



Sverige

(12) Patentskrift

(10) SE 535 982 C2

(21) Patentansökningsnummer:	0901565-2	(51) Internationell klass:
(45) Patent meddelat:	2013-03-19	A61K 39/385 (2006.01)
(41) Ansökan allmänt tillgänglig:	2011-06-16	A61K 38/17 (2006.01)
(22) Patentansökan inkom:	2009-12-15	A61P 35/00 (2006.01)
(24) Löpdag:	2009-12-15	
(83) Deposition av mikroorganism:	---	
(30) Prioritetsuppgifter:	---	

(73) Patenthavare: Theravac Pharmaceuticals AB, Vårdkasvägen 1, 756 55 Uppsala SE

(72) Uppfinnare: Anna-Karin Olsson, Uppsala SE
Lars Hellman, Uppsala SE

(74) Ombud:

(54) Benämning: Ett nytt vaccin som angriper tumörkärl som ett effektivt redskap i tumörterapi

(56) Anförda

publikationer: EP 1752160 A2 • WO 9505849 A1 • EP 1913954 A2 • US 20060286074 A1 • WO 2007056061 A2 • WO 2004046191 A2

(47) Sammandrag:

Uppfinningen relaterar till en formulering för behandlingen av olika cancerformer. Formuleringen är ett vaccin innehållande sekvenserna av EDB, EDA, annexin A1, endosialin, C domänen av tenascin C eller magic roundabout (MR) eller fragment därav som enskilda eller i kombination kopplade till en eller flera heterologa bärrarmolekyler. Vaccinet administreras företrädesvis tillsammans med ett adjuvans.

Sammanfattning

Uppfinningen relaterar till en formulering för behandlingen av olika cancerformer. Formuleringen är ett vaccin innehållande sekvenserna av EDB, EDA, annexin A1, endosialin, C domänen av tenascin C eller magic roundabout (MR) eller fragment därav som enskilda eller i kombination kopplade till en eller flera heterologa bärarmolekyler. Vaccinet administreras företrädesvis tillsammans med ett adjuvans.

Ett nytt vaccin som angriper tumörkärl som ett effektivt redskap i tumörterapi.

Denna uppfinning relaterar till en metod utvecklad för att stimulera immunsystemet att producera antikroppar som nästan uteslutande angriper tumörkärl. Dessa antikroppar, som är riktade mot självproteiner som nästan uteslutande är uttryckta i och omkring tumörkärl, resulterar i ett angrepp av immunsystemet på tumörkärlen vilket leder till en kraftig reduktion i tumörtillväxt. Även om uppfinningen generellt relaterar till ett vaccin för användning i däggdjur så kommer det huvudsakliga användningsområdet att vara vaccin för användning i människa, hund, katt och häst. Uppfinningen kommer därför att beskrivas i generella termer men med hänvisning till vaccin för användning i människa, hund, katt och häst.

Bakgrund till uppfinningen

Angiogenes – bildandet av nya kapillära blodkärl – är essentiellt under vävnadsutveckling och under fysiologiska tillstånd som kräver angiogenes, så som i sårhäkning och under menstruationscykeln. Däremot är angiogenes ovanlig och omsättningen av endotelcellspoolen är flera hundra dagar i friska män. Utdragen och kraftigt förhöjd angiogenes har däremot observerats i ett antal patologiska tillstånd så som t.ex. reumatoid artrit, retinopati och tumörtillväxt. Normala kärl är mycket strikt reglerade av en balans mellan naturligt förekommande pro- och antiinflammatoriska faktorer. En mycket viktig sådan faktor är vaskulär endothelial tillväxtfaktor (VEGF), som är central för utvecklandet av ett vaskulärt system under embryogenes och som reglerare av kärlnybildning hos vuxna personer [1].

Ett antal endogena faktorer som negativt reglerar angiogenes har beskrivits [2]. Dessa inhibitorer faller huvudsakligen inom tre grupper, plasmaproteiner, basalmembranproteiner och serinproteasinhistorer (serpiner). Exempel på endogena inhibitorer av angiogenes är trombospodin (TSP), ett basalmembranprotein, endostatin, ett fragment av collagen XVIII, angiostatin, ett fragment av plasminogen och tumstatin, ett fragment av collagen IV. Deras verkningsmekanismer är bl.a. induktion av apoptos i endotelceller och/eller att de interfererar med integrinfunktionen, antingen genom att använda integriner som receptorer eller genom att specifikt binda till olika matrixkomponenter. Genetiska bevis stärker också dessa molekylers roll som negativa reglerare av angiogenes. Överuttryck av TSP-1 i hud hos möss resulterar i fördröjd och reducerad hudcarcinogenes, medan möss som saknar TSP-2 har ökad blodkärlsbildning och uppvisar ökad carcinogenes [3]. Möss som saknar uttryck av antingen tumstatin eller endostatin uppvisar också ökad tumörtillväxt och blodkärlsbildning [4].

Antiangiogenes som en klinisk strategi för behandling av sjukdomar som karaktäriseras av för kraftig blodkärlsbildning är attraktivt av flera orsaker, speciellt när den kombineras med kemoterapi.

Genom att svälta ut tumören genom reducerad vaskularisering riktas inte behandlingen mot tumörcellerna och är därför inte beroende av dessa cellers egenskaper, vilka är kända för att genetiskt instabila. Till dags dato har fem antiangiogena mediciner, som alla riktas antingen mot VEGF eller VEGFR2 blivit godkända av U.S. Food and Drug Administration (FDA) [1]. Den mest kliniskt framgångsrika behandlingen är hittills den VEGF-neutraliserande antikroppen Bevacizumab (Avastin) som blev godkänd under

första delen av 2004. När den ges i kombination med kemoterapi förlänger den överlevnaden för patienter med metastaserande koloncancer, lung och bröstcancer. Den andra antiangiogena drog som blev godkänd av FDA är anti-VEGF aptameren Pegaptanib/Mecugen som används i behandlingen av åldersrelaterad degeneration i maculan i ögat (AMD). Dessutom godkändes receptortyrosinkinashämmaren Sunitinib (Sutent) och Sorafinib (Nexavar), som binder VEGFR2 (och även PDGF-receptor β , Flt3 och cKit) i januari 2006 respektive december 2005 för behandling av njur- och gastrointestinal cancer. Den femte drog som riktas mot VEGF inducerad signalering är den VEGF-neutraliserande antikroppsfragmentet Ranibizumab (Lucentis) vilken godkändes i juni 2006 av FDA för behandling av åldersrelaterad maculadegenerering, den viktigaste orsaken till blindhet i väst.

Tidigare var uppfattningen att antiangiogen behandling inte skulle vara förknippad med problem med resistens, vilket ofta är fallet med kemoterapi. Detta då den ger sig på icke transformerade celler i tumören. Denna teori har dock visa sig inte vara helt korrekt. Data har ackumulerats som visar att andra angiogena vägar kan ersätta VEGF under det att sjukdomen fortskrider [5]. Det är därför viktigt att utveckla en bred panel av antiangiogena behandlingsmetoder för klinisk användning, som riktas mot olika funktioner hos angiogena kärl, motsvarande den panel av cytotoxiska medel som används av onkologer idag.

Flera av de ovan beskrivna antiangiogena behandlingsmetoderna är mycket kostnadskrävande och de aktiva substanserna behöver injiceras intravenöst eller intramuskulärt flera gånger i veckan, varje dag eller flera gånger per dag för att ge maximal effekt, och visar ofta endast effekt på ett begränsat antal cancerformer. Behovet av nya behandlingsmetoder som är lättare att administrera, mera kostnadseffektiva och med ett bredare spektrum av cancerformer är därför stort.

Vaccination är attraktiv metod för behandling av många typer av sjukdomar. Breda vaccinationsprogram har i det närmaste utrotat flera livshotande sjukdomar såsom polio, difteri och smittkoppor. Möjligheten att använda vaccination som behandlingsmetod även för cancer har under en tid varit fokus för intensiv forskning. Än så länge finns det dock inget vaccin för kliniskt bruk. Det finns flera orsaker till varför utvecklingen av vaccin för cancerbehandling är svårare än för flera andra sjukdomar. För det första så är målmolekylen ofta ett självprotein kanske också uttryckt i normal vävnad men då med lägre nivåer eller under embryogenesen. I kontrast till vaccination mot främmande virala och bakteriella antigen måste därför immunsystemets självtolerans mot antigenet brytas. För det andra så har tumörceller utvecklat mekanismer för att undvika igenkänning av immunsystemet, vilket ytterligare försvårar vaccination mot tumörcellsantigener. För det tredje så är det mycket viktigt att använda sig av en sjukdomsspecifik målmolekyl när man vaccinerar mot ett självprotein.

Vi presenterar här en ny strategi för att öka effektiviteten av tumörvacciner genom att koppla självantigenet, den tumörvaskulära målmolekylen, till ett kroppsfrämmande antigen som är av en tillräcklig storlek för att innehålla en ansenlig mängd T-cellsepitoper. Denna metod gör att igenkänningen av T-celler sker i nästa alla MHC-bakgrunder och att vaccinet därför kan användas i utavlade populationer som i människa. Genom att rikta behandlingen mot kärnen minskar också risken att tumörcellerna blir resistenta mot behandlingen.

Antiangiogen behandling har också möjligheten att bli ett kostnadseffektivt alternativ till upprepad och långvarig administration av en drog. För individer med hög risk att utveckla nedärva former av cancer kan antiangiogen vaccination möjligen även användas som förebyggande behandling.

De antigen vi har valt för utveckling av ett cancertvaccin är sex olika antigen som huvudsakligen är uttryckta i tumörkärl i vuxna individer, extradomän B av fibronectin (EDB)[6], extradomän A av fibronectin (EDA) [6], extradomän C av tenascin-C [7], annexin A1 [8], endosialin [9, 10] och magic roundabout (MR) [11]. EDB är en 91 aminosyror lång domän som är insatt i fibronectin genom differentiell splitsning. EDB är uttryckt under embryogenes men inte i vuxen vävnad under normala omständigheter. Däremot är EDB uttryckt i höga nivåer i ett antal solida tumörer [6]. Administration av antikroppar riktade mot EDB, som har kopplats radioaktiva eller cytotoxiska ämnen, har resulterat i mycket lovande resultat i musmodeller för cancer och även i en fas II klinisk prövning (för aktuell information se <http://www.philogen.com/>). EDA är en annan extradomän som också sätts in i fibronectin genom differentiell splitsning. Denna domän är uttryckt i viss tumörvävnad men generellt inte i annan vävnad hos vuxna individer [6]. C-domänen av tenascin C är överuttryckt i olika tumörtyper, t.ex. i höggradiga astrocytom, men under detektionsnivå i normal vävnad hos vuxna [7]. Magic roundabout (MR) är också uttryckt i områden av aktiv angiogenes, som i tumörer, men inte i normal vävnad förutom under embryogenes [7]. Även endosialin och annexin A1 är båda nästan uteslutande uttryckt i tumörvävnad.

Vad som tidigare var känt inom fältet "Prior Art".

Vaccinationsstrategier för att behandla cancer har varit ett aktivt forskningsfält både inom den farmaceutiska industrin och bland akademiska forskare. Framgången har dock varit mycket begränsad. En mycket viktig faktor för denna bristande framgång har varit att de flesta kliniska och prekliniska försök har gjort med icke modifierade självprotein. Detta har även gjort att nära nog all grupper inom det tumörbiologiska fältet har kommit till slutsatsen att det inte är möjligt att göra aktiva tumörvacciner. Många grupper har därför valt att fokusera på monoklonala antikroppar. Ännu svårare har det varit med EDB där sekvensen är så extremt väl konserverad att det har varit näst intill omöjligt att göra monoklonala antikroppar i mus eller råttor mot det humana proteinet att de har varit tvungna att använda "phage display" teknologi för att erhålla EDB bindande strukturer för terapi (se <http://www.philogen.com/>). Det är dock ett företag som har gjort studier med cancertvacciner och det är Pharmexa i Danmark. De har använt immunodominanta epitoper från olika kroppsfrämmande proteiner. Dessa korta immunodominanta epitoper har satts in i målmolekylen (www.pharmexa.com). Idén bakom att sätta in immunodominanta epitoper är dock att det är en epitop som binder mycket starkt till en specifik MHC klass I eller Klass II molekyler. Detta gör att vaccinet beroende av en mycket kraftigt varierande parameter, peptidspecificiteten hos en MHC molekyler. Genom att använda att fusionsprotein med ett större antal peptider löser vi problemet med enskilda immunodominanta epitoper och kan erhålla ett vaccin som har mer generella användningsområden. Alla tidigare testade vacciner har också riktats mot tumören och inte mot kärlassocierade antigen. Tumörantigen har visats lätt kunna nedregleras och att tumören därmed undviker attack från dessa behandlingsmetoder relativt lätt. Detta beror på tumörcellernas stora plasticitet. Alla tumörer behöver kärl för att överleva och att

växa, och strategin att angripa kärlen med nya mer kraftfulla terapeutiska vacciner bestående av enstaka eller en blandning av upp emot sex olika tumörspecifika vaskulära mål-molekyler är därför en ny och mer kraftfullt sätt att angripa även aggressiva snabbväxande tumörer.

Uppfinningens mål

Uppfinningens mål är att ta fram en lättanvändbar, kraftfull och kostnadseffektiv metod för behandling av olika typer av cancerformer genom att angripa tumörkärlen, en essentiell del av en växande tumör. Behandling med hjälp av vacciner bestående av fusionsproteiner mellan extra domän B (EDB) från fibronectin, EDA, annexin A1, endosialin, extra domän C av tenascin C eller magic roundabout (MR) och ett kroppsfrämmande bärarprotein av icke själv ursprung, antingen en i taget eller en kombination av två till sex av dessa fusionsproteiner för behandling av olika cancerformer.

Sammanfattning av uppfinningen.

Den ovan beskrivna målet uppnås i enlighet med uppfinningen genom ett vaccin eller en kombination av vacciner, som karaktäriseras av att det består av en eller en kombination av två till sex proteiner som har hela aminosyrasekvensen eller delar större än 5 aminosyror av EDB, EDA, annexin A1, endosialin, extradomän C av tenascin C eller magic roundabout (MR) från den art som skall vaccineras i dess ursprungliga eller multimeriserade form kopplad till en eller flera heterologa bärarproteiner och kan även innehålla ett adjuvans.

Kortfattad beskrivning av figurerna

Figurerna 1 A, B, C, D, E, och F visar aminosyrasekvenserna av humant EDB, EDA, annexin A1, endosialin, extradomän C av tenascin C och magic roundabout (MR).

Figur 2 visar en schematisk bild av thioredoxin-EDB och GST-EDB konstruktionerna som används för immunisering, som antigen för ELISA "coatning" och för koncept-studier i musmodeller, och det rena proteinet från dessa konstruktioner.

Figur 3 visar effekten på tumörvikt efter vaccination. Antikroppstitrarna i en panel av vaccinerade och kontroldjur visas också.

Figur 4 visar vaccinet tydliga effekt på tumörstorlek i en musmodell.

Beskrivning av uppfinningen.

Anti-EDB, anti-EDA, anti-annexin A1, anti-endosialin, anti-extradomän C av tenascin C eller anti magic roundabout (MR) antikroppar produceras av värden genom aktiv immunisering, så kallad vaccination. Genom injektion av modifierad EDB, EDA, annexin A1, endosialin, extra domän C av tenascin C eller magic roundabout (MR) i en värd så producerar värdens immunsystem ett polyklonalt antikroppssvar mot kroppens eget EDB, EDA, annexin A1, endosialin, extra domän C av tenascin C eller magic roundabout (MR), och därigenom angrips de tumörspecifika kärlen av immunsystemet. Det är av största vikt att modifiera antigenet så att värdens immunsystem uppfattar det modifierade självprotein som ett kroppsfrämmande protein. Detta kan uppnås genom kovalent koppling av en kroppsfrämmande aminosyraregion till EDB, EDA, annexin A1, endosialin, extra domän C av tenascin C eller magic roundabout (MR) eller en vald

region av någon av dessa molekyler från den art som skall behandlas. Peptiderna inom den kroppsfrämmande delen attraherar och aktiverar då icke-toleriserade T-celler, som kan ge hjälp till potentiellt autoreaktiva B-celler.

Det finns minst tre olika strategier att göra dessa modifieringar av ett självprotein. En metod är att producera ett fusionsprotein mellan ett kroppsfrämmande protein och hela eller ett utvalt fragment större än 5 aminosyror av själv-EDB, EDA, annexin A1, endosialin, extra domän C av tenascin C eller magic roundabout (MR) i ett prokaryot eller eukaryot expressionssystem. Den öppna läsramen för EDB, EDA, annexin A1, endosialin, extra domän C av tenascin C eller magic roundabout (MR), som exemplifieras av humant EDB, EDA, annexin A1, endosialin, extra domän C av tenascin C eller magic roundabout (MR) i figur 1 klonas då först in i en bakteriell, fungiell eller eukaryot expressionsvektor. Detta fusionsproteikonstrukt transfekteras sedan in i en mammalie eller prokaryot värd för produktion av det önskade proteinet. Fusionspartnern kan här vara vilket kroppsfrämmande protein som helst av vilken storlek som helst från 10 aminosyror till flera hundra kDa. Med fördel kan dock ett protein av ungefär samma storlek som målmolekylen användas.

Alternativt kan icke modifierad EDB, EDA, annexin A1, endosialin, extra domän C av tenascin C eller magic roundabout (MR) produceras i en mammalie eller prokaryot värd eller värdcell och sedan kovalent kopplas till ett bärarprotein genom kemisk koppling.

Ett tredje alternativ, vilket i vår mening är mindre fördelaktigt är att producera utvalda regioner av EDB, EDA, annexin A1, endosialin, extra domän C av tenascin C eller magic roundabout (MR) som syntetiska peptider och sedan fästa dessa peptider till ett kroppsfrämmande bärarprotein genom kemisk koppling. Det tredje alternativet resulterar ofta, efter injektion i patienten, i ett antikroppsvar som uppvisar låg bindningsaktivitet mot nativt rätt veckat protein och därmed i sämre klinisk effekt.

Efter produktion av vaccinantigenet renas och testas detta för pyrogeninnehåll och möjliga andra föroreningar. För att erhålla ett tillräckligt starkt svar mot själv epitoperna så kan vaccinantigenet blandas med ett adjuvans före injektion i patienten. Efter administrering i patienten inducerar vaccinet ett immunsvaret mot antigenet. På grund av närvaron av kroppsfrämmande epitoper i vaccinantigenet indicerar detta protein också ett antikroppsvar mot målmolekylen i detta fall EDB, EDA, annexin A1, endosialin, extra domän C av tenascin C eller magic roundabout (MR), och därmed angriper immunsystemet tumörkärnen, vilket leder till minskad tumörtillväxt eller till att tumören helt försvinner.

Exempel.

För att studera uppfinningens effektivitet så producerades ett fusionsprotein mellan den 91 aminosyror långa extradomän B (EDB) av humant fibronectin och ett bakteriellt antigen av en storlek på 10 kDa. E.coli thioredoxin användes här som vaccinantigen för att studera effekten i en djurmodell. EDB domänen är mycket väl konserverad och i det närmaste identisk mellan nära nog alla placentala däggdjur som studerats. Detta fusionsprotein producerades i en prokaryot värd till näst intill homogenitet (helt rent) (Figur 2). Thioredoxin-EDB fusionsproteinet injicerades sedan i möss tillsammans med adjuvans. Efter tre veckor fick mössen en boosterdos och efter fem veckors behandling analyserades serum från djuren för mängden anti-EDB antikroppar som producerats. Som

kan ses från figur 3 så uppvisade alla djuren höga titrar av anti-EDB antikroppar i motsats till kontrolldjuren som var negativa. Detta visar att vaccinet har kapaciteten att indicera produktion av rejäla mängder av anti-EDB antikroppar i försöksdjuren.

In vivo effekten av dessa antikroppar testades sedan i en mus tumörmodell. Vaccinationen och de antikroppar som producerades efter stimuleringen av värdens immunsystem visade sig effektivt kunna reducera tumörstorleken i dessa djur (Figur 4). Anti-EDB antikropparna också i en påtaglig förändring i tumörvävnaden som kunde ses efter examination med hjälp av elektronmikroskopi (icke visade resultat). Bindningen av anti-EDB antikroppar till tumörkärlen leder till en kraftig infiltration av immunceller och en attack av immunsystemet på dessa kärl. Det är mycket troligt att det är denna effekt på kärlen som orsakar den kraftiga reduktionen i tumörstorlek som observerades i vaccinerade djur.

Förvarandet att göra vacciner mot de andra antigen som nämns i denna ansökan är i praktiken identiskt till det som beskrivs för EDB bara att ett självprotein byts ut mot ett annat i vaccinantigenet.

Sammanfattningsvis så har vi nu visat att i kontrast till tidigare studier av cancervacciner att vi kan erhålla både höga titrar och biologiskt aktiva antikroppar genom vaccination och att dessa har god terapeutisk effekt på tumörtillväxt.

Referenser

- [1] Olsson AK, Dimberg A, Kreuger J, Claesson-Welsh L. VEGF receptor signalling - in control of vascular function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006;7(5):359-71.
- [2] Folkman J. Endogenous angiogenesis inhibitors. *Apmis* 2004;112(7-8):496-507.
- [3] Hawighorst T, Velasco P, Streit M, Hong YK, Kyriakides TR, Brown LF, et al. Thrombospondin-2 plays a protective role in multistep carcinogenesis: a novel host anti-tumor defense mechanism. *Embo J* 2001;20(11):2631-40.
- [4] Sund M, Hamano Y, Sugimoto H, Sudhakar A, Soubasakos M, Yerramalla U, et al. Function of endogenous inhibitors of angiogenesis as endothelium-specific tumor suppressors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102(8):2934-9.
- [5] Ferrara N, Kerbel RS. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature* 2005;438(7070):967-74.
- [6] Scarpino S, Stoppacciaro A, Pellegrini C, Marzullo A, Zardi L, Tartaglia F, et al. Expression of EDA/EDB isoforms of fibronectin in papillary carcinoma of the thyroid. *J Pathol* 1999;188(2):163-7.
- [7] Silacci M, Brack SS, Spath N, Buck A, Hillinger S, Arni S, et al. Human monoclonal antibodies to domain C of tenascin-C selectively target solid tumors in vivo. *Protein Eng Des Sel* 2006;19(10):471-8.
- [8] Oh P, Li Y, Yu J, Durr E, Krasinska KM, Carver LA, et al. Subtractive proteomic mapping of the endothelial surface in lung and solid tumours for tissue-specific therapy. *Nature* 2004;429(6992):629-35.
- [9] Teicher BA. Newer vascular targets: endosialin (review). *Int J Oncol* 2007;30(2):305-12.

- [10] Rettig WJ, Garin-Chesa P, Healey JH, Su SL, Jaffe EA, Old LJ. Identification of endosialin, a cell surface glycoprotein of vascular endothelial cells in human cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89(22):10832-6.
- [11] Huminiecki L, Gorn M, Suchting S, Poulsom R, Bicknell R. Magic roundabout is a new member of the roundabout receptor family that is endothelial specific and expressed at sites of active angiogenesis. *Genomics* 2002;79(4):547-52.

Patentkrav

1. Vaccin innehållande av en av dem eller en kombination av aminosyrasekvenserna för extradomän B av fibronektin (EDB), extradomän A av fibronektin (EDA), annexin A1, endosialin, extradomän C av tenascin C, magic roundabout (MR) eller ett fragment därav i dess ursprungliga eller multimeriserade form, som är kopplad till ett kroppsfrämmande bärarprotein och med ett farmakologiskt accepterbart adjuvans.
2. Vaccin enligt patentkrav 1 där hela eller en del av EDB i dess ursprungliga eller multimeriserade form är kopplad till ett kroppsfrämmande bärarprotein.
3. Vaccin enligt patentkrav 1 eller 2 där EDB är av humant, canint (hund), felint (katt) eller equint (häst) ursprung.
4. Ett EDB vaccin enligt patentkrav 1 eller 2 för medicinskt bruk.
5. Användningen av ett fusionsprotein bestående av hela eller delar av EDB från den art som skall vaccineras och ett kroppsfrämmande bärarprotein för produktion av ett vaccin för medicinskt bruk.
6. Vaccin enligt patentkrav 1 där hela eller en del av EDA i dess ursprungliga eller multimeriserade form är kopplad till ett kroppsfrämmande bärarprotein.
7. Vaccin enligt patentkrav 1 eller 7 där EDA är av humant, canint (hund), felint (katt) eller equint (häst) ursprung.
8. Ett EDA vaccin enligt patentkrav 1 eller 7 för medicinskt bruk.
9. Användningen av ett fusionsprotein bestående av hela eller delar av EDA från den art som skall vaccineras och ett kroppsfrämmande bärarprotein för produktion av ett vaccin för medicinskt bruk.
10. Vaccin enligt patentkrav 1 där hela eller en del av annexin A1 i dess ursprungliga eller multimeriserade form är kopplad till ett kroppsfrämmande bärarprotein.
11. Vaccin enligt krav 1 eller 10 där annexin A1 är av humant, canint (hund), felint (katt) eller equint (häst) ursprung.
12. Ett annexin A1 vaccin enligt patentkrav 1 eller 10 för medicinskt bruk.

13. Användningen av ett fusionsprotein bestående av hela eller delar av annexin A1 från den art som skall vaccineras och ett kroppsfrämmande bärarprotein för produktion av ett vaccin för medicinskt bruk.
14. Vaccin enligt patentkrav 1 där hela eller en del av endosialin i dess ursprungliga eller multimeriserade form är kopplad till ett kroppsfrämmande bärarprotein.
15. Vaccin enligt krav 1 eller 14 där endosialin är av humant, canint (hund), felint (katt) eller equint (häst) ursprung.
16. Ett endosialin vaccin enligt patentkrav 1 eller 14 för medicinskt bruk.
17. Användningen av ett fusionsprotein bestående av hela eller delar av endosialin från den art som skall vaccineras och ett kroppsfrämmande bärarprotein för produktion av ett vaccin för medicinskt bruk.
18. Vaccin enligt patentkrav 1 där hela eller en del av extradomän C av tenascin C i dess ursprungliga eller multimeriserade form är kopplad till ett kroppsfrämmande bärarprotein.
19. Vaccin enligt krav 1 eller 18 där extradomän C av tenascin C är av humant, canint (hund), felint (katt) eller equint (häst) ursprung.
20. Ett extradomän C av tenascin C vaccin enligt patentkrav 1 eller 18 för medicinskt bruk.
21. Användningen av ett fusionsprotein bestående av hela eller delar av extradomän C av tenascin C från den art som skall vaccineras och ett kroppsfrämmande bärarprotein för produktion av ett vaccin för medicinskt bruk.
22. Vaccin enligt patentkrav 1 där hela eller en del av magic roundabout (MR) i dess ursprungliga eller multimeriserade form är kopplad till ett kroppsfrämmande bärarprotein.
23. Vaccin enligt krav 1 eller 22 där magic roundabout (MR) är av humant, canint (hund), felint (katt) eller equint (häst) ursprung.
24. Ett magic roundabout (MR) vaccin enligt patentkrav 1 eller 22 för medicinskt bruk.
25. Användningen av ett fusionsprotein bestående av hela eller delar av magic roundabout (MR) från den art som skall vaccineras och ett kroppsfrämmande bärarprotein för produktion av ett vaccin för medicinskt bruk.

Figur 1. A

Humant EDB



Aminosyrasekvensen

**EVPQLTDLSEFVDITDSSIGLRWTPLNSSIIIGYRITVVAAGEGIPFEDFVDSSVGYT
VTGLEPGIDYDISVITLINGGESAPTTLTQQT**

Accession nummer: X07717

Figur 1B

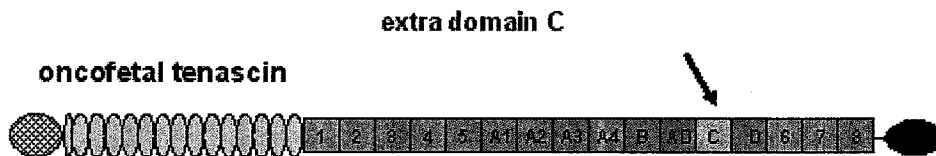
Humant EDA Aminosyrasekvensen

**NIDRPKGLAFTDVDVDSIKIAWESPOGQVSRVRYTYSSPEDGIRELFPAPDGEDDTAEL
QGLRPGSEYTVSVVALHDDMESQPLIGTQST**

Accession nummer: X07718

Figur 1C

Humant extra domän C av tenascin C



Aminosyrasekvensen

**EALPLENLTISDINPYGFTVSWMASENAFDSFLVTVVDSGKLLDPQEF TLSGTQRKLE
LRGLITGIGYEMVSGFTQGHQTKPLRAEIVT**

Accession nummer: CAA55309

Figur 1D
Humant Annexin A1

Aminosyrasekvensen

MAMVSEFLKQAWFIENEEQEYVQTVKSSKGGPGSAVSPYPTFNPSSDVAALHKAIMVKG
VDEATIIDILTKRNNAQRQQIKAAAYLQETGKPLDETLKKALTGHLEEVVLALLKTPAQF
DADELRAAMKGLGTDEDLIEILASRTNKEIRDINRVYREELKRDLAKDITSDTSGDFR
NALLSLAKGDRSEDFGVNEDLADSDARALYEAGERRKGTDVNVFNTILTTRSYPQLRRV
FQKYTKYSKHD MNKVL DLELKGDI EKCLTAIVKCATSKPAFFAEK LHQAMKGVGTRHKA
LIRIMVSRSEIDMNDIKAFYQMYGISLCQA ILDETKGDYEKILVALCGGN

Accession nummer: AAH35993

Figur 1E
Humant Endosialin

Aminosyrasekvensen

MLLRLLAWAAAGPTLGQDPWAAEPRAACGPSSCYALFPRRRTFLEAWRACRELGGDLA
TPRTPEEAQRVDSL VGAGPASRL LWIGLQRQARQCQLRPLRGFTWTTGDQDTAFTNWA
QPASGGPCPAQRQCVALEASGEHRWLEG SCTLAVDGYLCQFGFEGACPALQDEAGQAGPA
VYTTPFHLVSTEFEWLPFGSVA AVQCQAGRGASLLCVKQPEGGV GWSRAGPLCLGTGCS
PDNGGCEHECV EVDGHVSCRCTEGFRLAADGRSCEDPCAQAPCEQQCEPGGPOGYSCH
CRLGFRPAEDDPHRCVDTDECQIAGVCQQMCVNYVGGFECYCSEGHELEADGISCSPAG
AMGAQASQDLGDELDDGEDEEDEDEAWKAFNGGWTEMPGILWMEPTQPPDFALAYRPS
FPEDREPQIPYPEPTWPPPLSAPRVPHYSSVLSVTRPVVVSATHPTLPSAHQPPVIPAT
HPALSRDHQIPVIAANYPDLPSAYQPGILSVSHSAQPPAHQPPMISTKYPELFFAHQSP
MFPDTRVAGTQTTHLPGIPPNHAPLVTTLGAQLPPQAPDALVLRTOATQLPIIPTAQF
SLTTTSRSPVSPAHQISVPAATQPAALPTLLPSQSPTNQTSPISPTHPHSKAPQIPRED
GPSPKLALWLPSAPTAAPTALGEAGLAEHSQRDDRWLLVALLVPTCVFLVLLALGIV
YCTRCGPHAPNKRITDCYRWVIHAGSKSPTEPMPPRGSLTGVQTCRTSV

Accession nummer: CAAC34381

Figur 1F

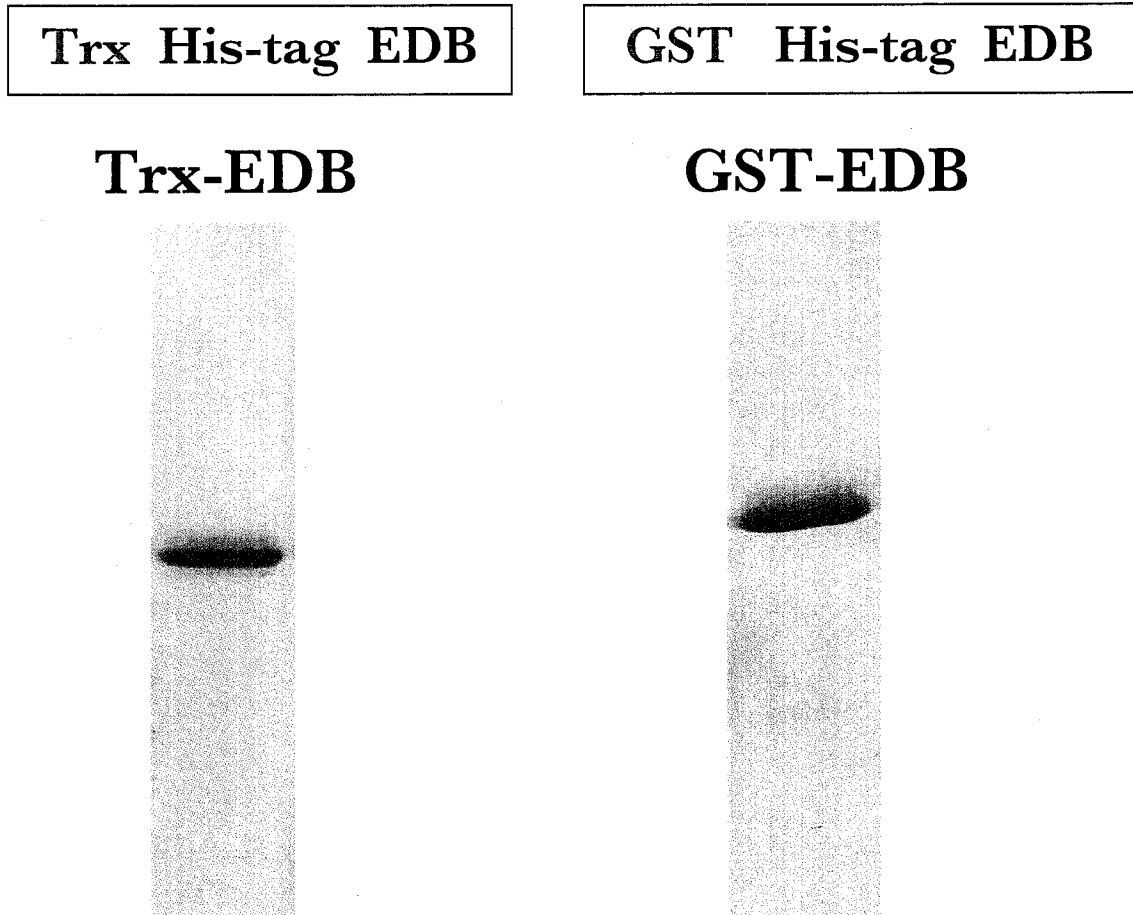
Humant Magic Roundabout (MR)

Aminosyrasekvensen

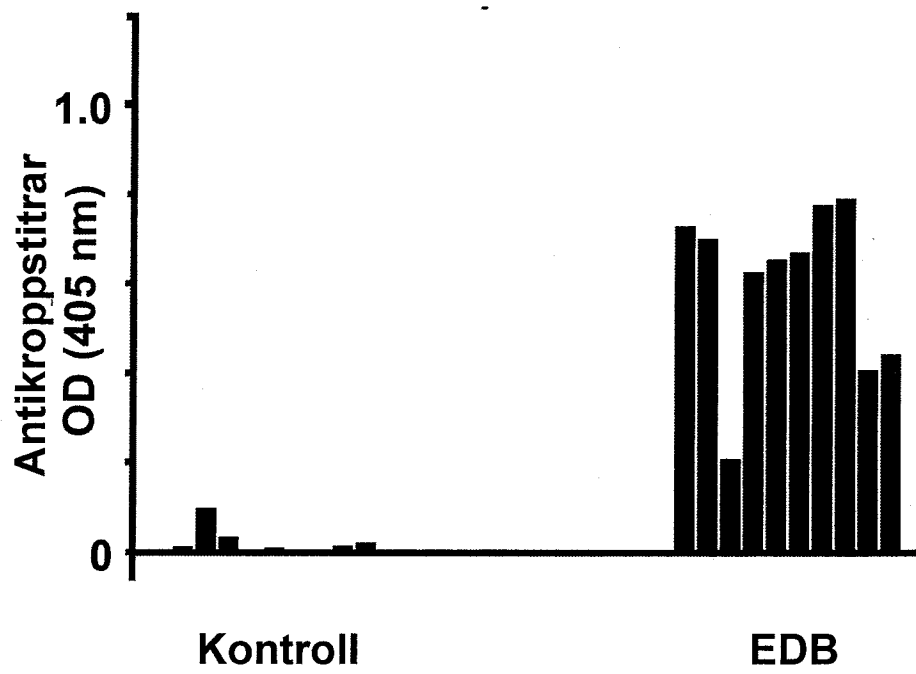
MGSGGDSLLGGRGSLPLLLLLIMGGMAQDSPPQILVHPQDQLFQGGPARMSCQASGOP
PPTIRWLLNGOPLSMVPPDPHLLPDGTLILLQPPARGHAHDGOALSTDLGVYTCEASN
RLGTAVSRGARLSVAVLREDFQIQPRDMVAVVGEQFTLECGPPWGHPEPTVSWWKDGKP
LALQPGRHTVSGGSLLMARAEKSDEGTYMCVATNSAGHRESRAARVSIQEPQDYTEPVE
LLAVRIQLENVTLNPDPAEGPKPRPAVWLSWKVSGPAAPAQSYTALFRTOAPGGOGA
PWAEELLAGWQSAELGGLHWGQDYEFKVRPSSGRARGPDSNVLLRLPEKVPSAPPQEV
TLKPGNGTVFVSWVPPAENHNGIIRGYQVWVSLGNTSLPPANWTVVGEQTQLEIATHMP
GSYCVQVAAVTGAGAGEPSRPVCLLLEQAMERATQEPSEHGPWTLEQLRATLKRPEVIA
TCGVALWLLLLGTAVCIHRRRRARVHLGPGLYRYTSEDAILKHRMDHSDSQWLADTWRS
TSGSRDLSSSSSLSSRLGADARDPLDCRRSLLSWDSRSPGVPLLPDTSTFYGSLIAELP
SSTPARPSPQVPAVRRLLPQLAQLSSPCSSSDSLCSRRGLSSPRLSLAPAEAWKAKKKQ
ELQHANSPLLRRGSHSLELRACELGNRGSKNLSQSPGAVPQALVAWRALGPKLLSSSNE
LVTRHLPPAPLFPHETPPTQSQQTQPPVAPQAPSSILLPAAPIPILSPCSPSPQASSL
SGPSPASSRLSSSSLSLGEDQDSVLTPEEVALCLELSEGEETPRNSVSPMPRAPSPPT
TYGYISVPTASEFTDMGRTGGGVGPKGGVLLCPRPCLTPTPSEGLANGWGSASEDNA
ASARASLVSSSDGSFLADAHFARALAVAVDSFGFGLPREADCVFIDASSPPSPRDEIF
LTPNLSLPLWEWRPDWLEDMEVSHTQRLGRGMPPWPPDSQISSQORSQLHCRMPKAGASP
VDYS

Accession nummer: AAL31867

Figur 2



Figur 3.



Figur 4.

