgc gttgctcagg gcgaacggag tcaactttgg tagctgcctt 22080
cccaaaaagc gcgcgtgccc aggctttgag ttgcactcgc accgtagtgg catcaaaagc 22140
tgaccgtgcc cggctctggc gttaggatac agcgcctgca taaaagcctt gatctgctta 22200
aaagccacct gagcctttgc gccttcagag aagaacatgc cgcaagactt gccggaaaac 22260
tgattggccc gacaggccgc gtcgtgcacg cagcaccttg cgtcgggtgt ggagatctgc 22320
accacatttc ggccccaccg gttcttcacg atcttggcct tgctagactg ctccctcagc 22380
gcgcgctgcc cgttttgcgt cgtcacatcc atttcaatca cgtgctcctt atttatcata 22440
atgcttccgt gtagacactt aagctcgcct tcgatctcag cgcagcgggtg cagccacaac 22500
gcgcagcccc tgggctcgtg atgctttagt gtcacctctg caaacgactg caggtacgcc 22560
tgcaggaatc gcccacatcat cgtcacaaaag gtcttgttgc tgggaaggt cagctgcaac 22620
ccgcggtgct cctcgttcag ccaggtcttg catacggccg ccagagcttc cacttgggtca 22680
ggcagtagtt tgaagttcgc ctttagatcg ttatccacgt ggtacttgtc catcagcgcg 22740
cgcgcagcct ccatgccctt ctcccacgca gacacgatcg gcacactcag cgggttcac 22800
accgtaattt cactttccgc ttcgctgggc tcttcctctt cctcttgcgt ccgcatacca 22860
cgcgccactg ggtcgtcttc attcagccgc cgcactgtgc gcttacctcc tttgcaatgc 22920
ttgattagca ccggtgggtt gctgaaaccc accatttcta gcgccacatc ttctctttct 22980
tcctcgtctg ccacgattac ctctggtgat ggcgggcgct cgggcttggg agaagggcgc 23040
ttctttttct tcttgggcgc aatggccaaa tccgcgcgcg aggtcgatgg ccgcgggctg 23100

ES 2 703 913 T3

ggtgtgcgcg gcaccagcgc gtcttgtgat gagtcttct cgtcctcggg ctcgatacgc 23160
 cgcctcatcc gcttttttgg gggcgcccgg ggagggcgcg gcgacgggga cggggacgac 23220
 acgtcctcca tggttggggg acgtcgcgcc gcaccgcgtc cgcgctcggg ggtggtttcg 23280
 cgtgctcct cttcccgaact ggccatttcc ttctcctata ggcagaaaa gatcatggag 23340
 tcagtogaga agaaggacag cctaaccgcc ccctctgagt togccaccac cgcctccacc 23400
 gatgcgcca acgcgcctac caccttcccc gtcgaggcac ccccgcttga ggaggaggaa 23460
 gtgattatcg agcaggacc aggttttgta agcgaagacg acgaggaccg ctcagtacca 23520
 acagaggata aaaagcaaga ccagacaac gcagaggcaa acgaggaaaca agtcggggcg 23580
 ggggacgaaa ggcatggcga ctacctagat gtgggagacg acgtgctggt gaagcatctg 23640
 cagcgccagt gcgccattat ctgcgacgcg ttgcaagagc gcagcgatgt gccctcgc 23700
 atagcggatg tcagccttgc ctacgaacgc cacctattct caccgcgctg accccc aaa 23760
 cgccaagaaa acggcacatg cgagcccaac cgcgcctca acttctacc cgtatttgc 23820
 gtgccagagg tgcttgccac ctatcacatc tttttccaaa actgcaagat acccctatcc 23880
 tgccgtgcca accgcagccg agcggacaag cagctggcct tgcggcaggg cgctgtcata 23940
 cctgatatcg cctcgtcaa cgaagtgcc aaaatctttg agggctttgg acgcgacgag 24000
 aagcgcgcg caaacgctct gcaacaggaa aacagcga aaatgaaagtca ctctggagtg 24060
 ttggtggaac tcgaggggta caacgcgcg ctagccgtac taaaacgcag catcgaggtc 24120
 acccactttg cctaccggc acttaacct cccccaagg tcatgagcac agtcatgagt 24180
 gagctgatcg tgcgccgtgc gcagcccctg gagagggatg caaatttga agaacaaca 24240
 gagggggcc taccgcagt tggcgacgag cagctagcgc gctggcttca aacgcgcgag 24300
 cctgccgact tggaggagcg acgcaaaact atgatggccg cagtgcctcg taccgtggag 24360
 cttgagtga tgacgggtt ctttctgac ccggagatgc agcgcgaagct agaggaaaca 24420
 ttgcaactaca cttttogaca gggctacgta cgccaggcct gcaagatct caacgtggag 24480
 ctctgcaacc tggctccta ccttggatt ttgcaagaaa accgccttgg gcaaaacgtg 24540
 cttcattcca cgctcaagg cgaggcgcgc cgcgactacg tccgcgactg cgtttactta 24600
 tttctatgct acacctggca gacggccatg ggcgtttggc agcagtgcct ggaggagtgc 24660
 aacctcaag agctgcagaa actgctaaag caaaacttga aggacctatg gacggccttc 24720
 aacgagcgt ccgtggccgc gcacctggcg gacatcattt tccccgaacg cctgcttaa 24780
 accctgcaac aggtctgcc agacttcacc agtcaaagca tgttgacagaa ctttaggaac 24840
 tttatcctag agcgtcagg aatcttgcgc gccacctgct gtgcacttcc tagcgacttt 24900
 gtgccatta agtaccgca atgccctcg ccgctttggg gccactgcta ctttctgag 24960
 ctagccaact accttgccta ccactctgac ataatggaag acgtgagcgg tgacggtcta 25020

ES 2 703 913 T3

ctggagtgtc actgtcgctg caacctatgc accccgcacc gctccctggt ttgcaattcg 25080
cagctgctta acgaaagtca aattatcggg acctttgagc tgcagggtcc ctgcctgac 25140
gaaaagtccg cggctccggg gttgaaactc actccggggc tgtggacgtc ggcttacctt 25200
cgcaaatttg tacctgagga ctaccacgcc cagcagatta ggttctacga agaccaatcc 25260
cgcccgccta atgocggagct taccgcctgc gtcattacc agggccacat tcttggccaa 25320
ttgcaagcca tcaacaagc cgcacaagag tttctgctac gaaagggacg gggggtttac 25380
ttggaccccc agtccggcga ggagctcaac ccaatcccc cgcccgccga gccctatcag 25440
cagcagccgc gggcccttgc ttcccaggat ggcacccaaa aagaagctgc agctgccgcc 25500
gccaccacg gacgaggagg aatactggga cagtcaggca gaggaggttt tggacgagga 25560
ggaggaggac atgatggaag actgggagag cctagacgag gaagcttccg aggtcgaaga 25620
ggtgtcagac gaaacaccgt caccctcggg cgcattcccc tcgccggcgc cccagaaatc 25680
ggcaaccggg tccagcatgg ctacaacctc cgctcctcag gcgccgccg cactgcccggt 25740
tcgccgacc aaccgtagat gggacaccac tggaaaccagg gccggttaagt ccaagcagcc 25800
gcccgcgta gcccaagagc aacaacagcg ccaaggctac cgctcatggc gcgggcacaa 25860
gaacgccata gttgcttgct tgcaagactg tgggggcaac atctccttcg cccgccgctt 25920
tcttctctac catcacggcg tggccttccc ccgtaacatc ctgcattact accgtcatct 25980
ctacagccca tactgcaccg gcggcagcgg cagcaacagc agcggccaca cagaagcaaa 26040
ggcgaccgga tagcaagact ctgacaaagc ccaagaaatc cacagcggcg gcagcagcag 26100
gaggaggagc gctgcgtctg gcgcccaacg aaccgctatc gaccgcgag cttagaaca 26160
ggatttttcc cactctgtat gctatatttc aacagagcag gggccaagaa caagagctga 26220
aaataaaaaa caggtctctg cgatccctca cccgcagctg cctgtatcac aaaagcgaag 26280
atcagcttcg gcgcacgctg gaagacgcgg aggtctctct cagtaaatac tgccgcgtga 26340
ctcttaagga ctagtctgc gccctttctc aaatttaagc gcgaaaacta cgtcatctcc 26400
agcggccaca cccggcgcca gcacctgttgc tcagcgccat tatgagcaag gaaattccca 26460
cgccctacat gtggagttac cagccacaaa tgggacttgc ggctggagct gcccaagact 26520
actcaacccc aataaaactac atgagcgcgg gacccacat gatatcccgg gtcaacggaa 26580
tacgcgcca ccgaaaccga attctcctgg aacaggcggc tattaccacc acacctcgt 26640
ataacotta tccccgtagt tggcccgtg cctggtgta ccaggaaagt cccgctccca 26700
ccactgtggt acttcccaga gacgccagc ccgaagtca gatgactaac tcaggggcgc 26760
agcttgccgg cggctttcgt cacagggtgc ggtcgcccgg gcagggtata actcacctga 26820
caatcagagg gcgaggtatt cagctcaacg acgagtcggg gagctcctcg cttggtctcc 26880

ES 2 703 913 T3

gtccggacgg gacatttcag atcggcggcg ccggccgctc ttcattcacg cctcgtcagg 26940
caatcctaac tctgcagacc tcgtcctctg agccgcgctc tggaggcatt ggaactctgc 27000
aatttattga ggagtttgtg ccatcggctc actttaacct cttctcggga cctcccggcc 27060
actatccgga tcaatttatt cctaactttg acgcggtaaa ggactcggcg gacggctacg 27120
actgaatggt aagtggagag gcagagcaac tgcgcctgaa acacctggtc cactgtcggc 27180
gccacaagt ctttgcgccg gactccggtg agttttgcta ctttgaattg cccgaggatc 27240
atatcgaggg cccggcgcac ggcgtccggc ttaccgcca gggagagctt gcccgtagcc 27300
tgattcggga gtttaaccag cgcacctcgc tagttgagcg ggacagggga ccctgtgttc 27360
tactgtgat ttgcaactgt cctaaccctg gattacatca agatctttgt tgccatctct 27420
gtgctgagta taataaatac agaaattaa atatactggg gtcctatcg ccatcctgta 27480
aacgccaccg tcttcaccgg cccaagcaaa ccaaggcgaa ccttacctgg tacttttaac 27540
atctctccct ctgtgattta caacagtttc aaccagacg gagtgagtct acgagagAAC 27600
ctctccgagc tcagctactc catcagaaaa aacaccacc tccttacctg ccgggaacgt 27660
acgagtgcgt caccggccgc tgcaccacac ctaccgctg accgtaaacc agactttttc 27720
cggacagacc tcaataactc tgtttaccag aacaggaggt gagcttagaa aacccttagg 27780
gtattaggcc aaaggcgcag ctactgtggg gtttatgaac aattcaagca actctacggg 27840
ctattctaattcaggtttct ctagaatcgg ggttggggtt attctctgtc ttgtgattct 27900
ctttattctt atactaacgc ttctctgcct aaggctcgcc gcctgctgtg tgcacatttg 27960
catttattgt cagcttttta aacgctgggg tcgccacca agatgattag gtacataatc 28020
ctaggtttac tcacccttgc gtcagccac ggtaccacc aaaaggtgga ttttaaggag 28080
ccagcctgta atgttacatt cgcagctgaa gctaataagt gcaccactct tataaaatgc 28140
accacagaac atgaaaagct gcttattcgc cacaaaaaca aaattggcaa gtatgctggt 28200
tatgctattt ggcagccagg tgacactaca gagtataatg ttacagtttt ccagggtaaa 28260
agtcataaaa cttttatgta tacttttcca ttttatgaaa tgtgcgacat taccatgtac 28320
atgagcaaac agtataagtt gtggccccc caaaattgtg tggaaaacac tggcactttc 28380
tgctgcactg ctatgctaatt tacagtgtc gctttggtct gtaccctact ctatattaaa 28440
tacaaaagca gacgcagctt tattgaggaa aagaaaatgc ctttaattac taagttacaa 28500
agctaattgc accactaact gctttactcg ctgcttgcac aacaaattca aaaagttagc 28560
attataatta gaataggatt taaaccccc ggtcatttcc tgctcaatac cattcccctg 28620
aacaattgac tctatgtggg atatgctcca gcgctacaac cttgaagtca ggcttcctgg 28680
atgtcagcat ctgactttgg ccagcacctg tcccgcggat ttgttccagt ccaactacag 28740
cgaccacccc taacagagat gaccaacaca accaacgcgg ccgcccgtac cggacttaca 28800

ES 2 703 913 T3

tctaccacaa atacacccca agtttctgcc tttgtcaata actgggataa cttgggcatg 28860
 tgggtggttct ccatagcgct tatgtttgta tgccttatta ttatgtggct catctgctgc 28920
 ctaaagcgca aacgcgcccg accaccatc tatagtccca tcattgtgct acacccaaac 28980
 aatgatggaa tccatagatt ggacggactg aaacacatgt tcttttctct tacagtatga 29040
 ttaaagaga catgattcct cgagttttta tattactgac ccttggtgcg cttttttgt 29100
 gcgtgctcca cattggctgc ggtttctcac atogaagtag actgcattcc agccttcaca 29160
 gtctatttgc tttacggatt tgtcacctc acgctcatct gcagcctcat cactgtggtc 29220
 atgccttta tccagtgc atgactggct tgtgtgcgct ttgcatatct cagacacat 29280
 cccagtaga gggacaggac tatagctgag cttcttagaa ttctttaatt atgaaattta 29340
 ctgtgacttt tctgctgatt atttgaccc tatctgcgtt ttgttccccg acctccaagc 29400
 ctcaaagaca tatatcatgc agattcactc gtatatggaa tattccaagt tgctacaatg 29460
 aaaaaagcga tctttccgaa gcctggttat atgcaatcat ctctggtatg gtgttctgca 29520
 gtaccatctt agccctagct atatatccct acctgacat tggttggaac gcaatagatg 29580
 ccatgaacca cccaactttc cccgcgcccg ctatgcttcc actgcaacaa gttggtgccg 29640
 gcggctttgt cccagccaat cagcctcgcc caccttctcc cacccccact gaaatcagct 29700
 actttaatct aacaggagga gatgactgac accctagatc tagaaatgga cgggaattatt 29760
 acagagcagc gcctgctaga aagacgcagg gcagcggccg agcaacagcg catgaatcaa 29820
 gagctccaag acatggttaa cttgcaccag tgcaaaaggg gtatcttttg tctggtaaag 29880
 caggccaaag tcacctacga cagtaatacc accggacacc gccttagcta caagttgcca 29940
 accaagcgtc agaaattggt ggtcatggtg ggagaaaagc ccattaccat aactcagcac 30000
 tcggtagaaa ccgaagcgtg cattcactca ccttgtcaag gacctgagga tctctgcacc 30060
 cttattaaga ccctgtgagg tctcaaagat cttattccct ttaactaata aaaaaaata 30120
 ataaagcatc acttacttaa aatcagttag caaatttctg tccagtttat tcagcagcac 30180
 ctcttgccc tctcccagc tctggtattg cagcttctc ctggctgcaa actttctcca 30240
 caatctaaat ggaatgtcag tttcctcctg ttctgtcca tccgcacca ctatcttcat 30300
 gttggtgcag atgaagcgcg caagaccgct tgaagatacc ttcaaccccg tgtatccata 30360
 tgacacggaa accggtcctc caactgtgcc ttttcttact cctcccttg tatccccaa 30420
 tgggtttcaa gagagtcccc ctgggtact ctctttgcgc ctatccgaac ctctagttac 30480
 ctccaatggc atgcttgcc tcaaaatggg caacggcctc tctctggacg aggccggcaa 30540
 ccttacctcc caaaatgtaa cactgtgag cccacctc aaaaaacca agtcaaacat 30600
 aaacctggaa atatctgcac ccctcacagt tacctcagaa gccctaactg tggtgccc 30660

ES 2 703 913 T3

cgcacctcta atggtogcgg gcaacacact caccatgcaa tcacaggccc cgctaaccgt 30720
gcacgactcc aaacttagca ttgccacca aggaccctc acagtgtcag aaggaaagct 30780
agccctgcaa acatcaggcc ccctcaccac caccgatagc agtaccctta ctatcactgc 30840
ctcaccccct ctaactactg ccactggtag cttgggcatt gacttgaaag agcccattta 30900
tacacaaaat ggaaaactag gactaaagta cggggctcct ttgcatgtaa cagacgacct 30960
aaacactttg accgtagcaa ctgggccagg tgtgactatt aataatactt ccttgcaaac 31020
taaagttact ggagccttgg gttttgattc acaaggcaat atgcaactta atgtagcagg 31080
aggactaagg attgattctc aaaacagacg ccttatactt gatgttagtt atccgtttga 31140
tgctcaaaac caactaaatc taagactagg acagggccct ctttttataa actcagccca 31200
caacttggat attaaactaca acaaaggcct ttacttgttt acagcttcaa acaattccaa 31260
aaagcttgag gttaacctaa gcactgcca ggggttgatg tttgacgcta cagccatagc 31320
cattaatgca ggagatgggc ttgaatttgg ttcaccta at gcaccaaaca caaatccct 31380
caaaacaaaa attggccatg gcctagaatt tgattcaaac aaggctatgg ttcctaaact 31440
aggaactggc cttagttttg acagcacagg tgccattaca gtaggaaca aaaataatga 31500
taagctaact ttgtggacca caccagctcc atctcctaac tgtagactaa atgcagagaa 31560
agatgctaaa ctacttttgg tcttaacaaa atgtggcagt caaatacttg ctacagtttc 31620
agttttggct gttaaaggca gtttggctcc aatatctgga acagttcaaa gtgctcatct 31680
tattataaga tttgacgaaa atggagtgt actaaacaat tccttcctgg acccagaata 31740
ttggaacttt agaaatggag atcttactga aggcacagcc tatacaaacg ctggttgatt 31800
tatgcctaac ctatcagctt atccaaaatc tcacggtaaa actgcaaaa gtaacattgt 31860
cagtcaagtt tacttaaacg gagacaaaac taaacctgta aactaacca ttactactaa 31920
cggtaacacag gaaacaggag acacaactcc aagtgcatac tctatgtcat tttcatggga 31980
ctggtctggc cacaaactaca ttaatgaaat atttgccaca tcctcttaca ctttttcata 32040
cattgccc aa gaataaagaa tcgtttgtgt tatgtttcaa cgtgtttatt tttcaattgc 32100
agaaaatttc aagtcatttt tcattcagta gtatagcccc accaccacat agcttatata 32160
gatcaccgta ccttaatcaa actcacagaa ccctagtatt caacctgcca cctccctccc 32220
aacacacaga gtacacagtc ctttctcccc ggctggcctt aaaaagcatc atatcatggg 32280
taacagacat attcttaggt gttatattcc acacggtttc ctgtcgagcc aaacgctcat 32340
cagtgatatt aataaactcc ccgggcagct cacttaagtt catgtcgctg tccagctgct 32400
gagccacagg ctgctgtcca acttgcggtt gcttaacggg cggcgaagga gaagtccacg 32460
cctacatggg ggtagagtca taatcgtgca tcaggatagg cgggtggtgc tgcagcagcg 32520
cggaataaaa ctgctgccgc cgccgctccg tcctgcagga atacaacatg gcagtggtct 32580

ES 2 703 913 T3

cctcagcgat gattcgcacc gcccgcagca taaggcgct tgtcctccgg gcacagcagc 32640
gcaccctgat ctacttaaa tcagcacagt aactgcagca cagcaccaca atattgttca 32700
aatcccaca gtgcaaggcg ctgtatccaa agctcatggc ggggaccaca gaaccacgt 32760
ggccatcata ccacaagcgc aggtagatta agtggcgacc cctcataaac acgctggaca 32820
taaacattac ctcttttggc atgttgtaat tcaccacctc ccggtaccat ataaacctct 32880
gattaaacat gggcccatcc accaccatcc taaaccagct ggccaaaacc tgcccgcgcg 32940
ctatacactg caggaacccg ggactggaac aatgacagtg gagagcccag gactcgtaac 33000
catggatcat catgctcgtc atgatatcaa tgttggcaca acacaggcac acgtgcatac 33060
acttcctcag gattacaagc tctcccgcg ttagaacctat atcccaggga acaaccatt 33120
cctgaatcag cgtaaatccc aactgcagc gaagacctcg cacgtaactc acgttgtgca 33180
ttgtcaaagt gttacattcg ggcagcagcg gatgatcctc cagtatggtg gcgcggggtt 33240
ctgtctcaaa aggaggtaga cgatccctac tgtacggagt gcgccgagac aaccgagatc 33300
gtgttggtcg tagtgtcatg ccaaattgaa cgccggacgt agtcatattt cctgaagcaa 33360
aaccaggtgc gggcgtgaca aacagatctg cgtctccggt ctcgcccgtt agatcgctct 33420
gtgtagtagt tgtagtatat ccaactctctc aaagcatcca ggcgccccct ggcttcgggt 33480
tctatgtaaa ctcttcatg cgccgctgcc ctgataacat ccaccaccgc agaataagcc 33540
acaccagcc aacctacaca ttcgttctgc gagtcacaca cgggaggagc ggaagagct 33600
ggaagaacca tgtttttttt tttattccaa aagattatcc aaaacctca aatgaagatc 33660
tattaagtga acgcgctccc ctccggtggc gtggtcaaac tctacagcca aagaacagat 33720
aatggcattt gtaagatggt gcacaatggc ttccaaaagg caaacggccc tcacgtccaa 33780
gtggacgtaa aggctaaacc cttcagggtg aatctcctct ataaacattc cagcaccttc 33840
aaccatgccc aaataattct catctcgcca ccttctcaat atatctctaa gcaaatcccg 33900
aatattaagt ccggccattg taaaaatctg ctccagagcg ccctccacct tcagcctcaa 33960
gcagcgaatc atgattgcaa aaattcaggt tcctcacaga cctgtataag attcaaaagc 34020
ggaacattaa caaaaatacc gcgatcccgt aggtcccttc gcagggccag ctgaacataa 34080
tcgtgcaggt ctgcacggac cagcgcggcc acttccccgc caggaaccat gacaaaagaa 34140
cccacactga ttatgacacg catactcgga gctatgctaa ccagcgtagc cccgatgtaa 34200
gcttggtgca tggcgggcga tataaaatgc aagggtgctgc tcaaaaaatc aggcaaagcc 34260
tcgcgcaaaa aagaaagcac atcgtagtca tgctcatgca gataaaggca ggtaagctcc 34320
ggaaccacca cagaaaaaga caccattttt ctctcaaaca tgtctgctggg tttctgcata 34380
aacacaaaat aaaataacaa aaaaacattt aaacattaga agcctgtctt acaacaggaa 34440

ES 2 703 913 T3

aaacaacct tataagcata agacggacta cggccatgcc ggcgtgaccg taaaaaaact 34500
 ggtcaccgtg attaaaaagc accaccgaca gtcctcgggt catgtccgga gtcataatgt 34560
 aagactcgggt aaacacatca ggttgattca catcggtcag tgctaaaaag cgaccgaaat 34620
 agccccgggg aatacatacc cgcaggcgta gagacaacat tacagcccc ataggaggta 34680
 taacaaaatt aataggagag aaaaacacat aaacacctga aaaaccctcc tgcctaggca 34740
 aatagcacc ctcccgtcc agaacaacat acagcgcttc cacagcggca gccataacag 34800
 tcagccttac cagtaaaaa gaaaacctat taaaaaaca cactcgcaca cggcaccagc 34860
 tcaatcagtc acagtgtaaa aaagggccaa gtgcagagcg agtatatata ggactaaaaa 34920
 atgacgtaac ggttaaagtc cacaaaaaac acccagaaaa ccgcacgcga acctacgcc 34980
 agaaacgaaa gccaaaaaac ccacaacttc ctcaaatcgt cacttccgtt ttcccacggt 35040
 acgtcacttc ccattttaag aaaactacaa ttccaacac atacaagtta ctccgcccta 35100
 aaacctacgt caccgcgcc gttcccacgc cccgcgccac gtcacaaact ccaccccctc 35160
 attatcatat tggcttcaat caaaataag gtatattatt gatgatg 35207

<210> 20
 <211> 35203
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Construcción que contiene dos desapareamientos sin duplicación

<400> 20
 catcatcaat aatatacctt attttgatt gaagccaata tgataatgag ggggtggagt 60
 ttgtgacgtg gcgcggggcg tgggaacggg gcgggtgacg tagtagtgtg gcggaagtgt 120
 gatgttgcaa gtgtggcggg acacatgtaa gcgacggatg tggcaaaagt gacgtttttg 180
 gtgtgcgccg gtgtacacag gaagtgacaa ttttcgcgcg gttttaggcg gatgtttag 240
 taaatttggg cgtaaccgag taagatttgg ccatthtcgc gggaaaactg aataagagga 300
 agtgaatct gaataattht gtgttactca tagcgcgtaa tatttgtcta gggccgcggg 360
 gactttgacc gtttacgtgg agactcgcgc aggtgttttt cttaggtgtt ttccgcgttc 420
 cgggtcaaaag ttggcgthtt attattatag tcagtacgta cgtgtacttc tgatcggcga 480
 tactagggag ataaggatgt acctgacaaa accacattgt tgttgttatc attattatth 540
 agthttcctt ccttgctaac tcttgacgga atctthtca cctcaaatgc gaagtactth 600
 agthtagaaa agacttgggt gaaggggtgg tgggtgaaaa gtagggatgat cttccaaact 660
 aatctggthc cccgcgccgc ccagtagctg ggattcaaga gcgaagagtg gggatcgtcc 720
 ccttgthtga tcagaaagac ataaaaggaa aatcaagtga acaatgatca gccccacctc 780
 cccccacc ccctgcgcgc gcacaatata atctatthaa ttgtacttca tactthtcat 840

10

ES 2 703 913 T3

tccaatgggg tgactttgct tctggagaaa ctcttgattc ttgaactctg gggctggcag 900
ctagcctcca gaagcaaagt caccctattg gaatgaaaag tatgaagtac aatgaaaagt 960
atgaagtact ggctccagaa gcaaagtcac cctccagaag caaagtcacc ccattggaat 1020
gaaaagtatg aagtacgcta gcaaaagggg aagcgggctg ctgctctctg caggttctgc 1080
agcggctctct gtctagtggg tgttttcttt ttcttagccc tgcccctgga ttgtcagacg 1140
gcgggcgtct gcctctgaag ttagccgtga tttcctctag agccgggtct tatctctggc 1200
tgcacgttgc ctgtgggtga ctaatcacac aataacattg tttagggtg gaataaagtc 1260
agagctgttt acccccactc tataggggtt caatataaaa aggcggcgga gaactgtccg 1320
agtcagaagc gttcctgcac cggcgtgag agcctgacct ggtctgctcc gctgtccttg 1380
cgcgtgctc cccggtgcc cgcgacgctt tcgcccagc ggaagggcca cttgctgcgg 1440
ccgctaattc tgcagatcgg gatccggcat gggcctctcc accgtgcctg acctgctgct 1500
gccgctgggt ctctctggagc tgttggtggg aatatacccc tcaggggtta ttggactggt 1560
ccctcaccta ggggacaggg agaagagaga tagtgtgtgt cccaagaa aatatatcca 1620
ccctcaaat aattcgattt gctgtaccaa gtgccacaaa ggaacctact tgtacaatga 1680
ctgtccaggc ccggggcagg atacggactg cagggagtgt gagagcggct ccttcaccgc 1740
ttcagaaaac cacctcagac actgcctcag ctgctccaaa tgccgaaagg aatgggtca 1800
ggtggagatc tcttcttgca cagtggaccg ggacaccgtg tgtggctgca ggaagaacca 1860
gtaccggcat tattggagtg aaaacctttt ccagtgtctc aattgcagcc tctgcctcaa 1920
tgggaccgtg cacctctcct gccaggagaa acagaacacc gtgtgcacct gccatgcagg 1980
tttctttcta agagaaaacg agtgtgtctc ctgtagtaac tgtaagaaaa gcctggagtg 2040
cacgaagttg tgcctaccaa gcttaggatc cagatetaac ttgggggtggc tttgtcttct 2100
tcttttgcca attccactaa ttgtttgggt gaagagaaaag gaagtacaga aaacatgcag 2160
aaagcacaga aaggaaaacc aaggttctca tgaatctcca accttaaatc ctgaaacagt 2220
ggcaataaat ttatctgatg ttgacttgag taaatatatc accactattg ctggagtcat 2280
gacactaagt caagttaaag gctttgttcg aaagaatggt gtcaatgaag ccaaaataga 2340
tgagatcaag aatgacaatg tccaagacac agcagaacag aaagttcaac tgcttogtaa 2400
ttggcatcaa cttcatggaa agaaagaagc gtatgacaca ttgattaaag atctcaaaaa 2460
agccaatctt tgtactottg cagagaaaaat tcagactatc atcctcaagg acattactag 2520
tgactcagaa aattcaaaact tcagaaatga aatccaaagc ttggtctagc tcgagcatgc 2580
atctaggcgg ccgcatggca gaaattcggg aattcgttag cgtaacgga tcctctagac 2640
gagatccgaa cttgtttatt gcagcttata atggttacia ataaagcaat agcatcacia 2700

ES 2 703 913 T3

atttcacaaa taaagcattt ttttcaactgc attctagttg tggtttgtcc aaactcatca 2760
 atgtatctta tcatgtctag atctgtactg aaatgtgtgg gcgtggctta aggggtgggaa 2820
 agaatatata aggtgggggt cttatgtagt tttgtatctg ttttgcagca gccgccgccg 2880
 ccatgagcac caactcgttt gatggaagca ttgtgagctc atatttgaca acgcgcatgc 2940
 ccccatgggc cgggggtgct cagaatgtga tgggctccag cattgatggt cgccccgtcc 3000
 tgcccgcaaa ctctaactacc ttgacctacg agaccgtgtc tggaacgccg ttgggagactg 3060
 cagcctccgc cgccgcttca gccgctgcag ccaccgcccg cgggattgtg actgactttg 3120
 ctttctgag cccgcttgca agcagtgcag cttcccgttc atccgcccg gatgacaagt 3180
 tgacggctct tttggcacia ttggattctt tgaccggga acttaatgtc gtttctcagc 3240
 agctgttga tctgcgccag caggtttctg ccctgaaggc tcctcccct cccaatgagg 3300
 tttaaaacat aaataaaaa ccagactctg tttggatttg gatcaagcaa gtgtcttct 3360
 gtctttattt aggggtttt cgcgcgggt agggccggga ccagcgtct cggtcgttga 3420
 gggcctgtg tattttttcc aggacgtggt aaagtgact ctggatgtc agatacatgg 3480
 gcataagccc gtctctgggg tggaggtagc accactgcag agcttcatgc tgcggggtgg 3540
 tgtttagat gatccagtc tagcaggagc gctggcgctg gtgcctaaaa atgtctttca 3600
 gtagecaagct gattgccagg ggcaggccct tgggtgaagt gtttaciaag cggttaagct 3660
 gggatgggtg catacgtggg gatatgagat gcatcttga ctgtatttt aggttggtta 3720
 tgttcccagc catatccctc cggggattca tgttgtgcag aaccaccagc acagtgtatc 3780
 cgggtgcactt gggaaatttg tcatgtagct tagaaggaaa tgcgtggaag aacttggaga 3840
 cgcccttgtg acctccaaga ttttccatgc attcgtccat aatgatggca atgggccac 3900
 gggcggcggc ctgggcgaag atatttctgg gatcactaac gtcatagttg tgttccagga 3960
 tgagatcgtc atagccatt tttacaaagc gcggcgagg ggtgccagac tgcggtataa 4020
 tggttccatc cggcccaggg gcgtagtac cctcacagat ttgcatttcc cacgcttga 4080
 gttcagatgg ggggatcatg tctacctgcg gggcgatgaa gaaaacgggt tccgggtag 4140
 gggagatcag ctgggaagaa agcaggttcc tgagcagctg cgacttaccg cagccggtgg 4200
 gcccgtaaat cacacctatt accggctgca actggtagtt aagagagctg cagctgccgt 4260
 catccctgag caggggggcc acttcgttaa gcatgtccct gactcgcag ttttccctga 4320
 ccaaatccgc cagaaggcgc tcgccccca gcgatagcag ttcttgcaag gaagcaaagt 4380
 ttttcaacgg tttgagaccg tccgccgtag gcatgctttt gagcgtttga ccaagcagtt 4440
 ccaggcggtc ccacagctcg gtcacctgct ctacggcatc tcgatccagc atatctctc 4500
 gtttcgctgg ttggggcggc tttcgtgta cggcagtagt cgggtcctgt ccagacgggc 4560
 cagggtcatg tctttccacg ggcgcagggt cctcgtcagc gtagtctggg tcacggtgaa 4620

ES 2 703 913 T3

ggggtgcgct ccgggctgcg cgctggccag ggtgcgcttg aggetggtcc tgctgggtgct 4680
 gaagcgcctgc cggctcttcgc cctgcgcgctc ggcagagtag catttgacca tgggtgcata 4740
 gtccagcccc tccgcggcgt ggccttggc gcgcagcttg cccttgagg aggcgccgca 4800
 cgaggggagc tgcagacttt tgagggcgta gagcttggc gcgagaaata ccgattccgg 4860
 ggagtaggca tccgcgccgc agggcccgca gacggtctcg cattccacga gccaggtgag 4920
 ctctggccgt tccgggtcaa aaaccaggt tccccatgc tttttgatgc gtttcttacc 4980
 tctggtttcc atgagccggt gtccacgctc ggtgacgaaa aggctgtccg tgtccccgta 5040
 tacagacttg agaggcctgt cctcgagcgg tggtcccgcg tcctcctcgt atagaaactc 5100
 ggaccactct gagacaaagg ctgcgctcca ggcagcacg aaggaggcta agtgggaggg 5160
 gtagcggctg ttgtccacta gggggtccac tcgctccagg gtgtgaagac acatgtcgcc 5220
 ctcttcggca tcaaggaagg tgattggtt gtagggttag gccacgtgac cgggtgttcc 5280
 tgaagggggg ctataaaagg ggggtggggg gcgttcgctc tactctctt ccgcatcgct 5340
 gtctgogagg gccagctggt ggggtgagta ctccctctga aaagcgggca tgacttctgc 5400
 gctaaagattg tcagtttcca aaaacgagga ggatttgata ttcacctggc ccgcggtgat 5460
 gcctttgagg gtggccgcat ccatctggtc agaaaagaca atctttttgt tgtcaagctt 5520
 ggtggcaaac gaccctgata gggcgttga cagcaacttg gcgatggagc gcagggtttg 5580
 gtttttgcg cgatcggcgc gctccttggc cgcgatgtt agctgcacgt attcgcgcgc 5640
 aacgcaccgc cattcgggaa agacggtggt gcgctcgtcg ggcaccaggt gcacgcgcca 5700
 accgcggttg tgcaggggta caaggtaac gctggtggct acctctccgc gtaggcgctc 5760
 gttggtccag cagaggcggc cgccttggc cgagcagaat ggcggtaggg ggtctagctg 5820
 cgtctcgtcc ggggggtctg cgtccacggt aaagaccccg ggcagcaggc gcgcgtcgaa 5880
 gtagtctatc ttgcatcctt gcaagtctag cgctcgtgc catgcccggg cggcaagcgc 5940
 gcgctcgtat ggggtgagtg ggggacccca tggcatggg tgggtgagcg cggaggcgta 6000
 catgcccga atgtcgtaaa cgtagagggg ctctctgagt attccaagat atgtagggta 6060
 gcatcttcca ccgcggatgc tggcgcgcac gtaatcgtat agttcgtgcg agggagcgag 6120
 gaggtcggga ccgaggttgc tacgggcggg ctgctctgct cggaagacta tctgcctgaa 6180
 gatggcatgt gagttgagtg atatggttg acgctggaag acgttgaagc tggcgtctgt 6240
 gagacctacc gcgtcacgca cgaaggaggc gtaggagtcg cgcagcttgt tgaccagctc 6300
 ggcggtgacc tgcacgtcta gggcgcagta gtccagggtt tccttgatga tgtcatactt 6360
 atcctgtccc ttttttttcc acagctcgcg gttgaggaca aactcttcgc ggtctttcca 6420
 gtactcttgg atcggaaacc cgtcggcctc cgaacggtaa gagcctagca tgtagaactg 6480

ES 2 703 913 T3

gttgacggcc tggtaggcgc agcatccctt ttctacgggt agcgcgtatg cctgcgcggc 6540
 cttccggagc gaggtgtggg tgagcgc aaa ggtgtccctg accatgactt tgaggtactg 6600
 gtatttgaag tcagtgtcgt cgcacccgcc ctgctcccag agcaaaaagt ccgtgcgctt 6660
 tttggaacgc ggatttggca gggcgaaggt gacatcgttg aagagtatct ttcccgcgcg 6720
 aggcataaag ttgcgtgtga tgcggaaggg tcccggcacc tcggaacggt tgtaattac 6780
 ctggggggcg agcacgatct cgtcaaagcc gttgatgttg tggcccacaa tgtaaagttc 6840
 caagaagcgc gggatgccct tgatggaagg caatttttta agttcctcgt aggtgagctc 6900
 ttcaggggag ctgagcccgt gctctgaaag ggcccagtct gcaagatgag ggttgaagc 6960
 gacgaatgag ctccacaggt cacgggcat tagcatttgc aggtggtcgc gaaaggtcct 7020
 aaactggcga cctatggcca tttttctg ggtgatgcag tagaaggtaa gcgggtcttg 7080
 ttcccagcgc tcccatccaa ggttcgggc taggtctcgc gggcagtc a tagaggctc 7140
 atctccgcc aactcatga ccagcatgaa gggcacgagc tgcttccaa agggcccat 7200
 ccaagtatag gtctctacat cgtaggtgac aaagagacgc tcggtgcgag gatgcgagcc 7260
 gatcgggaag aactggatct cccgccacca attgaggag tggctattga tgtggtgaaa 7320
 gtagaagtcc ctgcgacggg ccgaacactc gtgctggctt ttgtaaaac gtgcgcagta 7380
 ctggcagcgc tgcacgggct gtacatcctg cacgaggtt acctgacgac cgcgcacaag 7440
 gaagcagagt gggaatttga gccctcgc tggcgggtt ggctggtgtt cttctacttc 7500
 ggctgcttgt ccttgaccgt ctggctgctc gaggggagtt acggtggatc ggaccaccac 7560
 gccgcgcgag ccaaagtcc agatgtccgc gcgcgcggt cggagcttga tgacaacatc 7620
 gcgcagatg gagctgtcca tggctcggag ctcccgcggc gtcaggtcag gcgggagctc 7680
 ctgcaggtt acctcgcata gacgggtcag ggcgcgggct agatccaggt gataccta 7740
 ttccaggggc tggttggtg cggcgtcgat ggcttcaag agggccatc cccgcggcgc 7800
 gactacggt a ccgcgcggc ggcggtggc cgcgggggt tccttgatg atgcatctaa 7860
 aagcgggtgac gcgggcgagc ccccgaggt aggggggct ccggaccgc cgggagaggg 7920
 ggcaggggca cgtcggcgc gcgcgcggc aggagctggt gctgcgcgc taggttgctg 7980
 gcgaacgcga cgacgcggc gttgatctcc tgaatctggc gcctctcgt gaagacgacg 8040
 ggcccgtgta gcttgaacct gaaagagagt tcgacagaat caatttcggt gtcggtgacg 8100
 gcggcctgac gcaaaatctc ctgcacgtct cctgagttgt cttgataggc gatctcggcc 8160
 atgaactgct cgatctcttc ctctggaga tctccgcgtc cggctcgtc cacggtggcg 8220
 gcgaggtcgt tggaaatgc ggccatgagc tgcgagaagg cgttgaggcc tccctcgttc 8280
 cagacgcgc tgtagaccac gcccccttc gcatcgggg cgcgcagac cacctgcgcg 8340
 agattgagct ccacgtgcc ggcgaagac gcgtagtttc gcaggcgtg aaagaggtag 8400

ES 2 703 913 T3

ttgaggggtg tggcgggtg ttctgccacg aagaagtaca taaccacgagc tgcgaacgtg 8460
 gattcgttga tatcccccaa ggcctcaagg cgctccatgg cctcgtagaa gtccacggcg 8520
 aagttgaaaa actgggagtt ggcgcccagc acggttaact cctcctccag aagacggatg 8580
 agctcggcga cagtgtcgcg cacctcgcgc tcaaaggcta caggggcctc ttcttcttct 8640
 tcaatctcct cttccataag ggcctcccct tcttcttctt ctggcggcgg tgggggaggg 8700
 gggacacggc ggcgacgagc ggcacccggg aggcggtcga caaagcctc gatcatctcc 8760
 ccgcccggac ggcgcatggt ctcggtgacg ggcgcccgt tctcgcggg ggcgagttgg 8820
 aagacgccgc ccgtcatgtc ccggttatgg gttggcgggg ggctgccatg cggcagggat 8880
 acggcgctaa cgatgcatct caacaattgt tgtgtaggta ctccgccgcc gagggacctg 8940
 agcaggtccg catcgaccgg atcggaaaac ctctcgagaa aggcgtctaa ccagtcacag 9000
 tcgcaaggta ggctgagcac cgtggcgggc ggcagcgggc ggcggtcggg gttgtttctg 9060
 gcggaggtgc tgctgatgat gtaattaaag taggcgtct tgagacggcg gatggtcgac 9120
 agaagcacca tgtccttggg tccggcctgc tgaatgcgca ggcggtcggc catgccccag 9180
 gcttcgtttt gacatcggcg caggtctttg tagtagtctt gcatgagcct ttctaccggc 9240
 acttcttctt ctcttctc ttgtcctgca tctcttgcat ctatcgctgc ggcggcggcg 9300
 gagtttgcc gtaggtggcg ccctcttctt cccatgcgtg tgaccccgaa gccctcatc 9360
 ggctgaagca gggctaggtc ggcgacaacg cgctcggtc atatggcctg ctgcacctgc 9420
 gtgagggtag actggaagtc atccatgtcc acaaagcggg ggtatgcgcc cgtgttgatg 9480
 gtgtaagtgc agttggccat aacggaccag ttaacggtct ggtgacccgg ctgcgagagc 9540
 tcggtgtacc tgagacgcca gtaagccctc gagtcaaata cgtagtcgtt gcaagtccgc 9600
 accaggtact ggtatcccac caaaaagtgc ggcggcggct ggcggtagag gggccagcgt 9660
 agggtagggc gggctccggg ggcgagatct tccaacataa ggcgatgata tccgtagatg 9720
 tacctggaca tccaggtgat gccggcggcg gtggtggagg cgcgcgaaa gtcgaggacg 9780
 cggttccaga tgttgccgag cggcaaaaag tgctccatgg tcgggacgct ctggccggtc 9840
 aggcgcgcgc aatcgttgac gctctagacc gtgcaaaaag agagcctgta agcgggcaact 9900
 cttccgtggt ctggtggata aattcgcaag ggtatcatgg cggacgaccg gggttcgagc 9960
 cccgtatccg gccgtccgcc gtgatccatg cggttaccgc ccgctgtctg aaccaggtg 10020
 tgcgacgtca gacaacgggg gagtgctcct tttggcttcc ttccaggcgc ggcggctgct 10080
 gcgctagctt ttttgccac tggccgcgcg cagcgtaacg ggttaggctg gaaagcgaaa 10140
 gcattaagtg gctcgtccc tgtagccgga gggttatfff ccaagggttg agtcgaggga 10200
 cccccggttc gagtctcgga ccggccggac tgcggcgaac gggggtttgc ctccccgtca 10260

ES 2 703 913 T3

tgcaagaccc	cgcttgcaaa	ttcctccgga	aacagggacg	agcccctttt	ttgcttttcc	10320
cagatgcatc	cggtgctgcg	gcagatgcmc	ccccctctc	agcagcggca	agagcaagag	10380
cagcggcaga	catgcagggc	accctcccct	cctcctaccg	cgtcaggagg	ggcgacatcc	10440
gcggttgacg	cggcagcaga	tggtgattac	gaacccccgc	ggcgccgggc	ccggcactac	10500
ctggacttgg	aggagggcga	gggcctggcg	gggctaggag	cgccctctcc	tgagcggcac	10560
ccaaggtgic	agctgaagcg	tgatacgcgt	gaggcgtacg	tgccgcggca	gaacctgttt	10620
cgcgaccgcg	agggagagga	gcccgaggag	atgcgggatc	gaaagtcca	cgcagggcgc	10680
gagctgcmgc	atggcctgaa	tcgcgagcgg	ttgctgcgcg	aggaggactt	tgagcccgc	10740
gcmgcaaccg	ggattagtcc	cmgcmgcmca	cacgtggcmg	cmgcmgacct	ggtaaccgca	10800
tacgagcaga	cggtgaacca	ggagattaac	tttcaaaaa	gctttaacaa	ccacgtgcmg	10860
acgcttgmgc	cmgcmgagga	ggtgmctata	ggactgatgc	atctgtggga	ctttgtaagc	10920
gcmgctggagc	aaaacccaaa	tagcaagcmg	ctcatgmcmg	agctgttctc	tatagtgcag	10980
cacagcmggg	acaacgagmc	attcagggat	cmgctgctaa	acatagtaga	gcccgagggc	11040
cmgctgmctg	tcgatttgat	aaacatcctg	cagagcatag	tggtgcagga	gcmgagcttg	11100
agcctgmctg	acaaggtggc	cmgcatcaac	tattccatgc	ttagcctggg	caagttttac	11160
gcccgcgaaga	tataccatac	cccttacgct	cccatagaca	aggaggtaaa	gatcmgagggg	11220
ttctacatgc	gcatggcmgct	gaaggtgctt	accttgagcmg	acgacctggg	cgtttatcmg	11280
aacgagcmgca	tccacaagmc	cmgtgagcmgtg	agccggcmggc	gcmgagctcag	cmgacctcmgag	11340
ctgatgcaca	gcctgcaaaag	ggccctggct	ggcacgggca	gcmggcagatag	agaggccgag	11400
tcctactttg	acgcmggcmg	tgacctgcmg	tgggccccaa	gcccagcmgcmg	cctggagggca	11460
gctggggcmg	gacctgggct	ggcmggtggca	cccgcgcmgcmg	ctggcaacgt	cmggcmgcmgtg	11520
gaggaatatg	acgaggacga	tgagtacgag	ccagaggacg	gcmgagtacta	agcmgtgatg	11580
ttctgatca	gatgatgcaa	gacgcaacgm	acccggcmggt	gcmggcmggcmg	ctgcagagcc	11640
agcctgcmg	ccttaactcc	acggacgact	ggcmgcmggt	catggacctc	atcatgtcmg	11700
tgactgcmgcmg	caatcctgac	gcmgttcmgcmg	agcagcmgca	ggccaacctg	ctctccgcaa	11760
ttctggaagc	gggtgctccg	gcmgcmgca	accccacgca	cmgagaaggtg	ctggcmgatcmg	11820
taaaacgmct	ggccgaaaac	agggccatcc	ggcccacgca	ggccgmgcmctg	gtctacgacg	11880
cmgtgcttca	gcmgcmgtgct	cmgttacaaca	gcmgcaacgt	gcagaccaac	ctggacctggc	11940
tggtggggga	tggtgcmgcmg	gcmgtgcmgcmg	agcmgtgagcmg	cmgcmgagcmg	cagggcaacc	12000
tggtgctccat	ggttgcaacta	aacgcmctcc	tgagtacaca	gcccgcacaac	gtgcmgcmggg	12060
gacagggagga	ctacaccaac	tttgtgagcmg	cactgcmgcmg	aatggtgact	gagacacctc	12120
aaagtgaggt	gtaccagtct	gggcmgacact	atttttcca	gaccagtaga	caagcmctgcmg	12180

ES 2 703 913 T3

agaccgtaaa cctgagccag gctttcaaaa acttgcaggg gctgtggggg gtgcgggctc 12240
 ccacaggcga ccgcgcgacc gtgtctagct tgetgacgcc caactcgcgc ctgttgctgc 12300
 tgctaatagc gcccttcacg gacagtggca gcgtgtcccg ggacacatac ctaggtcact 12360
 tgctgacact gtaccgcgag gccataggtc aggcgcatgt ggacgagcat actttccagg 12420
 agattacaag tgtcagccgc gcgctggggc aggaggacac gggcagcctg gaggaaccc 12480
 taaactacct gctgaccaac cggcgcgaga agatcccctc gttgcacagt ttaaacagcg 12540
 aggaggagcg cattttgctc tacgtgcagc agagcgtgag ccttaacctg atgcgcgacg 12600
 gggtaacgcc cagcgtggcg ctggacatga ccgcgcgcaa catggaaccg ggcagtatg 12660
 cctcaaaccg gccgtttatc aaccgcctaa tggactactt gcatcgcgcg gccgcctga 12720
 accccgagta tttaccaat gccatcttga acccgcactg gctaccgcc cctggtttct 12780
 acaccggggg attcgaggtg cccgagggta acgatggatt cctctgggac gacatagacg 12840
 acagcgtggt ttccccgaa ccgcagacc tgetagagtt gcaacagcgc gagcaggcag 12900
 aggcggcgct gcgaaaggaa agcttccgca ggccaagcag cttgtccgat ctaggcgctg 12960
 cggccccgcg gtcagatgct agtagccat ttccaagctt gatagggtct cttaccagca 13020
 ctgcaccac ccgcccgcgc ctgctggggc aggaggagta cctaaacaac tcgctgctgc 13080
 agccgcagcg cgaaaaaac ctgcctccgg catttccca caacgggata gagagcctag 13140
 tggacaagat gagtagatgg aagacgtacg cgcaggagca cagggacgtg ccaggcccgc 13200
 gcccccacc ccgtcgtcaa aggcacgacc gtcagcgggg tctggtgtgg gaggacgatg 13260
 actcggcaga cgacagcagc gtcctggatt tgggaggag tggcaaccg tttgcgcacc 13320
 ttcgccccag gctggggaga atgttttaa aaaaaaaaa gcatgatgca aaataaaaaa 13380
 ctaccaagg ccatggcacc gagcgttgg tttcttgtat tccccttagt atgcggcgcg 13440
 cggcgatgta tgaggaaggt cctcctccct cctacgagag tgtggtgagc gcggcgccag 13500
 tggcggcggc gctgggttct cccttcgatg ctcccctgga ccgcccgtt gtgcctccgc 13560
 ggtacctgcg gcctaccggg gggagaaaca gcatccgtta ctctgagttg gcaccctat 13620
 tcgacaccac ccgtgtgtac ctggtggaca acaagtcaac ggatgtggca tccctgaact 13680
 accagaacga ccacagcaac tttctgacca cggtcattca aaacaatgac tacagcccgg 13740
 gggaggcaag cacacagacc atcaatcttg acgaccggtc gcaactggggc ggcgacctga 13800
 aaaccatcct gcataccaac atgccaaatg tgaacgagtt catgtttacc aataagttta 13860
 aggcgcgggt gatggtgtcg cgcttgccta ctaaggacaa tcaggtggag ctgaaatacg 13920
 agtgggtgga gttcacgctg cccgagggca actactccga gaccatgacc atagacctta 13980
 tgaacaacgc gatcgtggag cactacttga aagtggcgag acagaacggg gttctggaaa 14040

ES 2 703 913 T3

gcgacatcgg ggtaaagttt gacacccgca acttcagact ggggtttgac cccgtcactg 14100
 gtcttgtcat gcctggggta tatacaaacg aagccttcca tccagacatc attttgetgc 14160
 caggatgcgg ggtggacttc acccacagcc gcctgagcaa cttgttgggc atccgcaagc 14220
 ggcaaccctt ccaggagggc tttaggatca cctacgatga tctggagggt ggtaacattc 14280
 ccgcaactgt ggatgtggac gcctaccagc cgagctttaa agatgacacc gaacagggcg 14340
 ggggtggcgc aggcggcagc aacagcagtg gcagcggcgc ggaagagaac tccaacgcgg 14400
 cagccgcggc aatgcagccg gtggaggaca tgaacgatca tgccattcgc ggcgacacct 14460
 ttgccacacg ggctgaggag aagcgcgctg aggcggaagc agcggccgaa gctgccgccc 14520
 ccgctgcgca acccgaggtc gagaagcctc agaagaaacc ggtgatcaaa cccctgacag 14580
 aggacagcaa gaaacgcagt tacaacctaa taagcaatga cagcacctc acccagtacc 14640
 gcagctggta ccttgacata aactacggcg accctcagac cggaatccgc tcatggacc 14700
 tgctttgac tctgacgta acctcggct cggagcaggt ctactggtcg ttgccagaca 14760
 tgatgcaaga ccccgtagc ttccgctcca cgcgccagat cagcaacttt ccggtggtgg 14820
 gcgccgagct gttgccctg cactccaaga gcttctaaa cgaccaggcc gtctactccc 14880
 aactcatccg ccagtttacc tctctgacc acgtgttaa tcgctttccc gagaaccaga 14940
 ttttggcgcg cccgccagcc cccaccatca ccaccgtcag tgaaaacgct cctgctctca 15000
 cagatcacgg gacgctaccg ctgcgcaaca gcatcggagg agtccagcga gtgaccatta 15060
 ctgacgccag acgccgcacc tgcccctacg tttacaaggc cctgggcata gtctcgcgc 15120
 gcgtcctatc gagccgcaact ttttgagcaa gcatgtccat ccttatatcg cccagcaata 15180
 acacaggctg gggcctgcgc ttccaagca agatgtttgg cggggccaag aagcgcctccg 15240
 accaacacc agtgcgcgtg cgcgggcact accgcgcgcc ctggggcgcg cacaaacgcg 15300
 gccgcaactg gcgcaccacc gtcgatgacg ccatcgacgc ggtggtggag gaggcgcgca 15360
 actacacgcc cagcgcgcca ccagtgtcca cagtggacgc ggccattcag accgtggtgc 15420
 gcggagcccc gcgctatgct aaaatgaaga gacggcggag gcgcgtagca cgctcgcacc 15480
 gccgccgacc cggcactgcc gcccaacgcg cggcggcggc cctgcttaac cgcgcacgtc 15540
 gcaccggccg acggcgggcc atgcgggccg ctcgaaggct ggccgcgggt attgtcactg 15600
 tgccccccag gtccaggcga cgagcggccc ccgcagcagc cgcggccatt agtgctatga 15660
 ctcaaggctg caggggcaac gtgtattggg tgccgcgactc ggttagcggc ctgcccgtgc 15720
 ccgtcgcac ccgcccccg cgcaactaga ttgcaagaaa aaactactta gactcgtact 15780
 gttgtatgta tccagcggcg gcggcgcgca acgaagctat gtccaagcgc aaaatcaaag 15840
 aagagatgct ccaggtcatc gcgccggaga tctatggccc cccgaagaag gaagagcagg 15900
 attacaaacc ccgaaagcta aagcgggtca aaaagaaaaa gaaagatgat gatgatgaac 15960

ES 2 703 913 T3

ttgacgacga ggtggaactg ctgcacgcta ccgcccag gcgacgggta cagtggaaag 16020
 gtcgacgcgt aaaactgttt ttgacacccg gcaccaccgt agtctttacg cccggtgagc 16080
 gctccaccgg cacctacaag cgcgtgtatg atgaggtgta cggcgcagag gacctgcttg 16140
 agcaggccaa cgagcgcctc ggggagtttg cctacgaaa gcggcataag gacatgctgg 16200
 cgttgccgct ggacgagggc aaccaaacac ctagcctaaa gcccgtaaca ctgcagcag 16260
 tgctgccgcg gcttgaccg tccgaagaaa agcgcgcct aaagcgcgag tctggtgact 16320
 tggcaccac cgtgcagctg atggtaccca agcgcagcg actggaagat gtcttgaaa 16380
 aatgaccgt ggaacctggg ctggagccc aggtccgct gcggccaatc aagcaggtgg 16440
 cggcgggact gggcgtgcag accgtggagc ttcagatacc cactaccagt agcaccagta 16500
 ttgccaccgc cacagagggc atggagacac aaactcccc ggttgcctca gcggtggcgg 16560
 atgccgcggt gcagcggtc gctgcggccg cgtccaagac ctctacggag gtgcaaacgg 16620
 acccgtggat gtttcgcgtt tcagccccc ggcgcccgcg ccgttcgagg aagtacggcg 16680
 ccgccagcgc gctactgcc gaatatgcc tacatcctc cattgcccct accccggct 16740
 atcgtggcta cacctaccgc ccagaagac gagcaactac ccgacgccga accaccactg 16800
 gaaccgcgc cgcgcgtgc cgtgccagc ccgtgctggc cccgatttcc gtgcgcaggg 16860
 tggctcgcga aggaggcag accctggtgc tgccaacagc gcgctaccac cccagcatcg 16920
 tttaaaagcc ggtctttgtg gttcttgagc atatggccct cacctgccgc ctccgtttcc 16980
 cgggtccggg attccgagga agaatgcacc gtaggagggg catggccggc cacggcctga 17040
 cgggcggcat gcgtcgtgc caccaccggc ggcggcgcgc gtcgcaccgt cgcagcgcg 17100
 gcggtatcct gccctcctt attcactga tcgcccggc gattggcgc gtgccggaa 17160
 ttgcatccgt ggccttgag gcgcagagac actgattaaa aacaagttgc atgtggaaa 17220
 atcaaaataa aaagtctgga ctctcacgct cgcttggtcc tgtaactatt ttgtagaatg 17280
 gaagacatca actttgcgtc tctggccccg gcacacggct cgcgcccgtt catgggaaac 17340
 tggcaagata tcggcaccag caatatgagc ggtggcgcct tcagctgggg ctgctgtgg 17400
 agcggcatta aaaatttcgg ttccaccgtt aagaactatg gcagcaaggc ctggaacagc 17460
 agcacaggcc agatgctgag ggataagttg aaagagcaaa atttccaaca aaagtggtgta 17520
 gatggcctgg cctctggcat tagcggggtg gtggacctgg ccaaccaggc agtgcaaaat 17580
 aagattaaca gtaagcttga tccccccct cccgtagagg agcctccacc ggcctggag 17640
 acagtgtctc cagaggggcg tggcgaaaag cgtccgcgcc ccgacaggga agaaactctg 17700
 gtgacgcaaa tagacgagcc tcctcgtac gaggagcac taaagcaagg cctgccacc 17760
 acccgtccca tcgcccctat ggctaccgga gtgctgggcc agcacacacc cgtaacgctg 17820

ES 2 703 913 T3

gacctgcctc cccccgccga caccacagcag aaacctgtgc tgccaggccc gaccgccggt 17880
gttgtaaccg gtctagaccg cgcgtccctg cgcgcgcgcg ccagcggctc gcgatcgttg 17940
cggcccgtag ccagtggcaa ctggcaaagc aactgaaca gcatcgtggg tctgggggtg 18000
caatccctga agcgcgcgag atgcttctga tagctaactg gtcgtatgtg tgtcatgtat 18060
gcgtccatgt cgcgccaga ggagctgctg agccgcgcg cgcgccgtt ccaagatggc 18120
taccocctcg atgatgccgc agtggcttta catgcacatc tcgggcccagg acgcctcgga 18180
gtacctgagc cccgggctgg tgcagtttgc ccgcgccacc gagacgtact tcagcctgaa 18240
taacaagttt agaaaccca cgggtggcgc tacgcacgac gtgaccacag accggtcca 18300
gcgtttgagc ctgcggttca tccctgtgga ccgtgaggat actgcgtact cgtacaaggc 18360
cgcggttacc ctagctgtgg gtgataaccg tgtgctggac atggcttoca cgtactttga 18420
catccgcggc gtgctggaca ggggccctac ttttaagccc tactctggca ctgcctaaa 18480
cgccttggt cccaaggtg ccccaaatcc ttgcgaatgg gatgaagctg ctactgctct 18540
tgaataaac ctagaagaag aggacgatga caacgaagac gaagtagacg agcaagctga 18600
gcagcaaaaa actcacgtat ttgggcaggc gccttattct ggtataaata ttacaaagga 18660
gggtattcaa ataggtgtcg aaggtcaaac acctaaatat gccgataaaa catttcaacc 18720
tgaacctcaa ataggagaat ctcaagtgta cgaaacagaa attaatcatg cagctgggag 18780
agtcctaaaa aagactacc caatgaaacc atgttacggt tcatatgcaa aaccacaaa 18840
tgaaatgga gggcaaggca ttcttgtaa gcaacaaaat ggaaagctag aaagtcaagt 18900
ggaaatgcaa tttttctcaa ctactgaggc agccgcaggc aatggtgata acttgactcc 18960
taaagtggta ttgtacagtg aagatgtaga tatagaacc ccagacactc atatttctta 19020
catgccact attaaggaag gtaactcacg agaactaatg ggccaacaat ctatgcccc 19080
caggccta atacattgctt ttagggacaa ttttattggt ctaatgtatt acaacagcac 19140
gggtaatatg ggtgttctgg cgggccaagc atcgagttg aatgctggtg tagatttgca 19200
agacagaaac acagagcttt cataccagct tttgcttgat tccattggtg atagaaccag 19260
gtacttttct atgtggaatc aggctgttga cagctatgat ccagatgta gaattattga 19320
aatcatgga actgaagatg aacttccaaa ttactgcttt ccactgggag gtgtgattaa 19380
tacagagact cttaccaag taaaacctaa aacaggtcag gaaaatggat gggaaaaaga 19440
tgctacagaa ttttcagata aaaatgaaat aagagttgga aataattttg ccatggaat 19500
caatctaaat gccaacctgt ggagaaatct cctgtactcc aacatagcgc tgtatttgcc 19560
cgacaagcta aagtacagtc cttccaacgt aaaaatttct gataaccca acacctacga 19620
ctacatgaac aagcaggtg tggtcccgg gctagtggac tgctacatta accttgagc 19680
acgctggtcc cttgactata tggacaacgt caaccattt aaccaccacc gcaatgctgg 19740

ES 2 703 913 T3

cctgcgctac cgctcaatgt tgctgggcaa tggtcgctat gtgcccttcc acatccaggt 19800
gcctcagaag ttctttgccca ttaaaaacct ccttctcctg ccgggctcat acacctacga 19860
gtggaacttc aggaaggatg ttaacatggt tctgcagagc tccctagga atgacctaa 19920
ggttgacgga gccagatta agtttgatag catttgcctt tacgccacct tcttccccat 19980
ggcccacaac accgcctcca cgcttgaggc catgcttaga aacgacacca acgaccagtc 20040
ctttaacgac tatctctccg ccgccaacct gctctaccct ataccgccca acgctaccaa 20100
cgtgcccata tccatcccct cccgcaactg ggccgcttcc ccgctggg ccttcacgcg 20160
ccttaagact aaggaaacct catcactggg ctccggctac gacccttatt acacctactc 20220
tggtctata ccctacctag atggaacct ttacctcaac cacacctta agaagggtggc 20280
cattaccttt gactcttctg tcagctggcc tggcaatgac ccctctgctta ccccaacga 20340
gtttgaatt aagcctcag ttgacgggga gggttacaac gttgccaggt gtaacatgac 20400
caaagactgg ttctggtac aaatgctagc taactataac attggctacc agggcttcta 20460
tatcccagag agctacaagg accgcatgta ctcttcttt agaaacttcc agcccatgag 20520
ccgtcaggtg gtggatgata ctaaatacaa ggactaccaa caggtgggca tcctacacca 20580
acacaacaac tctggatttg ttggctacct tgccccacc atgcgcgaag gacaggccta 20640
ccctgctaac ttcccctatc cgcttatagg caagaccgca gttgacagca ttaccagaa 20700
aaagtttctt tgcgatcgca ccctttggcg catcccattc tccagtaact ttatgtccat 20760
gggcgcactc acagacctgg gccaaaacct tctctacgcc aactccgcc acgcgctaga 20820
catgactttt gaggtggatc ccatggacga gccaccctt ctttatgttt tgtttgaagt 20880
ctttgacgtg gtccgtgtgc accagccgca ccgcccgtc atcgaaaccg tgtacctgcg 20940
cacgcccttc tcggccggca accccacaac ataaagaagc aagcaacatc aacaacagct 21000
gccgccatgg gctccagtga gcaggaactg aaagccattg tcaaagatct tggttgtggg 21060
ccatattttt tgggcaacct tgacaagcgc tttccaggct ttgtttctcc acacaagctc 21120
gcctgcgcca tagtcaatac ggccggtcgc gagactgggg gcgtacactg gatggccttt 21180
gcctggaacc cgcactcaaa aacatgctac ctctttgagc cctttggctt ttctgaccag 21240
cgactcaagc aggtttacca gtttgatgac gagtactcc tcgcccgtag cgcattgct 21300
tcttcccccg accgctgat aacgctggaa aagtccacc aaagcgtaca ggggcccaac 21360
tcggccgctt gtgactatt ctgctgcatg tttctccag cctttgccaa ctggcccaa 21420
actcccatgg atcacaacct caccatgaac ctattaccg ggtacccea ctccatgctc 21480
aacagtcccc aggtacagcc caccctcgct cgcaaccagg aacagcteta cagcttctg 21540
gagcgcactc cgcctactt ccgagccac agtgcgcaga ttaggagcgc cacttctttt 21600

ES 2 703 913 T3

tgtcacttga	aaaacatgta	aaaataatgt	actagagaca	ctttcaataa	aggcaaatgc	21660
ttttatttgt	acactotcgg	gtgattattt	acccccaccc	ttgccgtctg	cgccgtttaa	21720
aatcaaagg	ggttctgccg	cgcatcgcta	tgcgccactg	gcagggacac	gttgcgatac	21780
tggtgtttag	tgctccactt	aaactcaggc	acaaccatcc	gcggcagctc	ggtgaagttt	21840
tcactccaca	ggctgcgcac	catcaccaac	gcgtttagca	ggtcggggcg	cgatatcttg	21900
aagtcgcagt	tggggctcc	gccctgcgcg	cgcgagttgc	gatacacagg	gttgcagcac	21960
tggaacacta	tcagcgccgg	gtggtgcacg	ctggccagca	cgctcttgtc	ggagatcaga	22020
tccgcgtcca	ggtcctccgc	gttgctcagg	gcgaacggag	tcaactttgg	tagctgcctt	22080
cccaaaaagg	gcgcgtgcc	aggctttgag	ttgcaactcg	accgtagtgg	catcaaaagg	22140
tgaccgtgcc	cggtctgggc	gttaggatac	agcgctgca	taaaagcctt	gatctgctta	22200
aaagccacct	gagcctttgc	gccttcagag	aagaacatgc	cgcaagactt	gccgaaaac	22260
tgattggccg	gacaggccgc	gtcgtgcacg	cagcaccttg	cgtcgggtgt	ggagatctgc	22320
accacatttc	ggccccaccg	gttcttcacg	atcttggcct	tgctagactg	ctccttcagc	22380
gcgcgctgcc	cgttttcgct	cgtcacatcc	atctcaatca	cgtgctcctt	atctatcata	22440
atgcttccgt	gtagacactt	aagctcgctt	tcgatctcag	cgcagcgggtg	cagccacaac	22500
gcgcagcccg	tggtctcgtg	atgcttgtag	gtcacctctg	caaacgactg	caggtacgcc	22560
tgcaggaatc	gccccatcat	cgtcacaaaag	gtcttgttgc	tggtgaaggt	cagctgcaac	22620
ccgcggtgct	cctcgttcag	ccaggtcttg	catacggccg	ccagagcttc	cacttgggtca	22680
ggcagtagtt	tgaagttcgc	ctttagatcg	ttatccacgt	ggtacttgtc	catcagcgcg	22740
cgcgagcct	ccatgccctt	ctcccacgca	gacacgatcg	gcacactcag	cggttcatc	22800
accgtaattt	cactttccgc	ttcgctgggc	tcttctctt	cctcttgctg	ccgcatacca	22860
cgcgccactg	ggtcgtcttc	attcagccgc	cgcaactgtg	gcttacctcc	tttgccatgc	22920
ttgattagca	ccggtgggtt	gctgaaaccc	accatttgta	gcgccacatc	ttctctttct	22980
tcctcgtctg	ccacgattac	ctctggtgat	ggcgggcgct	cggtcttggg	agaaggggcg	23040
ttctttttct	tcttggggcg	aatggccaaa	tccgcccgcg	aggtcgatgg	ccgcgggctg	23100
ggtgtgcgcg	gcaccagcgc	gtcttgtgat	gagtcctcct	cgtcctcgga	ctcgatacgc	23160
cgctcatcc	gcttttttgg	gggcgcccgg	ggaggcggcg	gcgacgggga	cggggacgac	23220
acgtcctcca	tggttggggg	acgtcgcgcc	gcaccgcgtc	cgcgctcggg	ggtggtttcg	23280
cgctcctcct	cttcccgaact	ggccatttcc	ttctctata	ggcagaaaaa	gatcatggag	23340
tcagtcgaga	agaaggacag	cctaaccgcc	ccctctgagt	tcgccaccac	cgctccacc	23400
gatgccgcca	acgcgcttac	cacctcccc	gtcgaggcac	ccccgcttga	ggaggaggaa	23460
gtgattatcg	agcaggaccc	aggttttgta	agcgaagacg	acgaggaccg	ctcagtacca	23520

ES 2 703 913 T3

acagaggata aaaagcaaga ccaggacaac gcagaggcaa acgaggaaca agtcgggcg 23580
 ggggacgaaa ggcattggca ctacctagat gtgggagacg acgtgctgtt gaagcatctg 23640
 cagcgccagt gcgccattat ctgagcagcg ttgcaagagc gcagcgatgt gccctcgcc 23700
 atagcggatg tcagccttgc ctacgaacgc cacctattct caccgcgct acccccaaa 23760
 cgccaagaaa acggcacatg cgagcccaac ccgcgctca acttctacce cgtatttgcc 23820
 gtgccagagg tgcttgccac ctatcacatc tttttccaaa actgcaagat acccctatcc 23880
 tgccgtgcca accgcagccg agcggacaag cagctggcct tgcggcaggg cgctgtcata 23940
 cctgatatcg cctcgctcaa cgaagtgcca aaaatctttg aggtcttgg acgcgacgag 24000
 aagcgcgagc caaacgctct gcaacaggaa aacagcgaat atgaaagtca ctctggagtg 24060
 ttggtggaac tcgagggtga caacgcgagc ctagccgtac taaaacgcag catcgaggtc 24120
 acccactttg octaccggc acttaaccta ccccccaagg tcatgagcac agtcatgagt 24180
 gagctgatcg tgcgccgtgc gcagcccctg gagagggatg caaatttgca agaacaaca 24240
 gaggagggcc taccgcagc tggcgacgag cagctagcgc gctggcttca aacgcgag 24300
 cctgcccact tggaggagcg acgcaaaacta atgatggccg cagtgtctgt taccgtggag 24360
 cttgagtgca tgcagcgggt ctttctgac ccggagatgc agcgaagct agaggaaaca 24420
 ttgcaactaca ctttctgaca gggctacgta gcggagcct gcaagatctc caactggag 24480
 ctctgcaacc tggctctcta ccttgaatt ttgcacgaaa accgccttgg gcaaaacgtg 24540
 cttcattcca cgctcaaggg cgaggcgcgc gcggactacg tccgggactg cgtttactta 24600
 tttctatgct acacctggca gacggccatg ggcgtttggc agcagtgtt ggaggagtgc 24660
 aacctcaagg agctgcagaa actgctaaag caaaactga aggacctatg gacggccttc 24720
 aacgagcgt ccggtggcgc gcacctggcg gacatcattt tccccgaacg cctgcttaa 24780
 acctgcaac aggtctgccc agacttcacc agtcaaagca tgttgcaaaa ctttaggaac 24840
 tttatcctag agcgtcagc aatcttggcc gccacctgct gtgcaacttc tagcgacttt 24900
 gtgcccatta agtaccgga atgcccctcg ccgctttggg gccactgcta ccttctgcag 24960
 ctagccaact accttgcta ccaactctgac ataatggaag acgtgagcgg tgacggctta 25020
 ctggagtgtc actgtcgtg caacctatgc accccgcacc gctccctggt ttgcaattcg 25080
 cagctgtta acgaaagtca aattatcggc acctttgagc tgcagggtcc ctgcctgac 25140
 gaaaagtccg cggctccggg gttgaaactc actccggggc tgtggacgtc ggcttacctt 25200
 cgcaaatttg tacctgagga ctaccacgcc cacgagatta ggttctacga agaccaatcc 25260
 cggccgcta atgcggagct taccgctgc gtcattacc agggccacat tcttgccaa 25320
 ttgcaagcca tcaacaagc ccgccaagag tttctgctac gaaagggacg gggggttac 25380

ES 2 703 913 T3

ttggaccccc	agtccggcga	ggagctcaac	ccaatcccc	cgccgccgca	gccctatcag	25440
cagcagccgc	gggccottgc	ttcccaggat	ggcaccocaaa	aagaagctgc	agctgccgcc	25500
gccaccacgc	gacgaggagg	aatactggga	cagtcaggca	gaggaggttt	tggacgagga	25560
ggaggaggac	atgatggaag	actgggagag	cctagacgag	gaagcttccg	aggtcgaaga	25620
ggtgtcagac	gaaacaccgt	caccctcggg	cgcttcccc	tggccggcgc	cccagaaatc	25680
ggcaaccggg	tccagcatgg	ctacaacctc	cgctcctcag	gcgccgcggg	cactgcccggt	25740
tcgccgacct	aaccgtagat	gggacaccac	tggaaccagg	gccggtaagt	ccaagcagcc	25800
gccccggtta	gcccagagac	aacaacagcg	ccaaggctac	cgctcatggc	gcgggcacaa	25860
gaacgccata	gttgcttgct	tgcaagactg	tgggggcaac	atctccttcg	cccgccgctt	25920
tcttctctac	catcaoggcg	tggccttccc	ccgtaaacatc	ctgcattact	accgtcatct	25980
ctacagccca	tactgcaccg	gcggcagcgg	cagcaacagc	agcggccaca	cagaagcaaa	26040
ggcgaccgga	tagcaagact	ctgacaaagc	ccaagaaatc	cacagcggcg	gcagcagcag	26100
gaggaggagc	gctgcgtctg	gcgcccaacg	aaccggtatc	gaccgcggag	cttagaaaca	26160
ggatttttcc	cactctgtat	gctatatttc	aacagagcag	gggccaagaa	caagagctga	26220
aaataaaaaa	caggtctctg	cgatccctca	cccgcagctg	cctgtatcac	aaaagcgaag	26280
atcagcttcc	gcgcacgctg	gaagacgcgg	aggctctctt	cagtaaatac	tgcgcgctga	26340
ctcttaagga	ctagtttcgc	gccctttctc	aaatttaagc	gcgaaaacta	cgatcatctcc	26400
agcggccaca	cccggcgcca	gcacctggtg	tcagcgccat	tatgagcaag	gaaattccca	26460
cgccctacat	gtggagttac	cagccacaaa	tgggacttgc	ggctggagct	gcccagact	26520
actcaaccgg	aataaactac	atgagcgcgg	gacccacat	gatatcccgg	gtcaacggaa	26580
tacgcgcccc	ccgaaaccga	attctcctgg	aacaggcggc	tattaccacc	acacctcgta	26640
ataaccttaa	tcccgtagt	tggcccgctg	ccctggtgta	ccaggaaagt	cccgtccca	26700
ccactgtggt	acttcccaga	gacgcccagg	ccgaaattca	gatgactaac	tcagggcgcg	26760
agcttgccgg	cggtttcgt	cacaggggtc	ggtcgcccgg	gcagggata	actcacctga	26820
caatcagagg	gcgaggatt	cagctcaacg	acgagtcggt	gagctcctcg	cttggctctcc	26880
gtccggacgg	gacatttcag	atcggcggcg	ccggccgctc	ttcattcacg	cctcgtcagg	26940
caatcctaac	tctgcagacc	tcgtcctctg	agccgcgctc	tggaggcatt	ggaactctgc	27000
aatttattga	ggagtttgtg	ccatcgggtc	actttaacct	cttctcggga	cctcccggcc	27060
actatccgga	tcaatttatt	cctaactttg	acgcggtaaa	ggactcggcg	gacggctacg	27120
actgaatggt	aagtggagag	gcagagcaac	tgccctgaa	acacctggtc	cactgtcgcc	27180
gccacaagtg	ctttgccgcg	gactccgggt	agttttgcta	ctttgaattg	cccgaggatc	27240
atatcgaggg	cccggcgcac	ggcgtccggc	ttaccgcccc	gggagagctt	gcccgtagcc	27300

ES 2 703 913 T3

tgattcggga gtttaccag cgcctcctgc tagttgagcg ggacagggga cctgtgttc 27360
 tcaactgtgat ttgcaactgt cctaaccctg gattacatca agatctttgt tgccatctct 27420
 gtgctgagta taataaatac agaaattaaa atatactggg gctcctatcg ccatcctgta 27480
 aacgccaccg tcttcaccg cccaagcaaa ccaaggcgaa ccttacctgg tacttttaac 27540
 atctctccct ctgtgattta caacagtttc aaccagacg gagtgagtct acgagagaac 27600
 ctctcogagc tcagctactc catcagaaaa aacaccaccc tccttacctg ccgggaacgt 27660
 acgagtgcgt caccggccgc tgcaccacac ctaccgcctg accgtaaacc agactttttc 27720
 cggacagacc tcaataactc tgtttaccag aacaggaggt gagcttagaa aacccttagg 27780
 gtattagggc aaaggcgcag ctactgtggg gtttatgaac aattcaagca actctacggg 27840
 ctattccta tcaagtttct ctagaatcgg ggttgggggtt attctctgtc ttgtgattct 27900
 ctttattctt atactaacgc ttctctgctt aaggctcgc gcctgctgtg tgcacatttg 27960
 catttattgt cagcttttta aacgctgggg tcgccaccca agatgattag gtacataatc 28020
 ctaggtttac tcacccttgc gtcagccac ggtaccaccc aaaagggtga ttttaaggag 28080
 ccagcctgta atgttacatt cgcagctgaa gctaataagt gcaccactct tataaaatgc 28140
 accacagaac atgaaaagct gcttattcgc cacaaaaaca aaattggcaa gtatgctgtt 28200
 tatgctatth ggcagccagg tgacactaca gagtataatg ttacagtttt ccagggtaaa 28260
 agtcataaaa cttttatgta tacttttcca ttttatgaaa tgtgagacat taccatgtac 28320
 atgagcaaac agtataagtt gtggccccc caaaattgtg tggaaaacac tggcactttc 28380
 tgctgcactg ctatgctaata tacagtgtc gctttgtct gtaccctact ctatattaaa 28440
 tacaaaagca gacgcagctt tattgaggaa aagaaaatgc ctttaatttac taagttacaa 28500
 agctaagtgc accactaact gctttactcg ctgcttgcaa aacaaattca aaaagttagc 28560
 attataatta gaataggatt taaaccccc ggtcatttcc tgctcaatac cattcccctg 28620
 aacaattgac tctatgtggg atatgctcca gcgctacaac cttgaagtca ggcttctctg 28680
 atgtcagcat ctgactttgg ccagcacctg tcccgcgat ttgttccagt ccaactacag 28740
 cgaccacccc taacagagat gaccaacaca accaacgcg cgcgctac cggacttaca 28800
 tctaccacaa atacacccc agtttctgcc tttgtcaata actgggataa cttgggcatg 28860
 tgggtggttct ccatagcgt tatgtttgta tgccttatta ttatgtggct catctgctgc 28920
 ctaaagcgca aacgcgccc accaccatc tatagtccc cattgtgct acacccaaac 28980
 aatgatggaa tccatagatt ggacggactg aaacacatgt tcttttctct tacagtatga 29040
 ttaaagaga catgattcct cgagttttta tattactgac ccttggtgcg cttttttgt 29100
 gcgtgctcca cattggctgc ggtttctcac atcgaagtag actgcattcc agccttaca 29160

ES 2 703 913 T3

gtctatattgc tttacggatt tgtcacccctc acgctcatct gcagcctcat cactgtggtc 29220
atcgccctta tccagtgcac tgactgggtc tgtgtgcgct ttgcatatct cagacaccat 29280
ccccagtaca gggacaggac tatagctgag cttcttagaa ttctttaatt atgaaattta 29340
ctgtgacttt tctgctgatt atttgacccc tatctgcggt ttgttccccg acctccaagc 29400
ctcaaagaca tataatcatgc agattcactc gtatatggaa tattccaagt tgctacaatg 29460
aaaaaagcga tctttccgaa gcctgggtat atgcaatcat ctctgttatg gtgttctgca 29520
gtaccatctt agccctagct atatatccct accttgacat tggctggaac gcaatagatg 29580
ccatgaacca cccaactttc cccgcgccc ctatgcttcc actgcaacaa gttgttgccg 29640
gcggtttgt cccagccaat cagcctcgcc caccttctcc ccccccaact gaaatcagct 29700
actttaatct aacaggagga gatgactgac accctagatc tagaaatgga cggaattatt 29760
acagagcagc gcctgctaga aagacgcagg gcagcggccg agcaacagcg catgaatcaa 29820
gagctccaag acatggttaa cttgcaccag tgcaaaaggg gtatcttttg tctggtaaag 29880
caggccaaag tcacctacga cagtaatacc accggacacc gccttagcta caagttgcca 29940
accaagcgtc agaaattggt ggtcatggtg ggagaaaagc ccattaccat aactcagcac 30000
tcggtagaaa ccgaaggctg cattcactca ccttgcaag gacctgagga tctctgcacc 30060
cttattaaga ccctgtgctg tctcaaagat cttattccct ttaactaata aaaaaaata 30120
ataaagcatc acttacttaa aatcagttag caaatctctg tccagtttat tcagcagcac 30180
ctccttgccc tcctcccagc tctggtattg cagcttctctc ctggctgcaa actttctcca 30240
caatctaaat ggaatgtcag tttcctcctg ttctgtcca tccgcaccca ctatcttcat 30300
gttgttgtag atgaagcgcg caagaccgtc tgaagatacc ttcaaccccg tgtatccata 30360
tgacacggaa accggtcctc caactgtgcc ttttcttact cctcccttg tatccccaa 30420
tgggtttcaa gagagtcccc ctgggtact ctctttgctc ctatccgaac ctctagttag 30480
ctccaatggc atgcttgctc tcaaaatggg caacggcctc tctctggacg aggccggcaa 30540
ccttacctcc caaaatgtaa ccactgtgag cccacctctc aaaaaacca agtcaaacat 30600
aaacctggaa atatctgcac ccctcacagt tacctcagaa gccctaactg tggctgccc 30660
cgcacctcta atggtgctg gcaacacact cacctgcaa tcacaggccc cgctaaccgt 30720
gcacgactcc aaacttagca ttgccaccca aggaccctc acagtgtcag aaggaaagct 30780
agccctgcaa acatcaggcc ccctcaccac caccgatagc agtaccctta ctatcactgc 30840
ctcaccctct ctaactactg ccactggtag cttgggcatt gacttgaaag agcccattta 30900
tacacaaaat ggaaaactag gactaaagta cgggctcct ttgcatgtaa cagacgacct 30960
aaacactttg accgtagcaa ctggtccagg tgtgactatt aataatactt ccttgcaaac 31020
taaagtact ggagccttg gttttgattc acaaggcaat atgcaactta atgtagcagg 31080

ES 2 703 913 T3

aggactaagg attgattctc aaaacagacg ccttatactt gatgtagtt atccgtttga 31140
 tgctcaaac caactaaatc taagactagg acagggccct ctttttataa actcagccca 31200
 caacttggat attaactaca acaaaggcct ttacttgttt acagcttcaa acaattccaa 31260
 aaagcttgag gttaacctaa gcactgccaa ggggttgatg tttgacgcta cagccatagc 31320
 cattaatgca ggagatgggc ttgaatttgg ttcacctaata gcaccaaaca caaatcccct 31380
 caaaaacaaa attggccatg goctagaatt tgattcaaac aaggctatgg ttcctaaact 31440
 aggaactggc cttagttttg acagcacagg tgccattaca gtaggaaaca aaaataatga 31500
 taagctaact ttgtggacca caccagctcc atctcctaac tgtagactaa atgcagagaa 31560
 agatgctaaa ctcactttgg tottaacaaa atgtggcagt caaatacttg ctacagtttc 31620
 agttttggct gttaaaggca gtttggctcc aatatctgga acagttcaaa gtgctcatct 31680
 tattataaga tttgacgaaa atggagtgt actaaacaat tccttcctgg acccagaata 31740
 ttggaacttt agaaatggag atcttactga aggcacagcc tatacaaacg ctgttggatt 31800
 tatgcctaac ctatcagctt atccaaaatc tcacggtaaa actgcaaaa gtaacattgt 31860
 cagtcaagtt tactttaaagc gagacaaaac taaacctgta aactaacca ttactataa 31920
 cggtacacag gaaacaggag acacaactcc aagtgcatac tctatgtcat tttcatggga 31980
 ctggtctggc cacaactaca ttaatgaaat atttgccaca tcctcttaca ctttttcata 32040
 cattgcccga gaataaagaa tcgtttgtgt tatgtttcaa cgtgtttatt tttcaattgc 32100
 agaaaatttc aagtcatttt tcattcagta gtatagcccc accaccacat agcttataca 32160
 gatcaccgta ccttaatcaa actcacagaa ccctagtatt caacctgcca cctccctccc 32220
 aacacacaga gtacacagtc ctttctcccc ggttggcctt aaaaagcatc atatcatggg 32280
 taacagacat attcttaggt gttatattcc acacggtttc ctgtcgagcc aaacgctcat 32340
 cagtgatatt aataaactcc ccgggcagct cacttaagtt catgtcgctg tccagctgct 32400
 gagccacagg ctgctgtcca acttgcgggt gcttaacggg cggcgaagga gaagtccacg 32460
 cctacatggg ggtagagtca taatcgtgca tcaggatagg gcggtggtgc tgcagcagcg 32520
 cgcgaataaa ctgctgccgc cgcgcctccg tcctgcagga atacaacatg gcagtggctc 32580
 cctcagcgat gattcgcacc gcccgcagca taaggcgcct tgtcctccgg gcacagcagc 32640
 gcaccctgat ctcaactaaa tcagcacagt aactgcagca cagcaccaca atattgttca 32700
 aaatcccaca gtgcaaggcg ctgtatccaa agctcatggc ggggaccaca gaaccacgt 32760
 ggccatcata ccacaagcgc aggtagatta agtggcgacc cctcataaac acgctggaca 32820
 taaacattac ctcttttggc atgttghtaat tcaccacctc ccggtacat ataaacctct 32880
 gattaacat ggcgcatcc accaccatcc taaaccagct ggccaaaacc tgcccgcgg 32940

ES 2 703 913 T3

ctatacactg caggaaccg ggactggaac aatgacagtg gagagcccag gactcgtaac	33000
catggatcat catgctcgtc atgatataca tgttggcaca acacaggcac acgtgcatac	33060
acttcctcag gattacaagc tcctcccgcg ttagaacctat atcccaggga acaaccatt	33120
cctgaatcag cgtaaatccc aactgcagg gaagacctcg cacgtaactc acgttgtgca	33180
ttgtcaaagt gttacattcg ggcagcagcg gatgatcctc cagtatggta gcgcgggtt	33240
ctgtctcaa aggaggtaga cgatccctac tgtacggagt gcgccgagac aaccgagatc	33300
gtgttggtcg tagtgtcatg ccaaattgaa cgccggacgt agtcatatct cctgaagcaa	33360
aaccagggtc gggcgtgaca aacagatctg cgtctccggt ctcgccgctt agatcgtctt	33420
gtgtagtagt tgtagtatat ccactctctc aaagcatcca ggcgccccct ggcttcgggt	33480
tctatgtaaa ctcttctatg cgccgctgcc ctgataacat ccaccacgcg agaataagcc	33540
acaccagcc aacctacaca ttcgttctgc gagtcacaca cgggaggagc ggaagagct	33600
ggaagaacca tgtttttttt tttattccaa aagattatcc aaaacctcaa aatgaagatc	33660
tattaagtga acgcgctccc ctccggtggc gtggcacaac tctacagcca aagaacagat	33720
aatggcattt gtaagatggt gcacaatggc ttccaaaagg caaacggccc tcacgtccaa	33780
gtggacgtaa aggctaaacc cttcaggggt aatctcctct ataacattc cagcaccttc	33840
aaccatgccc aaataattct catctcgcca cttctcaat atatctctaa gcaaatcccg	33900
aatattaagt ccggccattg taaaaatctg ctccagagcg ccctccacct tcagcctcaa	33960
gcagcgaatc atgattgcaa aaattcaggt tcctcacaga cctgtataag attcaaaagc	34020
ggaacattaa caaaaatacc gcgatcccgt aggtcccttc gcagggccag ctgaacataa	34080
tcgtgcaggt ctgcacggac cagcgcggcc acttccccgc caggaacctat gacaaaagaa	34140
cccacactga ttatgacacg catactcgga gctatgctaa ccagcgtagc cccgatgtaa	34200
gcttggtgca tgggcggcga tataaaatgc aagggtgctgc tcaaaaaatc aggcaaagcc	34260
tcgcgcaaaa aagaaagcac atcgtagtca tgctcatgca gataaaggca ggtaagctcc	34320
ggaaccacca cagaaaaaga caccatTTTT ctctcaaaaca tgtctgcggg tttctgcata	34380
aacacaaaat aaaataacaa aaaaacattt aaacattaga agcctgtctt acaacaggaa	34440
aaacaacctt tataagcata agacggacta cggccatgcc ggcgtgaccg taaaaaaact	34500
ggtcaccgtg attaaaaagc accaccgaca gctcctcggg catgtccgga gtcataatgt	34560
aagactcggg aaacacatca ggttgattca catcggtcag tgctaaaaag cgaccgaaat	34620
agcccggggg aatacatacc cgcaggcgta gagacaacat tacagcccc ataggaggta	34680
taacaaaatt aataggagag aaaaacacat aaacacctga aaaacctcc tgcctaggca	34740
aaatagcacc ctcccgctcc agaacaacat acagcgcttc cacagcgga gccataacag	34800
tcagccttac cagtaaaaaa gaaaacctat taaaaaaaca ccactcgaca cggcaccagc	34860

ES 2 703 913 T3

tcaatcagtc acagtgtaaa aaagggccaa gtgcagagcg agtatatata ggactaaaaa 34920
atgacgtaac ggttaaagtc cacaaaaaac acccagaaaa ccgcacgcga acctacgccc 34980
agaaaacgaaa gccaaaaaac ccacaacttc ctcaaatcgt cacttccggt ttcccacggt 35040
acgtcacttc ccattttaag aaaactacaa ttccaacac atacaagtta ctccgccta 35100
aaacctacgt caccgcgcc gttcccacgc cccgcgccac gtcacaaact ccaccccctc 35160
attatcatat tggcttcaat ccaaaataag gtatattatt gat 35203

<210> 21
<211> 36460
<212> ADN
5 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Construcción que contiene dos desapareamientos sin duplicación

<400> 21
catcatcaat aatatacctt attttgatt gaagccaata tgataatgag ggggtggagt 60
ttgtgacgtg gcgcggggcg tgggaacggg gcgggtgacg tagtagtggt gcggaagtgt 120
gatgttgcaa gtgtggcggg acacatgtaa gcgacggatg tggcaaaagt gacgtttttg 180
gtgtgcgccg gtgtacacag gaagtgacaa ttttcgcgcg gttttaggcg gatgtttagt 240
taaatttggg cgtaaccgag taagatttgg ccattttcgc gggaaaactg aataagagga 300
agtgaaatct gaataattht gtgttactca tagcgcgtaa tatttgtcta gggccgcggg 360
gactttgacc gtttacgtgg agactcgcgc aggtgttttt ctccaggtgtt ttccgcgctc 420
cgggtcaaag ttggcgthtt attattatag tcagtacgta cgtgtacttc tgatcggcga 480
tactagggag ataaggatgt acctgacaaa accacattgt tgttgttatc attattatth 540
agthttcctt ccttgctaac tcctgacgga atctthtca cctcaaatgc gaagtactth 600
agthtagaaa agacttgggt gaaggggtgg tgggtgaaaa gtaggggtgat cttccaaact 660
aatctggttc cccgccgcgc ccagtagctg ggattcaaga gcgaagagtg gggatcgtcc 720
ccttgthtga tcagaaagac ataaaaggaa aatcaagtga acaatgatca gccccacctc 780
caccaccacc ccctgcgcgc gcacaataca atctatthaa ttgtacttca tactthtcat 840
tccaatgggg tgactthtct tctggagaaa ctcttgattc ttgaactctg gggctggcag 900
ctagcctcca gaagcaaagt caccctattg gaatgaaaag tatgaagtac aatgaaaagt 960
atgaagtact ggctccagaa gcaaagtcac cctccagaag caaagtcacc ccattggaat 1020
gaaaagtatg aagtacgcta gcaaaagggg aagcgggctg ctgctctctg caggttctgc 1080
agcgtctctt gtctagtggg tgtthtctth ttcttagccc tgcccctgga ttgtcagacg 1140
gcgggctctt gcctctgaag ttagccgtga thtctctag agccgggtct tatctctggc 1200

10

ES 2 703 913 T3

tgcacgttgc	ctgtgggtga	ctaatacacac	aataacattg	tttagggctg	gaataaagtc	1260
agagctgttt	acccccactc	tataggggtt	caatataaaa	aggcggcgga	gaactgtccg	1320
agtcagaagc	gttcctgcac	cggcgctgag	agcctgacct	ggtctgctcc	gctgtccttg	1380
cgcgctgcct	cccggctgcc	cgcgacgctt	tcgccccagt	ggaagggcca	cttgctgcgg	1440
ccgctaattc	tgcagatcgg	gatccggcat	gggcctctcc	accgtgcctg	acctgctgct	1500
gccgctgggt	ctcctggagc	tgttgggtgg	aatatacccc	tcaggggtta	ttggactggt	1560
ccctcaccta	ggggacaggg	agaagagaga	tagtgtgtgt	ccccaaaggaa	aatatatcca	1620
ccctcaaaat	aattcgattt	gctgtaccaa	gtgccacaaa	ggaacctact	tgtacaatga	1680
ctgtccaggc	ccggggcagc	atacggactg	cagggagtgt	gagagcggct	ccttcaccgc	1740
ttcagaaaac	cacctoagac	actgcctcag	ctgctccaaa	tgccgaaagg	aatgggtca	1800
ggtggagatc	tcttcttgca	cagtggaccg	ggacaccgtg	tgtggctgca	ggaagaacca	1860
gtaccggcat	tattggagtg	aaaacctttt	ccagtgtctc	aattgcagcc	tctgcctcaa	1920
tgggaccgtg	cacctctcct	gccaggagaa	acagaacacc	gtgtgcacct	gccatgcagg	1980
tttctttcta	agagaaaacg	agtgtgtctc	ctgtagtaac	tgtaagaaaa	gcttgagtgt	2040
cacgaagtgt	tgctaccaa	gcttaggatc	cagatctaac	ttgggtggc	tttgtttct	2100
tcttttgcca	attccactaa	ttgtttgggt	gaagagaaag	gaagtacaga	aaacatgcag	2160
aaagcacaga	aaggaaaacc	aaggttctca	tgaatctcca	accttaaadc	ctgaaacagt	2220
ggcaataaat	ttatctgatg	ttgacttgag	taaataatc	accactattg	ctggagtcat	2280
gacactaagt	caagttaaag	gctttgttcg	aaagaatggt	gtcaatgaag	ccaaaataga	2340
tgagatcaag	aatgacaatg	tccaagacac	agcagaacag	aaagtcaac	tgcttcgtaa	2400
ttggcatcaa	cttcatgga	agaaagaagc	gtatgacaca	ttgattaaag	atctcaaaaa	2460
agccaatctt	tgtactcttg	cagagaaaat	tcagactatc	atcctcaagg	acattactag	2520
tgactcagaa	aattcaaac	tcagaaatga	aatccaaagc	ttggtctagc	tcgagcatgc	2580
atctaggcgg	ccgcatggca	gaaattcgcg	aattcgctag	cgtaaaccga	tcctctagac	2640
gagatccgaa	cttgtttatt	gcagcttata	atggttacia	ataaagcaat	agcatcacia	2700
atctcacia	taaagcattt	tttccactgc	attctagtgt	tggtttgtcc	aaactcatca	2760
atgtatctta	tcatgtctag	atctgtactg	aaatgtgtgg	gcgtggctta	aggggtggaa	2820
agaatatata	aggtgggggt	cttatgtagt	tttgtatctg	ttttgcagca	gccgccgccg	2880
ccatgagcac	caactcgttt	gatggaagca	ttgtgagctc	atatttgaca	acgcgcatgc	2940
ccccatgggc	cggggtgcgt	cagaatgtga	tgggctccag	cattgatggt	cgccccgtcc	3000
tgcccgcaaa	ctctactacc	ttgacctacg	agacctgtc	tggaacgccg	ttgggagactg	3060
cagcctccgc	cgccgcttca	gccgctgcag	ccaccgcccg	cgggattgtg	actgactttg	3120

ES 2 703 913 T3

ctttctgag cccgcttgca agcagtgcag cttcccgttc atccgcccgc gatgacaagt 3180
 tgacggctct tttggcacia ttggattctt tgacccggga acttaatgtc gtttctcagc 3240
 agctgttggc tctgcgccag caggtttctg ccctgaaggc ttcctcccct cccaatgcgg 3300
 tttaaaacat aaataaaaaa ccagactctg tttggatttg gatcaagcaa gtgtcttgct 3360
 gtctttatth aggggttttg cgcgcgcggt aggcccgga ccagcggctc cggtcggtga 3420
 gggcctctgt tattttttcc aggacgtggt aaagggtgact ctggatgttc agatacatgg 3480
 gcataagccc gtctctgggg tggaggtagc accactgcag agcttcatgc tgcgggggtg 3540
 tgttgtagat gatccagtcg tagcaggagc gctgggcgtg gtgcctaaaa atgtctttca 3600
 gtagcaagct gattgccagg ggcaggccct tgggtgaagt gtttaciaag cggttaagct 3660
 gggatgggtg catacgtggg gatatgagat gcactctgga ctgtatthtt aggttggtca 3720
 tgttcccagc catatccctc cggggattca tgttggtcag aaccaccagc acagtgtatc 3780
 cggtgcaact gggaaatttg tcatgtagct tagaaggaaa tgcgtggaag aacttgga 3840
 cggccttggt acctccaaga ttttccatgc attcgtccat aatgatggca atgggccac 3900
 gggcggcggc ctgggcgaag atatttctgg gatcactaac gtcatagttg tgttccagga 3960
 tgagatcgtc ataggccatt tttaciaaagc gcgggcggag ggtgccagac tgcggtataa 4020
 tggttccatc cggcccaggg gcgtagtac cctcacagat ttaagggtgg gaaagaatat 4080
 ataagggtgg ggtcttatgt agttttgtat ctgttttgca gcagcccgcc cggccatgag 4140
 caccaactcg tttgatggaa gcattgtgag ctcatatthg acaacgcgca tgcccccatg 4200
 ggccgggggt cgtcagaatg tgatgggctc cagcattgat ggtcgccccg tcctgccccg 4260
 aaactctact accttgacct acgagaccgt gctcggaaacg ccgttggaaga ctgcagcctc 4320
 cggcccgctc tcagccgctg cagccaccgc ccggggatt gtgactgact ttgctttcct 4380
 gagcccgctt gcaagcagtg cagcttcccg ttcacccgcc cgcgatgaca agttgacggc 4440
 tcttttggca caattggatt ctttgacccg ggaacttaat gtcgtttctc agcagctgtt 4500
 ggatctgcgc cagcaggtht ctgccctgaa ggttctctcc cctcccaatg cggthtataa 4560
 cataaataaa aaaccagact ctgthtggat ttggatcaag caagtgtctt gctgtcttht 4620
 tttaggggtt ttgcgcgcgc ggtaggcccc ggaccagcgg tctcggctct tgagggtcct 4680
 gtgtatthtt tccaggacgt ggtaaagggt actctggatg ttcagataca tgggcataag 4740
 cccgtctctg ggggtggaggt agcaccactg cagagcttca tgcctcgggg tgggtgtgta 4800
 gatgatccag tcgtagcagg agcgtgggc gtgggtgccta aaaatgtctt tcagtagcaa 4860
 gctgattgcc aggggcaggc ccttggtgta agtgthtaca aagcggthta gctgggatgg 4920
 gtgcatacgt ggggatatga gatgcatctt ggactgtatt tttaggthtg ctatgttccc 4980

ES 2 703 913 T3

agccatatcc ctccggggat tcatgttgtg cagaaccacc agcacagtgt atccggtgca 5040
 cttgggaaat ttgtcatgta gcttagaagg aaatgcgtgg aagaacttgg agacgccctt 5100
 gtgacctcca agattttcca tgcattcgtc cataatgatg gcaatgggcc cacgggaggc 5160
 ggctggggcg aagatatttc tgggatcact aacgtcatag ttgtgttcca ggatgagatc 5220
 gtcataggcc atttttacaa agcgcggggc gagggtgcca gactgcggta taatggttcc 5280
 atccggccca ggggcgtagt taccctcaca gatttgcatt tcccacgctt tgagttcaga 5340
 tggggggatc atgtctacct gcggggcgat gaagaaaacg gtttccgggg taggggagat 5400
 cagctgggaa gaaagcaggt tcctgagcag ctgcgactta ccgcagccgg tgggcccgtg 5460
 aatcacacct attacggct gcaactggta gttaagagag ctgcagctgc cgtcatccct 5520
 gagcaggggg gccacttctg taagcatgtc cctgactcgc atgttttccc tgaccaaatc 5580
 cgccagaagg cgctcggcgc ccagcgatag cagttcttgc aaggaagcaa agtttttcaa 5640
 cggtttgaga ccgtccggcg taggcatgct tttgagcgtt tgaccaagca gttccaggcg 5700
 gtcccacagc tcggtcacct gctctacggc atctcgatcc agcatatctc ctcgtttgcg 5760
 ggggtggggc ggctttcgct gtacggcagt agtcggtgct cgtccagacg ggccagggtc 5820
 atgtctttcc acggggcgag ggtcctcgtc agcgtagtct gggtcacggg gaaggggtgc 5880
 gctccgggct gcgcgctggc cagggtgccg ttgaggtctg tcctgctggt gctgaagcgc 5940
 tgccggtcct cgccctgcgc gtcggccagg tagcatttga ccatggtgtc atagtccagc 6000
 ccctccggcg cgtggccctt ggcgcgcagc ttgcccttgg aggaggcgcg gcacgagggg 6060
 cagtgcagac ttttgagggc gtagagcttg ggcgcgagaa ataccgattc cggggagtag 6120
 gcatccggcg cgcaggcccc gcagacggtc tcgcattcca cgagccaggg gagctctggc 6180
 cgttcggggt caaaaaccag gtttccccca tgctttttga tgcgtttctt acctctggtt 6240
 tccatgagcc ggtgtccacg ctccggtgacg aaaaggctgt ccggtgtccc gtatacagac 6300
 ttgagaggcc tgcctcagag cgggtgtccg cggtcctcct cgtatagaaa ctcggaccac 6360
 tctgagacaa aggtctcgtt ccaggccagc acgaaggagg ctaagtggga ggggtagcgg 6420
 tcgttgtcca ctagggggtc cactcgtctc aggggtgtgaa gacacatgtc gccctcttcg 6480
 gcatcaagga aggtgatttg tttgtagggt taggccacgt gaccgggtgt tcctgaaggg 6540
 gggctataaa aggggggtgg ggcgcgttcg tcctcactct cttccgcacg gctgtctgcg 6600
 agggccagct gttggggtga gtactccctc tgaaaagcgg gcatgacttc tgcgctaaga 6660
 ttgtcagttt ccaaaaacga ggaggatttg atattcacct ggcccgggt gatgcctttg 6720
 aggggtggcg catccatctg gtcagaaaag acaatctttt tgttgtcaag cttggtggca 6780
 aacgaccctg agagggcgtt ggacagcaac ttggcgtatg agcgcagggg ttggtttttg 6840
 tcgcgatcgg cgcgctcctt ggccgcgatg tttagetgca cgtattcgcg cgcaacgcac 6900

ES 2 703 913 T3

cgccattcgg gaaagacggt ggtgcgctcg tcgggacacca ggtgcacgcg ccaaccgcgg 6960
 ttgtgcaggg tgacaaggtc aacgctggtg gctacctctc cgcgtaggcg ctcgttggtc 7020
 cagcagaggg gggccgccctt gcgagagcag aatggcggtg gggggtctag ctgctctcg 7080
 tccggggggt ctgctccac ggtaaagacc ccgggcagca ggcgcgcgtc gaagtagtct 7140
 atcttgcatc cttgcaagtc tagcgcctgc tgccatgcgc gggcggcaag cgcgcgctcg 7200
 tatgggttga gtgggggacc ccatggcatg ggtggttga gcgcggaggc gtacatgccg 7260
 caaatgtcgt aaacgtagag gggctctctg agtattccaa gatatgtagg gtagcatctt 7320
 ccaccgcgga tgctggcgcg cacgtaatcg tatagttcgt gcgagggagc gaggaggtcg 7380
 ggaccgaggt tgctacgggc gggctgctct gctcggaaga ctatctgcct gaagatggca 7440
 tgtgagttg atgatatggt tggacgctgg aagacgttga agctggcgtc tgtgagacct 7500
 accgcgtcac gcacgaagga ggcgtaggag tcgcgcagct tgttgaccag ctcgcggtg 7560
 acctgcacgt ctagggcgca gtagtcagg gtttccttga tgatgtcata cttatcctgt 7620
 ccctttttt tccacagctc gcggttgagg acaaactctt cgcggtcttt ccagtactct 7680
 tggatcgaa acccgtcggc ctccgaacgg taagagccta gcatgtagaa ctggttgacg 7740
 gcctggtagg cgcagcatcc cttttctacg ggtagcgcgt atgcctgcgc ggccttccgg 7800
 agcagaggtg ggtgagcgc aaaggtgtcc ctgaccatga ctttgaggtg ctggtatttg 7860
 aagtcagtgt cgtcgcaccc gccctgctcc cagagcaaaa agtccgtgcg ctttttgaa 7920
 cgcggatttg gcagggcgaa ggtgacatcg ttgaagagta tctttccgc gcgaggcata 7980
 aagttgctg tgatgcggaa gggctccggc acctcggaac ggttgtaaat tacctgggcg 8040
 gcgagcacga tctcgtcaaa gccgttgatg ttgtggccca caatgtaaag ttccaagaag 8100
 cgcgggatgc ctttgatgga aggcaatctt ttaagttcct cgtaggtgag ctcttcaggg 8160
 gagctgagcc cgtgctctga aagggcccag tctgcaagat gagggttgga agcgacgaat 8220
 gagctccaca ggtcacgggc cattagcatt tgcaggtggt cgcgaaaggt cctaaactgg 8280
 cgacctatgg ccattttttc tggggtgatg cagtagaagg taagcgggtc ttgttccag 8340
 cggctccatc caaggttcgc ggctaggtct cgcgcggcag tcaactagagg ctcatctccg 8400
 ccgaacttca tgaccagcat gaagggcacg agctgcttcc caaaggcccc catccaagta 8460
 taggtctcta catcgtaggt gacaaagaga cgctcgtgc gaggatgcga gccgatcggg 8520
 aagaactgga tctcccgcc ccaattggag gagtggctat tgatgtggtg aaagtagaag 8580
 tccttgcgac gggccgaaca ctcgtgctgg cttttgtaaa aacgtgcgca gtactggcag 8640
 cggtgcacgg gctgtacatc ctgcacgagg ttgacctgac gaccgcgcac aaggaagcag 8700
 agtgggaatt tgagcccctc gcctggcggg tttggctggt ggtcttctac ttcggctgct 8760

ES 2 703 913 T3

tgtccttgac cgtctggctg ctcgagggga gttacgggtg atcggaccac cacgccgcgc 8820
gagcccaaag tccagatgtc cgcgcgcggc ggtcggagct tgatgacaac atcgcgcaga 8880
tgggagctgt ccatggtctg gagctcccgc ggcgtcaggt caggcgggag ctctgcagg 8940
tttacctcgc atagacgggt cagggcgcgg gctagatcca ggtgatacct aatttccagg 9000
ggctggttg tggcggcgtc gatggcttgc aagaggccgc atccccgcgg cgcgactacg 9060
gtaccgcgcg gcggggcgtg ggccgcgggg gtgtccttgg atgatgcac taaaagcgg 9120
gacgcgggcg agccccgga ggtagggggg gctccggacc cgcgggaga gggggcaggg 9180
gcacgtcgcg gccgcgcgcg ggcaggagct ggtgctgcgc gcgtaggttg ctggcgaacg 9240
cgacgacgcg gcggttgatc tcctgaatct ggcgcctctg cgtgaagacg acgggcccgg 9300
tgagcttgaa cctgaaagag agttcgacag aatcaatttc ggtgtcgttg acggcggcct 9360
ggcgcaaaat ctctgcacg tctcctgagt tgtcttgata ggcgatctcg gccatgaact 9420
gctcgatctc ttctcctg agatctccgc gtccggctcg ctccacggtg gcggcgaggt 9480
cgttggaat gcgggccatg agctgcgaga aggcgttgag gcctccctcg ttccagacgc 9540
ggctgtagac cacgcccctc tcggcatcgc gggcgcgcac gaccacctgc gcgagattga 9600
gctccacgtg ccgggcgaag acggcgtagt ttcgcaggcg ctgaaagagg tagttgaggg 9660
tggtggcgtg gtgtctgcc acgaagaagt acataacca gcgtcgaac gtggattcgt 9720
tgatatccc caaggcctca aggcctcca tggcctcgta gaagtccacg gcgaagttga 9780
aaaactggga gttgcgcgcc gacacgggta actcctcctc cagaagacgg atgagctcgg 9840
cgacagtgtc gcgcacctcg cgctcaaagg ctacaggggc ctcttcttct tcttcaatct 9900
cctcttccat aaggcctcc ccttcttctt ctctcggcgg cggtggggga gggggacac 9960
ggcggcgacg acggcgcacc gggagcgggt cgacaaagcg ctcgatcac tccccgcggc 10020
gacggcgcac ggtctcggtg acggcgcggc cgttctcgcg ggggcgcagt tggaagacgc 10080
cgcccgatc gtcccggtta tgggttggcg ggggctgcc atgcggcagg gatacggcgc 10140
taacgatgca tctcaacaat tggtgtgtag gtactccgcc gccgagggac ctgagcgagt 10200
ccgcatcgac cggatcgga aacctctcga gaaaggcgtc taaccagtca cagtgcgaag 10260
gtaggctgag caccgtggcg ggcggcagcg ggcggcggtc ggggttgtt ctggcggagg 10320
tgctgctgat gatgtaatta aagtaggcg tcttgagacg gcggatggtc gacagaagca 10380
ccatgtcctt gggtcgggcc tgctgaatgc gcaggcggtc ggccatgcc caggcttctg 10440
tttgacatcg gcgcaggctt ttgtagtagt cttgcatgag cctttctacc ggcacttctt 10500
cttctccttc ctctgtcct gcactcttg catctatcgc tgcggcggcg gcggagtttg 10560
gccgtaggtg gcgcctctt cctccatgc gtgtgacccc gaagccctc atcggctgaa 10620
gcagggctag gtcggcgaca acgcgctcgg ctaatatggc ctgctgcacc tgcgtgaggg 10680

ES 2 703 913 T3

tagactggaa gtcacccatg tccacaaagc ggtggtatgc gcccggtgtg atggtgtaag 10740
tgcagttggc cataacggac cagttaacgg tctggtgacc cggtgcgag agctcgggtg 10800
acctgagacg cgagtaagcc ctcgagtcaa atacgtatgc gttgcaagtc cgcaccaggt 10860
actggtatcc caccaaaaag tgcggcggcg gctggcggta gaggggcccag cgtaggggtg 10920
ccggggctcc gggggcgaga tcttccaaca taaggcagatg atatccgtag atgtacctgg 10980
acatccaggt gatgccggcg gcgggtgtgg aggcgcgcgg aaagtgcgag acgcggttcc 11040
agatgttgcg cagcggcaaa aagtgtcca tggcgggac gctctggccg gtcaggcgcg 11100
cgcaatcgtt gacgctctag accgtgcaaa aggagagcct gtaagcggc actcttccgt 11160
ggtctggtgg ataaattcgc aagggtatca tggcggacga ccggggttcg agccccgtat 11220
ccggccgtcc gccgtgatcc atgcggttac cccccgctg tcgaaccag gtgtgagcag 11280
tcagacaacg ggggagtgct ccttttggtc tccttccagg cgcggcggct gctgcgctag 11340
cttttttggc cactggccgc gcgcagcgtg agcggtagg ctggaaagcg aaagcattaa 11400
gtggtctgct ccctgtagcc ggagggttat tttccaaggg ttgagtcgag ggacccccgg 11460
ttcgagtctc ggaccggccg gactgcggcg aacgggggtt tgctccccg tcatgcaaga 11520
ccccgcttgc aaattcctcc ggaaacaggg acgagcccct tttttgcttt tcccagatgc 11580
atccggtgct gcggcagatg cgcctccctc ctacgagcgc gcaagagcaa gagcagcggc 11640
agacatgcag ggcaccctcc cctcctccta ccgcgtcagg aggggagaca tccgcggttg 11700
acgcggcagc agatggtgat tacgaacccc cgcggcgcgg gccccggcac tacctggact 11760
tggaggaggg cgagggcctg gcgcggctag gagcgcctc tcctgagcgg cacccaaggg 11820
tgcagctgaa gcgtgatacg cgtgaggcgt acgtgcccg gcagaacctg tttcgggacc 11880
gcgagggaga ggagcccag gagatgcggg atcgaaagt ccacgcaggg cgcgagctgc 11940
ggcatggcct gaatcgcgag cggttgctgc gcgaggagga ctttgagccc gacgcgcaa 12000
ccgggattag tcccgcgagc gcacacgtgg cggccgcca cctggtaacc gcatacagc 12060
agacggtgaa ccaggagatt aactttcaaa aaagctttaa caaccacgtg cgtacgcttg 12120
tggcgcgca ggaggtggct ataggactga tgcactctgt ggactttgta agcgcgctgg 12180
agcaaaacc aaatagcaag ccgctcatgg cgcagctgtt ccttatagtg cagcacagca 12240
gggacaacga ggcattcagg gatgcgctgc taaacatagt agagcccag gcccgctggc 12300
tgctcgattt gataaacatc ctgcagagca tagtgggtgca ggagcgcagc ttgagcctgg 12360
ctgacaaggt ggccgccatc aactattcca tgcttagcct gggcaagttt tacgcccga 12420
agatatacca tacccttac gttcccatag acaaggaggt aaagatcgag gggttctaca 12480
tgcgcatggc gctgaagggtg cttacctga gcgacgacct gggcgtttat cgcaacgagc 12540

ES 2 703 913 T3

gcatccacaa	ggccgtgagc	gtgagccggc	ggcgcgagct	cagcgaccgc	gagctgatgc	12600
acagcctgca	aaggccctg	gctggcacgg	gcagcggcga	tagagaggcc	gagtcctact	12660
ttgacgcggg	cgctgacctg	cgctgggccc	caagccgacg	cgccctggag	gcagctgggg	12720
ccggacctgg	gctggcggtg	gcaccgcg	gcgctggcaa	cgctcgcgcc	gtggaggaat	12780
atgacgagga	cgatgagtac	gagccagagg	acggcgagta	ctaagcggtg	atgtttctga	12840
tcagatgatg	caagacgcaa	cgaccggc	ggtgcggcgg	gcgctgcaga	gccagccgtc	12900
cggccttaac	tccacggacg	actggcgcca	ggtcatggac	cgcatcatgt	cgctgactgc	12960
gcgcaatcct	gacgcgttcc	ggcagcagcc	gcagcccaac	cggtctccg	caattctgga	13020
agcggtggtc	ccggcgcg	caaaccacc	gcacgagaag	gtgctggcga	tcgtaaacgc	13080
gctggccgaa	aacaggcca	tccggcccga	cgagccggc	ctggtctacg	acgcgtgct	13140
tcagcgcgtg	gctcgttaca	acagcggcaa	cgtgcagacc	aacctggacc	ggctggtggg	13200
ggatgtgcgc	gaggccgtgg	cgacgcgtga	gcgcgcgag	cagcaggcca	acctgggctc	13260
catggttga	ctaaacgcct	tcctgagtac	acagccgcc	aacgtgccgc	ggggacagga	13320
ggactacacc	aactttgtga	gcgcactg	gctaattggtg	actgagacac	cgcaaagtga	13380
ggtgtaccag	tctgggcccag	actatTTTT	ccagaccagt	agacaaggcc	tgcagaccgt	13440
aaacctgagc	caggctttca	aaaacttga	ggggctgtgg	ggggtgcggg	ctcccacagg	13500
cgaccgcg	accgtgtcta	gcttgetgac	gcccaactcg	cgctgttgc	tgctgctaat	13560
agcgccttc	acggacagtg	gcagcgtgtc	ccgggacaca	tacctaggtc	acttgetgac	13620
actgtaccgc	gaggccatag	gtcagcgcga	tgtggacgag	catactttcc	aggagattac	13680
aagtgtcagc	cgcgcgctgg	ggcaggagga	cacgggcagc	ctggaggcaa	ccctaaacta	13740
cctgctgacc	aaccggcggc	agaagatccc	ctcgttgac	agtttaaca	gcgaggagga	13800
gcgcattttg	cgctacgtgc	agcagagcgt	gagccttaac	ctgatgcg	acggggtaac	13860
gcccagcgtg	gcgctggaca	tgaccgcg	caacatggaa	ccgggcatgt	atgcctcaaa	13920
ccggccgttt	atcaaccgcc	taatggacta	cttgcatcgc	gcggccgccc	tgaaccccca	13980
gtatttcacc	aatgccatct	tgaacccgca	ctggctaccg	ccccctggtt	tctacaccgg	14040
gggattcgag	gtgcccagag	gtaacgatgg	attcctctgg	gacgacatag	acgacagcgt	14100
gttttccccg	caaccgcaga	ccctgctaga	gttgcaacag	cgcgagcagg	cagaggcggc	14160
gctgcgaaag	gaaagcttcc	gcagggcaag	cagctgttcc	gatctaggcg	ctgcggcccc	14220
gcggtcagat	gctagtagcc	catttccaag	cttgataggg	tctcttacca	gcactcgcac	14280
caccgccccg	cgctgctgg	gcgaggagga	gtacctaac	aactcgtgc	tgcagccgca	14340
gcgcgaaaaa	aacctgcctc	cggcatttcc	caacaacggg	atagagagcc	tagtggaaca	14400
gatgagtaga	tggaagacgt	acgcgcagga	gcacagggac	gtgccaggcc	cgcccccgc	14460

ES 2 703 913 T3

cacccgtcgt caaaggcacg accgtcagcg gggctctggtg tgggaggacg atgactcggc 14520
 agacgacagc agcgtcctgg atttgggagg gagtggcaac ccgtttgcgc accttcgccc 14580
 caggctgggg agaatgtttt aaaaaaaaaa aaagcatgat gcaaaataaa aaactcacca 14640
 aggccatggc accgagcgtt ggttttcttg tattcccctt agtatgcggc gcgcggcgat 14700
 gtatgaggaa ggtcctcctc cctcctacga gagtgtggtg agcgcggcgc cagtggcggc 14760
 ggcgctgggt tctcccttcg atgctcccct ggacccgcgc tttgtgcctc cgcggtacct 14820
 gcgcctacc ggggggagaa acagcatccg ttactctgag ttggcaccac tattcgacac 14880
 cacccgtgtg tacctggtgg acaacaagtc aacggatgtg gcatccctga actaccagaa 14940
 cgaccacagc aactttctga ccacggtcat tcaaaacaat gactacagcc cgggggaggc 15000
 aagcacacag accatcaatc ttgacgaccg gtcgcactgg gcggcgacc tgaaaacat 15060
 cctgcatacc aacatgcaa atgtgaacga gttcatgtt accaataagt ttaaggcgcg 15120
 ggtgatggtg tcgcgcttgc ctactaagga caatcaggtg gagctgaaat acgagtgggt 15180
 ggagttcacg ctgcccagg gcaactactc cgagaccatg accatagacc ttatgaacaa 15240
 cgcgatcgtg gagcactact tgaaagtggg cagacagaac ggggttctgg aaagcgacat 15300
 cggggtaaag tttgacacc gcaacttcag actggggtt gaccccgta ctggtcttgt 15360
 catgcctggg gtatatacaa acgaagcctt ccatccagac atcattttgc tgccaggatg 15420
 cggggtggac ttcaccaca gccgcctgag caacttgtt ggcatccgca agcggcaacc 15480
 cttccaggag ggcttagga tcacctacga tgatctggag ggtggttaaca tccccgact 15540
 gttgatgtg gacgcctacc aggcgagctt gaaagatgac accgaacag ggcggggtgg 15600
 cgcagggcgc agcaacagca gtggcagcgg cgcggaagag aactccaacg cggcagccgc 15660
 ggcaatgcag ccggtggagg acatgaacga tcatgccatt cgcggcgaca cctttgccac 15720
 acgggctgag gagaagcgcg ctgaggccga agcagcggcc gaagctgccg cccccgctgc 15780
 gcaaccgag gtcgagaagc ctcagaagaa accggtgatc aaaccctga cagaggacag 15840
 caagaaacgc agttacaacc taataagcaa tgacagcacc ttcaccagat accgcagctg 15900
 gtaccttga tacaactacg gcgaccctca gaccggaatc cgctcatgga ccctgctttg 15960
 cactcctgac gtaacctgcg gctcggagca ggtctactgg tcgttgccag acatgatgca 16020
 agaccccgct accttcgct ccacgcgcca gatcagcaac tttccggtgg tggcgccga 16080
 gctgtgccc gtgcactcca agagcttota caacgaccag gccgtctact cccaactcat 16140
 ccgccagttt acctctctga cccacgtgtt caatcgctt cccgagaacc agattttggc 16200
 gcgcccgcga gccccacca tcaccaccgt cagtgaaaac gttcctgctc tcacagatca 16260
 cgggacgcta ccgctgcgca acagcatcgg aggagtccag cgagtgacca ttactgacgc 16320

ES 2 703 913 T3

cagacgccgc acctgccct acgtttacaa ggccctgggc atagtctcgc cgcgcgtcct 16380
atcgagccgc actttttgag caagcatgtc catccttata tcgccagca ataacacagg 16440
ctggggcctg cgcttcccaa gcaagatggt tggcggggcc aagaagcgtc ccgaccaaca 16500
cccagtgcgc gtgcgcgggc actaccgcgc gccctggggc gcgcacaaac gcggccgcac 16560
tgggcgcacc accgtcgatg acgccatcga cgcggtggtg gaggaggcgc gcaactacac 16620
gcccacgccg ccaccagtgt ccacagtgga cgcggccatt cagaccgtgg tgccgggagc 16680
ccggcgctat gctaaaatga agagacggcg gaggcgcgta gcacgtcgcc accgccgccg 16740
accggcact gccgcccaac gcgcgggggc ggccctgctt aaccgcgcac gtcgcaccgg 16800
ccgacgggcg gccatgcggg ccgctcgaag gctggccgcg ggtattgtca ctgtgcccc 16860
caggtccagc cgacgagcgg ccgccgcagc agccgcggcc attagtgcta tgactcaggg 16920
tcgcaggggc aacgtgtatt gggtcgcgca ctcggttagc ggcctgcgcg tgcccgtgcg 16980
caccgcctcc ccgcgcaact agattgcaag aaaaaactac ttagactcgt actggtgtat 17040
gtatccagcg gcggcggcgc gcaacgaagc tatgtccaag cgcaaatca aagaagagat 17100
gctccaggtc atcgcgcccg agatctatgg cccccgaag aaggaagagc aggattaca 17160
gccccgaaag ctaaagcggg tcaaaaagaa aaagaaagat gatgatgatg aacttgacga 17220
cgaggtgaa ctgtgcacg ctaccgcgcc caggcgacgg gtacagtgga aaggtcgacg 17280
cgtaaaacgt gttttgcgac ccgacccac cgtagtcttt acgcccgggtg agcgctccac 17340
ccgcacctac aagcgcgtgt atgatgaggt gtacggcgac gaggacctgc ttgagcaggc 17400
caacgagcgc ctcggggagt ttgcctacgg aaagcggcat aaggacatgc tggcgttgcc 17460
gctggacgag ggcaaccxaa cacctagcct aaagcccgta aactgcagc aggtgctgcc 17520
cgcgcttgca ccgtccgaag aaaagcgcgg cctaaagcgc gagtctggtg acttggcacc 17580
caccgtgcag ctgatggtac ccaagcgcca gcgactgga gatgtcttg aaaaaatgac 17640
cgtggaacct gggctggagc ccgaggtccg cgtgcggcca atcaagcagg tggcgcggg 17700
actggcgtg cagaccgtgg acgttcagat acccactacc agtagacca gtattgccac 17760
cgccacagag ggcatggaga cacaaacgtc cccggttgcc tcagcgggtg cggatgccgc 17820
ggtgcaggcg gtcgctgcgg ccgctccaa gacctctacg gaggtgcaa cggaccctg 17880
gatgtttcgc gtttcagccc cccggcgccc gcgcccctcg aggaagtacg gcgcccag 17940
cgcgctactg cccgaatatg ccctacatcc ttccattgcg cctacccccg gctatcgtgg 18000
ctacacctac cgccccagaa gacgagcaac taccgcgcgc cgaaccacca ctggaacctg 18060
ccgcgcctg cgccgtcgcc agcccgtgct ggccccgatt tccgtgcgca gggtggtcgc 18120
cgaaggaggc aggacctgg tgctgccaac agcgcgctac cccccagca tcgtttaaaa 18180
gccggtcttt gtggttcttg cagatatggc cctcaactgc cgcctccgtt tcccgtgcc 18240

ES 2 703 913 T3

gggattccga ggaagaatgc accgtaggag gggcatggcc ggccacggcc tgacgggcg 18300
 catgcgtcgt gcgcaccacc ggcggcggcg cgcgtcgcac cgtcgcatgc gcggcggat 18360
 cctgccctc cttattccac tgatcgccgc ggcgattggc gccgtgcccg gaattgcatc 18420
 cgtggccttg caggcgcaga gacactgatt aaaacaagt tgcattgga aaaatcaaaa 18480
 taaaaagtct ggactctcac gctcgcttgg tcctgtaact atttttaga atggaagaca 18540
 tcaactttgc gtctctggcc cgcgcacac gctcgcccc gttcatggga aactggcaag 18600
 atatcggcac cagcaatatg agcggtgccg ccttcagctg gggctcgctg tggagcggca 18660
 ttaaaaattt cggttccacc gttaagaact atggcagcaa ggctggaac agcagcacag 18720
 gccagatgct gagggataag ttgaaagagc aaaatttcca acaaagggtg gtagatggcc 18780
 tggcctctgg cattagcggg gtggtggacc tggccaacca ggcagtgcaa aataagatta 18840
 acagtaagct tgatccccgc cctcccgtag aggagcctcc accggccgtg gagacagtgt 18900
 ctccagaggg gcgtggcgaa aagcgtccgc gccccgacag ggaagaaact ctggtgacgc 18960
 aaatagacga gcctccctcg tacgaggagg cactaaagca agcctgccc accaccctc 19020
 ccacgcgcc catggctacc ggagtctgg gccagcacac acccgtaacg ctggacctgc 19080
 ctccccccgc cgacaccag cagaaacctg tgctgccagg cccgaccgcc gttgtttaa 19140
 cccgtcctag ccgcgcgtcc ctgcgccgg ccgccagcgg tccgcgatcg ttgcggccc 19200
 tagccagtgg caactggcaa agcactga acagcatcgt gggctctggg gtgcaatccc 19260
 tgaagcggcc acgatgcttc tgatagctaa cgtgtcgtat gtgtgtcatg tatgcgtcca 19320
 tgtcgcgcc agaggagctg ctgagccgcc gcgcgccgc tttccaagat ggctaccct 19380
 tcgatgatgc cgcagtgttc ttacatgcac atctcgggcc aggagcctc ggagtacctg 19440
 agccccgggc tgggtgcagtt tgcccgcgcc accgagacgt acttcagcct gaataacaag 19500
 tttagaaacc ccacggggc gcctacgcac gacgtgacca cagaccggtc ccagcgtttg 19560
 acgctcgggt tcatccctgt ggaccgtgag gatactcgt actcgtaca ggcgcggttc 19620
 accctagctg tgggtgataa ccgtgtcgt gacatggctt ccacgtactt tgacatccgc 19680
 ggcgtcgtg acaggggcc tacttttaag ccctactctg gcactgccta caacgcctg 19740
 gctcccaagg gtgccccaaa tccttgcgaa tgggatgaag ctgctactgc tcttgaata 19800
 aacctagaag aagaggacga tgacaacgaa gacgaagtag acgagcaagc tgagcagcaa 19860
 aaaactcac tatttgggca ggcgccttat tctggtataa atattacaaa ggagggtatt 19920
 caaatagggt tcgaaggtca aacacctaaa tatgccgata aaacatttca acctgaacct 19980
 caaataggag aatctcagtg gtacgaaaca gaaattaatc atgcagctgg gagagtccta 20040
 aaaaagacta cccaatgaa accatgttac gttcatatg caaaaccac aatgaaaat 20100

ES 2 703 913 T3

ggagggcaag gcattottgt aaagcaacaa aatggaaagc tagaaaagca agtggaaatg 20160
 caatTTTTct caactactga ggcagccgca ggcaatggtg ataacttgac tcctaaagtg 20220
 gtattgtaca gtgaagatgt agatatagaa accccagaca ctcatatttc ttacatgccc 20280
 actattaagg aagtaactc acgagaacta atgggccaac aatctatgcc caacaggcct 20340
 aattacattg ctttaggga caatTTTatt ggtctaagt attacaacag cacgggtaat 20400
 atgggtgttc tggcgggcca agcatcgcag ttgaatgctg ttgtagattt gcaagacaga 20460
 aacacagagc tttcatacca gctTTTgctt gattccattg gtgatagaac caggtacttt 20520
 tctatgtgga atcaggctgt tgacagctat gatccagatg ttagaattat tgaaaatcat 20580
 ggaactgaag atgaacttcc aaattactgc tttccactgg gaggtgtgat taatacagag 20640
 actcttacca aggtaaaacc taaaacaggt caggaaaatg gatgggaaaa agatgctaca 20700
 gaatTTTcag ataaaaatga aataagagtt ggaaataatt ttgccatgga aatcaatcta 20760
 aatgccaacc tgtggagaaa tttcctgtac tccaacatag cgctgtattt gcccgacaag 20820
 ctaaagtaca gtccttccaa cgtaaaaatt tctgataacc caaacaccta cgactacatg 20880
 aacaagcgag tgggtggctcc cgggctagtg gactgctaca ttaaccttgg agcacgctgg 20940
 tcccttgact atatggacaa cgtcaaccca tttaccacc accgcaatgc tggcctgccc 21000
 taccgctcaa tgttctggg caatggtcgc tatgtgccct tccacatcca ggtgcctcag 21060
 aagttctttg ccattaaaaa cctccttctc ctgccgggct catacaccta cgagtggaac 21120
 ttcaggaag atgttaacat ggttctgcag agctccctag gaaatgacct aagggttgac 21180
 ggagccagca ttaagtttga tagcatttgc ctttacgcca ctttcttccc catggcccac 21240
 aacaccgct ccacgcttga ggccatgctt agaaacgaca ccaacgacca gtcctttaac 21300
 gactatctct ccgccgcaa catgctctac cctatacccg ccaacgctac caacgtgccc 21360
 atatccatcc cctcccgcaa ctggcggtt tcccgggct gggccttccac gcgccttaag 21420
 actaaggaaa ccccatcact gggctcgggc tacgaccctt attacaccta ctctggctct 21480
 ataccctacc tagatggaac cttttacctc aaccacacct ttaagaaggt ggccattacc 21540
 tttgactctt ctgtcagctg gcctggcaat gaccgcctgc ttaccccaa cgagtgtgaa 21600
 attaagcgct cagttgacgg ggagggttac aacgttgcct agtgtaacat gaccaagac 21660
 tggttcctgg taaaaatgct agctaactat aacattggct accagggctt ctatatccca 21720
 gagagctaca aggaccgcat gtactccttc tttagaaact tccagcccat gagccgtcag 21780
 gtggtggatg atactaaata caaggactac caacaggtgg gcatcctaca ccaacacaac 21840
 aactctggat ttgttgcta ccttgcccc accatgcgcg aaggacaggc ctaccctgct 21900
 aacttccct atccgcttat aggcaagacc gcagttgaca gcattaccca gaaaaagttt 21960
 ctttgcgatc gcaccctttg gcgcaccca ttctccagta actttatgct catgggcgca 22020

ES 2 703 913 T3

ctcacagacc tgggccaaaa ccttctctac gccaaactccg cccacgcgct agacatgact 22080
 tttgaggtgg atcccatgga cgagcccacc cttctttatg ttttgtttga agtctttgac 22140
 gtggtccgtg tgcaccagcc gcaccgcggc gtcacgaaa ccgtgtacct gcgcacgccc 22200
 ttctcggccg gcaacgccac aacataaaga agcaagcaac atcaacaaca gctgccgcca 22260
 tgggctccag tgagcaggaa ctgaaagcca ttgtcaaaga tcttggttgt gggccatatt 22320
 ttttgggcac ctatgacaag cgctttccag gctttgtttc tccacacaag ctgcctgagc 22380
 ccatagtcaa tacggccggc cgcgagactg ggggcgtaca ctggatggcc tttgcctgga 22440
 acccgcactc aaaaacatgc tacctctttg agccctttgg cttttctgac cagcgactca 22500
 agcaggttta ccagttttag tacgagtcaac tcctgcgccc tagcggcatt gcttcttccc 22560
 ccgaccgctg tataacgctg gaaaagtcca cccaaagcgt acaggggccc aactcggccc 22620
 cctgtggact attctgctgc atgtttctcc acgcctttgc caactggccc caaactccca 22680
 tggatcaciaa ccccaccatg aaccttatta ccgggggtacc caactccatg ctcaacagtc 22740
 cccaggtaca gcccacctg cgtcgcaacc aggaacagct ctacagcttc ctggagcgcc 22800
 actcgcctca cttccgcagc cacagtgcgc agattaggag cgccacttct ttttgtcact 22860
 tgaaaaacat gtaaaaataa tgtactagag acactttcaa taaaggcaa tgcttttatt 22920
 tgtacactct cgggtgatta tttaccccca cccttgccgt ctgcgccgtt taaaaatcaa 22980
 aggggttctg ccgcgcatcg ctatgcgcca ctggcagga cacgttgca tactggtgtt 23040
 tagtctcca cttaaactca ggcacaacca tccgcggcag ctcggtgaag ttttactcc 23100
 acaggtgag caccatcacc aacgcgttta gcaggtcggg cgccgatac ttgaagtgc 23160
 agttggggcc tccgccctgc gcgcgcgagt tgcgatacac agggttgcag cactggaaca 23220
 ctatcagcgc cgggtggtgc acgctggcca gcacgctctt gtcggagatc agatccgct 23280
 ccaggtcctc cgcgttctc agggcgaaag gagtcaactt tggtagctgc cttcccaaaa 23340
 agggcgcgtg cccaggcttt gagttgcaact cgcaccgtag tggcatcaaa aggtgaccgt 23400
 gcccggtctg ggcgttagga tacagcgctt gcataaaaagc cttgatctgc ttaaaagcca 23460
 cctgagcctt tgcccttca gagaagaaca tgccgcaaga cttgccgga aactgattgg 23520
 ccggacaggc cgcgtcgtgc acgcagcacc ttgcgtcggg gttggagatc tgcaccacat 23580
 ttccgccccca ccggttcttc acgatcttg ccttgctaga ctgctcctc agcgcgcgt 23640
 gcccgttttc gctcgtcaca tccatttcaa tcacgtgctc cttatttata ataagtctc 23700
 cgtgtagaca cttaagctcg ccttcgatct cagcgcagcg gtgcagccac aacgcgcagc 23760
 ccgtgggctc gtgatgcttg taggtcacct ctgcaaacga ctgcaggtac gcctgcagga 23820
 atcgcctcat catcgtcaca aaggcttctg tgctggtgaa ggtcagctgc aaccgcggc 23880

ES 2 703 913 T3

gctcctcgtt cagccaggtc ttgcatacgg ccgccagagc ttccacttgg tcaggcagta 23940
gtttgaagtt cgcctttaga tcgttatcca cgtggtactt gtccatcagc gcgcgcgcag 24000
cctccatgcc cttctccac gcagacacga tcggcacact cagcgggttc atcaccgtaa 24060
tttcactttc cgcttgcctg ggctcttctt cttctctttg cgtccgcata ccacgcgcca 24120
ctgggtcgtc ttcattcagc cgcgcactg tgcgcttacc tcctttgcca tgcttgatta 24180
gcaccggtg gttgctgaaa cccaccattt gtagcgcac atcttctctt tcttctctgc 24240
tgtccacgat tacctctggt gatggcgggc gctcgggctt gggagaaggc cgcttctttt 24300
tcttcttggg cgcaatggcc aatccgccg ccgaggtcga tggccgcggg ctgggtgtgc 24360
gcgcaccag cgcgtttgt gatgagtctt cctcgtctc ggactcgata cgcgcctca 24420
tccgcttttt tgggggcgcc cggggaggcg gcggcgacgg ggacggggac gacacgtct 24480
ccatggttgg gggacgtcgc gccgcaccgc gtccgcgctc gggggtggtt tcgcgctgct 24540
cctcttccc actggccatt tccttctctt ataggcagaa aaagatcatg gactcagtcg 24600
agaagaagga cagcctaacc gcccctctg agttcgcac caccgcctcc accgatgccg 24660
ccaacgcgcc taccaccttc ccctcgcagg caccctcgcg tgaggaggag gaagtgatta 24720
tcgagcagga cccaggtttt gtaagcgaag acgacgagga ccgctcagta ccaacagagg 24780
ataaaaagca agaccaggac aacgcagagg caaacgagga acaagtgcgg cgggggggacg 24840
aaaggcatgg cgactaccta gatgtgggag acgacgtgct gttgaagcat ctgcagcgcc 24900
agtgcgccat tatctcgcac gcggtgcaag agcgcagcga tgtgccctc gccatagcgg 24960
atgtcagcct tgcctacgaa cgcacctat tctcaccgcg cgtaccccc aaacgccaag 25020
aaaacggcac atgcgagccc aaccgcgcc tcaacttcta ccccgatatt gccgtgccag 25080
agggtccttg cacctatcac atctttttcc aaaactgcaa gataccccta tctgcccgtg 25140
ccaaccgcag ccgagcggac aagcagctgg ccttgcggca gggcgctgct atacctgata 25200
tcgctcgcct caacgaagtg ccaaaaatct ttgagggtct tggacgcgac gagaagcgcg 25260
cggcaaacgc tctgcaacag gaaaacagcg aaaatgaaag tcaactctga gtgttggtgg 25320
aactcgaggg tgacaacgcg cgcctagccg tactaaaacg cagcatcgag gtcaccact 25380
ttgcctacc ggcactaac ctacccccca aggtcatgag cacagtcatg agtgagctga 25440
tcgtgcgccg tgcgcagccc ctggagaggg atgcaaattt gcaagaacaa acagaggagg 25500
gcctaccgc agttggcgac gagcagctag cgcgctggct tcaaacgcgc gagcctgccg 25560
acttgaggga gcgacgcaaa ctaatgatgg ccgagtgct cgttaccgtg gagcttgagt 25620
gcatgcagcg gttctttgct gaccgggaga tgcagcga gctagaggaa acattgcaact 25680
acacctttcg acagggctac gtacgccagg cctgcaagat ctccaacgtg gagctctgca 25740
acctggtctc ctacettgga attttgacg aaaaccgcct tgggcaaac gtgcttcatt 25800

ES 2 703 913 T3

ccacgctcaa gggcgaggcg cgccgcgact acgtccgcga ctgcgtttac ttatttctat 25860
gctacacctg gcagacggcc atgggcgttt ggcagcagtg cttggaggag tgcaacctca 25920
aggagctgca gaaactgcta aagcaaaact tgaaggacct atggacggcc ttcaacgagc 25980
gctccgtggc cgcgcacctg gcgacatca ttttccccga acgcctgctt aaaaccctgc 26040
aacagggctc gccagacttc accagtcaaa gcatgttgca gaactttagc aactttatcc 26100
tagagcgctc aggaatcttg cccgccacct gctgtgcaact tcctagcgac tttgtgccca 26160
ttaagtaccg cgaatgccct ccgccgcttt ggggccactg ctaccttctg cagctagcca 26220
actaccttgc ctaccactct gacataatgg aagacgtgag cggtagcggc ctactggagt 26280
gtcactgtcg ctgcaacctc tgcacccgcg accgctccct ggtttgcaat tcgcagctgc 26340
ttaacgaaag tcaaatatc ggtaccttg agctgcaggg tccctcgctt gacgaaaagt 26400
ccgcggctcc ggggttgaaa ctcaactccg ggtgtggac gtcggcttac cttcgcaaat 26460
ttgtacctga ggactaccac gccacagaga ttaggttcta cgaagaccaa tcccggccgc 26520
ctaatcgga gcttacogcc tgcgtcatta cccaggcca cattcttggc caattgcaag 26580
ccatcaacaa agcccgccaa gagtttctgc tacgaaagg acggggggtt tacttggacc 26640
cccagtcggc cgaggagctc aacccaatcc ccccgccgc gcagccctat cagcagcagc 26700
cgcgggccct tgcctccag gatggcacc aaaagaagc tgcagctgcc gccgccacc 26760
acggacgagg aggaatactg ggacagtcag gcagaggagg ttttggacga ggaggaggag 26820
gacatgatgg aagactggga gaggctagac gaggaagctt ccgaggtcga agaggtgtca 26880
gacgaaacac cgtcacctc ggtcgcattc ccctcgccg cgccccagaa atcggcaacc 26940
ggttccagca tggctacaac ctccgctct caggcgccgc cggcactgcc cgttcgccga 27000
cccaaccgta gatgggacac cactggaacc agggccggta agtccaagca gccgccgccg 27060
ttagcccaag agcaacaaca gcgccaaggc taccgctcat ggcgggggca caagaacgcc 27120
atagttgctt gcttgaaga ctgtggggc aacatctct tcgcccgcg ctttcttctc 27180
taccatcacg gcgtggcctt cccccgtaac atcctgcatt actaccgtca tctctacagc 27240
ccatactgca ccggcggcag cggcagcaac agcagcggcc acacagaagc aaaggcgacc 27300
ggatagcaag actctgacaa agcccaagaa atccacagcg gcggcagcag caggaggagg 27360
agcgtgcgt ctggcgcca acgaaccct atcgaccgc gagcttagaa acaggattht 27420
tcccactctg tatgctatat ttcaacagag caggggcca gaacaagagc tgaaaataaa 27480
aaacaggtct ctgcgatccc taccgcgag ctgcctgtat cacaaaagcg aagatcagct 27540
tcggcgcacg ctggaagacg cggaggctct cttcagtaaa tactgcgcgc tgactcttaa 27600
ggactagtht cgcccccctt ctcaaattha agcgcgaaaa ctacgtcatc tccagcggcc 27660

ES 2 703 913 T3

acaccggcg ccagcacctg ttgtcagcgc cattaatgagc aaggaaattc ccacgcccta 27720
 catgtggagt taccagccac aaatgggact tgcggctgga gctgcccaag actactcaac 27780
 ccgaataaac tacatgagcg cgggacccca catgatatcc cgggtcaacg gaatacgcgc 27840
 ccaccgaaac cgaattctcc tggaacaggc ggctattacc accacacctc gtaataacct 27900
 taatccccgt agttggcccg ctgccctggt gtaccaggaa agtcccgtc ccaccactgt 27960
 ggtacttccc agagacgccc aggccgaagt tcagatgact aactcagggg cgcagcttgc 28020
 gggcggcttt cgtcacaggg tgcggtcgcc cgggcagggt ataactcacc tgacaatcag 28080
 agggcgaggt attcagctca acgacgagtc ggtgagctcc tcgcttggtc tccgtccgga 28140
 cgggacattt cagatggcg gcgccggccg ctcttcattc acgcctcgtc aggcaatcct 28200
 aactctgcag acctcgtcct ctgagccgcg ctctggaggc attggaactc tgcaatttat 28260
 tgaggagttt gtgccatcgg tctactttaa ccccttctcg ggacctcccg gccactatcc 28320
 ggatcaattt attcctaact ttgacgcggt aaaggactcg gcggacggct acgactgaat 28380
 gttaagtgga gaggcagagc aactgcgcct gaaacacctg gtccactgtc gccgccacaa 28440
 gtgctttgcc cgcgactccg gtgagttttg ctactttgaa ttgcccaggg atcatatcga 28500
 gggcccggcg cacggcgctc ggcttaccgc ccaggagag cttgcccgta gcctgattcg 28560
 ggagtttacc cagcgcctcc tgctagtga gcgggacagg ggacctgtg ttctcactgt 28620
 gatttgcaac tgcctaacc ctggattaca tcaagatctt tgttgccatc tctgtgctga 28680
 gtataataaa tacagaaatt aaaatatact ggggctccta tcgccatcct gtaaaccgca 28740
 ccgtcttcac ccgccaagc aaaccaaggc gaaccttacc tggactttt aacatctctc 28800
 cctctgtgat ttacaacagt ttcaaccag acggagtgag tctacgagag aacctctccg 28860
 agctcagcta ctccatcaga aaaaacacca ccctccttac ctgccgggaa cgtacgagtg 28920
 cgtcaccggc cgctgcacca cacctaccgc ctgaccgtaa accagacttt ttccggacag 28980
 acctcaataa ctctgtttac cagaacagga ggtgagctta gaaaaccctt agggatttag 29040
 gccaaaggcg cagctactgt ggggtttatg aacaattcaa gcaactctac gggctattct 29100
 aattcaggtt tctctagaat cggggttggg gttattctct gtcttgatgat tctctttatt 29160
 cttatactaa cgcttctctg cctaaggctc gccgcctgct gtgtgcacat ttgcatttat 29220
 tgtcagcttt ttaaagcgtg gggtcgccac ccaagatgat taggtacata atcctaggtt 29280
 tactcaccct tgcgtcagcc cacggtacca cccaaaagggt ggattttaag gagccagcct 29340
 gtaatgttac attcgcagct gaagctaatt agtgcaccac tcttataaaa tgcaccacag 29400
 aacatgaaa gctgcttatt cgccacaaaa acaaaattgg caagtatgct gtttatgcta 29460
 tttggcagcc aggtgacact acagagtata atgttacagt tttccagggt aaaagtcata 29520
 aaacttttat gtatactttt ccattttatg aaatgtcga cattaccatg tacatgagca 29580

ES 2 703 913 T3

aacagtataa gttgtggccc ccacaaaatt gtgtggaaaa cactggcact ttctgctgca 29640
ctgctatgct aattacagtg ctgctttgg tctgtaccct actctatatt aaatacaaaa 29700
gcagacgcag ctttattgag gaaaagaaaa tgccttaatt tactaagtta caaagctaata 29760
gtcaccacta actgcttttac tgcgtgcttg caaaacaaat tcaaaaagtt agcattataa 29820
ttagaataggt atttaaacc cccggtcatt tcctgctcaa taccattccc ctgaacaatt 29880
gactctatgt gggatatgct ccagcgtac aaccttgaag tcaggcttcc tggatgtcag 29940
catctgactt tggccagcac ctgtcccgcg gatttgttcc agtccaacta cagcgacca 30000
ccctaacaga gatgaccaac acaaccaacg cggccgccgc taccggactt acatctacca 30060
caaatacacc ocaagtttct gcctttgtca ataactggga taacttgggc atgtggtggt 30120
tctccatagc gcttatgttt gtatgcctta ttattatgtg gctcatctgc tgcctaaagc 30180
gcaaacgcgc cggaccacc atctatagtc ccatcattgt gctacacca aacaatgatg 30240
gaatccatag attggacgga ctgaaacaca tgttcttttc tcttacagta tgattaaatg 30300
agacatgatt octcgagttt ttatattact gaccttgtt gcgctttttt tgtgcgtgct 30360
ccacattggc tgcggtttct cacatcgaag tagactgcat tccagccttc acagtctatt 30420
tgctttacgg atttgtcacc ctcacgctca tctgcagcct catcactgtg gtcacgcct 30480
ttatccagtg cattgactgg gtctgtgtgc gctttgcata tctcagacac catccccagt 30540
acagggacag gactatagct gagcttctta gaattcttta attatgaaat ttactgtgac 30600
ttttctgctg attatttgca ccctatctgc gttttgttcc ccgacctca agcctcaaag 30660
acatatatca tgcagattca ctgctatag gaatttcca agttgctaca atgaaaaaag 30720
cgatctttcc gaagcctggc tatatgcaat catctctgtt atggtgttct gcagtacat 30780
cttagcccta gctatataat cctaccttga cattggctgg aacgcaatag atgccatgaa 30840
ccaccctaact ttccccggc cgcctatgct tccactgcaa caagttgttg ccggcggctt 30900
tgtcccagcc aatcagcctc gccaccttc tcccacccc actgaaatca gctactttaa 30960
tctaacagga ggagatgact gacaccctag atctagaaat ggacggaatt attacagagc 31020
agcgcctgct agaaaagcgc agggcagcgg ccgagcaaca gcgcatgaat caagagctcc 31080
aagacatggt taacttgcac cagtgcacaaa ggggtatctt ttgtctggtg aagcaggcca 31140
aagtcaccta cgacagtaat accaccggac accgccttag ctacaagttg ccaaccaagc 31200
gtcagaaatt ggtggtcatg gtgggagaaa agcccattac cataactcag cactcggtag 31260
aaaccgaag ctgcattcac tcacctgtc aaggacctga ggatctctgc acccttatta 31320
agaccctgtg cggctctcaa gatcttatt cctttaaata ataaaaaaaa ataataaagc 31380
atcacttact taaaatcagt tagcaaatct ctgtccagtt tattcagcag cacctccttg 31440

ES 2 703 913 T3

ccctcctccc agctctggta ttgcagcttc ctctctggctg caaactttct ccacaatcta 31500
 aatggaatgt cagtttctctc ctgttctctgt ccactccgcac ccactatcct catgttggtg 31560
 cagatgaagc gcgcaagacc gtctgaagat accttcaacc ccgtgtatcc atatgacacg 31620
 gaaaccggtc ctccaactgt gccttttctt actcctccct ttgtatcccc caatggggtt 31680
 caagagagtc cccctgggggt actctctttg cgcctatccg aacctctagt tacctccaat 31740
 ggcattgcttg cgctcaaaat gggcaacggc ctctctctgg acgaggccgg caaccttacc 31800
 tcccaaatg taaccactgt gagcccacct ctcaaaaaa ccaagtcaa cataaacctg 31860
 gaaatatctg caccctcac agttacctca gaagccctaa ctgtggtgc cgccgcacct 31920
 ctaatggtcg cgggcaacac actcaccatg caatcacagg ccccgctaac cgtgcacgac 31980
 tccaaactta gcattgccac ccaaggaccc ctcacagtgt cagaaggaaa gctagccctg 32040
 caaacatcag gccccctcac caccaccgat agcagtacc ttactatcac tgcctcacc 32100
 cctctaacta ctgccactgg tagcttgggc attgacttga aagagcccat ttatacacia 32160
 aatgaaaaac taggactaaa gtacggggct cctttgcatg taacagacga cctaaact 32220
 ttgaccgtag caactgggtcc aggtgtgact attaataata cttccttgca aactaaagtt 32280
 actggagcct tgggttttga ttcacaaggc aatatgcaac ttaatgtagc aggaggacta 32340
 aggattgatt ctcaaacag acgccttata cttgatgta gttatccgtt tgatgctcaa 32400
 aaccaactaa atctaagact aggacagggc cctcttttta taaactcagc ccacaacttg 32460
 gatattaact acaacaagg cctttacttg tttacagctt caaacaattc caaaaagctt 32520
 gaggttaacc taagcactgc caagggttg atgtttgacg ctacagccat agccattaat 32580
 gcaggagatg ggcttgaatt tggttcacct aatgcaccaa acacaaatcc cctcaaaaca 32640
 aaaattggcc atggcctaga atttgattca aacaaggcta tggttcctaa actaggaact 32700
 ggccttagtt ttgacagcac aggtgccatt acagtaggaa acaaaaataa tgataagcta 32760
 actttgtgga ccacaccagc tccatctcct aactgtagac taaatgcaga gaaagatgct 32820
 aaactcactt tggctttaac aaaatgtggc agtcaaatc ttgctacagt ttcagttttg 32880
 gctgttaaag gcagtttggc tccaatatct ggaacagttc aaagtgtca tcttattata 32940
 agatttgacg aaaatggagt gctactaaac aattccttcc tggaccaga atattggaac 33000
 tttagaaatg gagatcttac tgaaggcaca gcctatacaa acgctgttg atttatgcct 33060
 aacctatcag cttatccaaa atctcacggt aaaactgcca aaagtaacat tgtcagtcaa 33120
 gtttacttaa acggagacaa aactaaacct gtaacactaa ccattacact aaacggtaca 33180
 caggaaacag gagacacaac tccaagtgca tactctatgt cattttcatg ggactggtct 33240
 ggccacaact acattaatga aatatttgcc acatctctt acactttttc atacattgcc 33300
 caagaataaa gaatcgtttg tgttatgttt caacgtgttt attttcaat tgcagaaaat 33360

ES 2 703 913 T3

ttcaagtcac ttttcattca gtagtatagc cccaccacca catagcttat acagatcacc 33420
 gtaccttaat caaactcaca gaaccctagt attcaacctg ccacctccct cccaacacac 33480
 agagtacaca gtcctttctc cccggtggc cttaaaaagc atcatatcat gggtaacaga 33540
 catattctta ggtgttatat tccacacggt ttctgtcga gccaaacgct catcagtgat 33600
 attaataaac tccccgggca gctcacttaa gttcatgtcg ctgtccagct gctgagccac 33660
 aggctgctgt ccaacttgcg gttgcttaac gggcgcgaa ggagaagtcc acgcctacat 33720
 ggggtagag tcataatcgt gcatcaggat agggcggtgg tgctgcagca gcgcggaat 33780
 aaactgctgc cgcccgcgct cgtcctgca ggaatacaac atggcagtg gctcctcagc 33840
 gatgattcgc accgccgca gcataaggcg ccttgtctc cgggcacagc agcgcaccct 33900
 gatctcactt aaatcagcac agtaactgca gcacagcacc acaatattgt tcaaatccc 33960
 acagtgcaag gcgctgtatc caaagctcat ggcggggacc acagaacca cgtggccatc 34020
 ataccacaag cgcaggtaga ttaagtggcg acccctcata aacacgctgg acataaacat 34080
 tacctctttt ggcattgtgt aattcaccac ctcccgtac catataaac tctgattaaa 34140
 catggcgcca tccaccacca tccataacca gctggccaaa acctgccgc cggctataca 34200
 ctgcagggaa ccgggactgg aacaatgaca gtggagagcc caggactcgt aaccatggat 34260
 catcatgctc gtcattgatat caatgttggc acaacacagg cacacgtgca tacacttct 34320
 caggattaca agctcctccc gcgttagaac catatcccag ggaacaacc attcctgaat 34380
 cagcgtaaat cccacactgc agggaagacc tcgcacgtaa ctacagttgt gcattgtcaa 34440
 agtgttacat tcgggcagca gcggatgac ctccagtatg gtagcgcggg tttctgtctc 34500
 aaaaggaggt agacgatccc tactgtacgg agtgccgga gacaaccgag atcgtgttg 34560
 tcgtagtgtc atgccaaatg gaacgccgga cgtagtcata tttcctgaag caaaaccagg 34620
 tgccggcgtg acaaacagat ctgctctcc ggtctcgcg cttagatcgc tctgtgtagt 34680
 agttgtagta tatccactct ctcaaagcat ccaggcgcct cctggcttcg ggttctatgt 34740
 aaactccttc atgcgcgct gccctgataa catccaccac cgcagaataa gccacacca 34800
 gccaacctac acattcgttc tgcgagtac acacgggagg agcgggaaga gctggaagaa 34860
 ccatgttttt ttttttattc caaaagatta tccaaaacct caaatgaag atctattaag 34920
 tgaacgcgct cccctccggt ggcgtgtca aactctacag ccaaagaaca gataatggca 34980
 tttgtaagat gttgcacaat ggcttccaaa aggcaaacgg ccctcacgtc caagtggacg 35040
 taaaggctaa acccttcagg gtgaatctcc tctataaaca ttccagcacc ttcaaccatg 35100
 cccaataat tctcatctcg ccacctctc aatatactc taagcaaat ccgaatatta 35160
 agtccggcca ttgtaaaaat ctgctccaga gcgcctcca ccttcagcct caagcagcga 35220

ES 2 703 913 T3

atcatgattg caaaaattca ggttcctcac agacctgtat aagattcaaa agcggaaacat 35280
 taacaaaaaat accgcgatcc cgtaggtccc ttcgcagggc cagctgaaca taatcgtgca 35340
 ggtctgcacg gaccagcgcg gccacttccc cgccaggaac catgacaaaa gaaccacac 35400
 tgattatgac acgcatactc ggagctatgc taaccagcgt agccccgatg taagcttggt 35460
 gcatggggcg cgatataaaa tgcaaggtgc tgctcaaaaa atcaggcaaa gcctcgcgca 35520
 aaaaagaaag cacatcgtag tcatgctcat gcagataaag gcaggtaagc tccggaacca 35580
 ccacagaaaa agacaccatt tttctctcaa acatgtctgc gggtttctgc ataaacacaa 35640
 aataaaataa caaaaaaaca tttaaacatt agaagcctgt cttacaacag gaaaaacaac 35700
 ccttataagc ataagacgga ctacggccat gccggcgtga ccgtaaaaaa actggtcacc 35760
 gtgattaaaa agcaccaccg acagctctc ggatcatgtcc ggagtcataa tgtaagactc 35820
 ggtaaacaca tcaggttgat tcacatcggc cagtgtctaa aagcgaccga aatagcccgg 35880
 ggggaatacat acccgcgagg gtagagacaa cattacagcc cccataggag gtataacaaa 35940
 attaatagga gagaaaaaca cataaacacc tgaaaaacc tctgcctag gcaaaatagc 36000
 accctcccgc tccagaacaa catacagcgc ttccacagcg gcagccataa cagtcagcct 36060
 taccagtaaa aaagaaaacc tattaaaaa acaccactcg acacggcacc agctcaatca 36120
 gtcacagtgt aaaaagggc caagtgcaga gcgagtatat ataggactaa aaaatgacgt 36180
 aacggttaaa gtccacaaaa aacaccaga aaaccgcacg cgaacctacg cccagaaacg 36240
 aaagccaaaa aaccacacac ttctcaaat cgtcacttcc gttttcccac gttacgtcac 36300
 ttcccatttt aagaaaacta caattccaa cacatacaag ttactccgcc ctaaaccta 36360
 cgtcaccgcg cccgttccca cgccccgcg cagtcacaa actccacccc ctcattatca 36420
 tattggettc aatccaaaat aaggtatatt attgatgatg 36460

<210> 22
 <211> 19
 <212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Elemento Potenciador Especifico de Célula Endotelial

<400> 22
 ggtgactttg cttctggag 19

10 <210> 23
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Elemento Potenciador Especifico de Célula Endotelial

<400> 23
 ctccagaagc aaagtcacc 19

20 <210> 24
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Elemento Potenciador Específico de Célula Endotelial

<400> 24
 gtacttcata cttttcatt 19

5 <210> 25
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Elemento Potenciador Específico de Célula Endotelial

10 <400> 25
 aatgaaaagt atgaagtac 19

<210> 26
 <211> 6

15 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Elemento de respuesta a hipoxia

<400> 26
 gcacgt 6

20 <210> 27
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> liganto péptido

<400> 27
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 35 40

30

REIVINDICACIONES

- 1.- Un vector que comprende la secuencia de nucleótidos indicada en SEQ ID NO:19.
- 2.- El vector de la reivindicación 1, en el que dicho vector es un adenovirus.
- 3.- Una composición farmacéutica que comprende:
 - 5 (i) el vector de la reivindicación 2; y
 - (ii) un vehículo farmacéuticamente aceptable,
 en la que la composición no contiene otro tipo de adenovirus.
- 4.- La composición farmacéutica de la reivindicación 3, en la que la composición se formula como una forma inyectable estéril.
- 10 5.- El vector de la reivindicación 2, o la composición farmacéutica de la reivindicación 3 o 4, para su uso para inhibir, disminuir o reducir la angiogénesis o la neovascularización en un tumor en un sujeto que lo necesita, en el que al sujeto se le administra una cantidad eficaz del vector.
- 6.- El vector para el uso, o la composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 5, en el que la cantidad eficaz del vector es de aproximadamente 10^9 a aproximadamente 10^{15} partículas de virus.
- 15 7.- El vector para el uso, o la composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 5 o 6, en el que el vector, o la composición farmacéutica, se administrará sistémica o localmente.
- 8.- El vector para el uso, o la composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en el que al sujeto se le administrará además una cantidad eficaz de uno o más agentes quimioterapéuticos o radioterapia.
- 20 9.- El vector para el uso, o la composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 8, en el que dichos uno o más agentes quimioterapéuticos o radioterapia se administran antes, al mismo tiempo o después de la administración del vector o de la composición farmacéutica.
- 10.- El vector para el uso, o la composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 8 o 9, en el que dichos uno o más agentes quimioterapéuticos se seleccionan del grupo que consiste en acivicina; aclarubicina; clorhidrato de acodazol; acronina; adriamicina; adozelesina; aldesleuquina; alimta; altretamina; ambomicina; acetato de ametantrona; aminoglucetimidina; amsacrina; anastrozol; antramicina; asparaginasa; asperlina; azacitidina; azetepa; azotomicina; batimastato; benzodepa; bicalutamida; clorhidrato de bisantreno; dimesilato de bisnafida; bevacizumab, bizelesina; sulfato de bleomicina; brequinar sodio; bropirimina; busulfano; cactinomicina; calusterona; caracemida; carbetímero; carboplatino; carmustina; clorhidrato de carubicina; carzelesina; cedefingol; clorambucilo; cirolemicina; cisplatino; cladribina; mesilato de crisnato; ciclofosfamida; citarabina; dacarbazina; dactinomicina; clorhidrato de daunorubicina; decitabina; dexormaplatino; dezaguanina; mesilato de dezaguanina; diaziquona; docetaxel; doxorubicina; clorhidrato de doxorubicina; droloxifeno; citrato de droloxifeno; propionato de dromostanolona; duazomicina; edatrexato; clorhidrato de eflornitina; elsamitrucina; enloplatino; enpromato; epiropidina; clorhidrato de eprubicina; erbulozol; clorhidrato de esorubicina; estramustina; fosfato de estramustina sodio; etanidazol; etopósido; fosfato de etopósido; etoprina; clorhidrato de fadrozol; fazarabina; fenretinida; floxuridina; fosfato de fludarabina; fluorouracilo; flucitabina; fosquidona; fostriceína sodio; gemcitabina; clorhidrato de gemcitabina; hidroxiurea; clorhidrato de idarubicina; ifosfamida; ilmofosina; interferón alfa-2a; interferón alfa-2b; interferón alfa-n1; interferón alfa-n3; interferón beta-1a; interferón gamma-1b; ioproplatino; clorhidrato de irinotecano; acetato de lanreotida; letrozol; acetato de leuprolida; clorhidrato de liarozol; lometrexol sodio; lomustina; clorhidrato de losoxantrona; masoprocol; maitansina; clorhidrato de mecloretamina; acetato de megestrol; acetato de melengestrol; melfalano; menogarilo; mercaptopurina; metotrexato; metotrexato sodio; metoprina; meturedpa; mitindomida; mitocarcina; mitocromina; mitogilina; mitomalcina; mitomicina; mitospero; mitotano; clorhidrato de mitoxantrona; ácido micofenólico; nocodazol; nogalamicina; ormaplatino; oxisurano; pazotinibo; paclitaxel; pegaspargasa; peliomicina; pentamustina; sulfato de peplomicina; perfosfamida; pipobromano; piposulfano; clorhidrato de piroxantrona; plicamicina; plomestano; porfímero sodio; porfiromicina; prednimustina; clorhidrato de procarbazona; puromicina; clorhidrato de puromicina; pirazofurina; riboprina; roglitimida; safingol; clorhidrato de safingol; semustina; simtrazeno; sorafinibo; esparfosato sodio; esparomicina; clorhidrato de espirogermanio; espiromustina; espiroplatino; estreptonigrina; estreptozocina; sulfofenur; sunitinibo; talisomicina; taxol; tecogalano sodio; tegafur; clorhidrato de teloxantrona; temoporfina; tenipósido; teroxirona; testolactona; tiamiprina; tioguanina; tiotepa; tiazofuirina; tirapazamina; clorhidrato de topotecano; citrato de toremifeno; acetato de trestolona; fosfato de triciribina; trimetrexato; glucuronato de trimetrexato; triptorelina; clorhidrato de tubulozol; mostaza de uracilo; uredepa; vapreotida; verteporfina; sulfato de vinblastina; sulfato de vincristina; vindesina; sulfato de vindesina; sulfato de vinepidina; sulfato de vinglicinato; sulfato de vinleurosina; tartrato de vinorelbina; sulfato de vinrosidina; sulfato de vinzolidina; vorozol; zeniplatino; zinostatina; y clorhidrato de zorubicina.

11.- El vector para el uso, o la composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 8 o 9, en el que el agente quimioterapéutico es paclitaxel unido a albúmina.

12.- El vector para el uso, o la composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 11, en el que el agente quimioterapéutico es bevacizumab.

5 13.- El vector para el uso, o la composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 12, en el que el tumor:

(i) se deriva o está asociado con cáncer de tiroides, cáncer neuroendocrino, glioblastoma, un cáncer ginecológico femenino, cualquiera de sus combinaciones, o una metástasis de estos; o

(ii) se deriva o está asociado con cáncer de pulmón.

10 14.- El vector para el uso, o la composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 13, en el que el vector o la composición farmacéutica se administra al sujeto por vía parenteral.

15.- El vector de la reivindicación 2, o la composición farmacéutica de la reivindicación 3 o 4, para su uso para prolongar la supervivencia global de un sujeto que lo necesita, en el que el sujeto padece un tumor o una metástasis asociada o derivada de un cáncer ginecológico femenino.

15

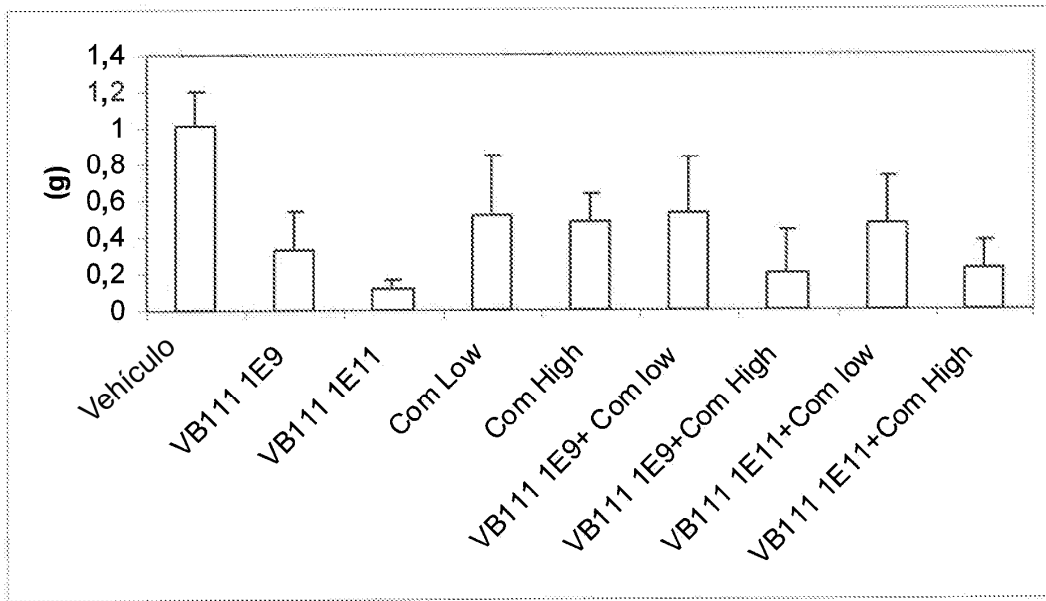


FIGURA 1

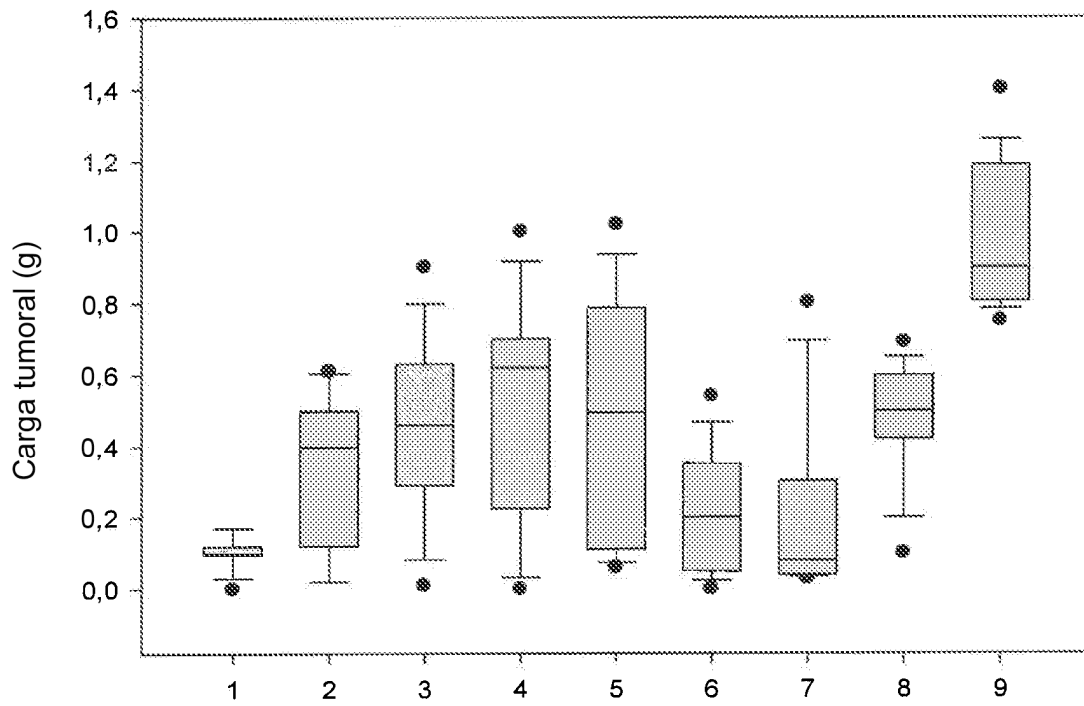


FIGURA 2

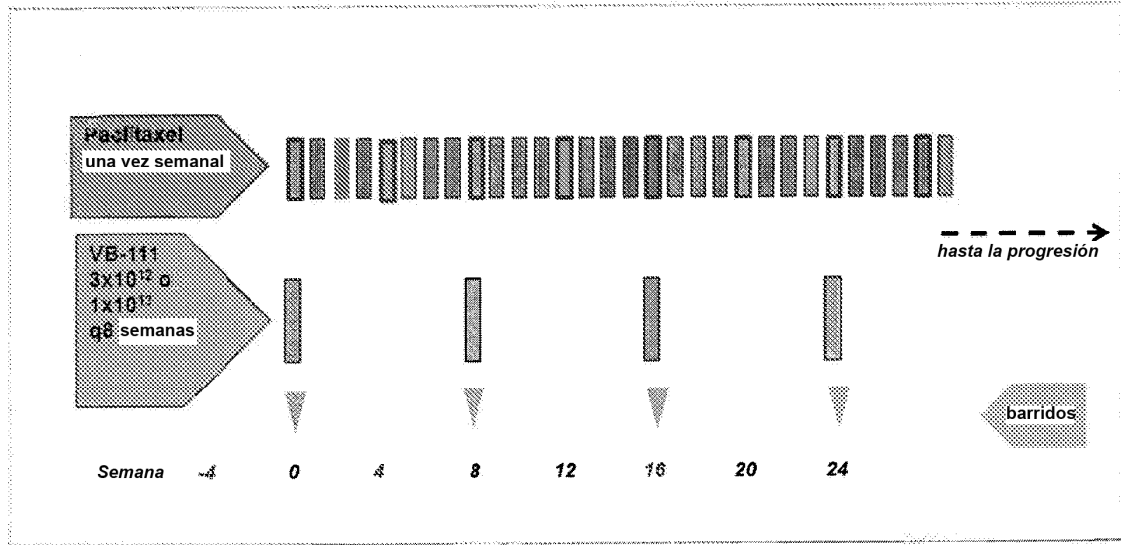


FIGURA 3