



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 367 302**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/24** (2006.01) **A61K 39/395** (2006.01)  
**A61K 48/00** (2006.01) **A61K 38/20** (2006.01)  
**A61P 17/02** (2006.01) **C07K 16/28** (2006.01)  
**C12N 15/79** (2006.01) **C07K 14/54** (2006.01)  
**A61P 37/00** (2006.01) **A61K 38/17** (2006.01)  
**A61K 31/7088** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03814312 .9**

96 Fecha de presentación : **18.12.2003**

97 Número de publicación de la solicitud: **1587834**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **26.10.2005**

54

Título: **Usos de la citoquina IL-23 de mamífero; reactivos relacionados.**

30

Prioridad: **23.12.2002 US 436274 P**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**02.11.2011**

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**02.11.2011**

73

Titular/es: **SCHERING CORPORATION**  
**2000 Galloping Hill Road**  
**Kenilworth, New Jersey 07033-0530, US**

72

Inventor/es: **Bowman, Edward, P.;**  
**Chen, Shi-Juan;**  
**Cua, Daniel, J.;**  
**Moore, Kevin, W.;**  
**Churakova, Tatyana;**  
**Nguyen, Hong-Nhung, Y. y**  
**Chan, Jason, R.**

74

Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 367 302 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

Usos de la citoquina IL-23 de mamífero; reactivos relacionados

**Campo de la invención**

5 La presente invención versa, en general, acerca de usos de moléculas similares a la citoquina de mamífero y reactivos relacionados. Más específicamente, la invención versa acerca de la identificación de proteínas similares a la citoquina de mamíferos e inhibidores de las mismas que modulan la cicatrización de la piel o de heridas, por ejemplo, afecciones inflamatorias de la piel.

**Antecedentes de la invención**

10 Las citoquinas son proteínas pequeñas que median la señalización y la comunicación entre células del sistema inmunitario, por ejemplo células T, células B, células dendríticas, y macrófagos. Estas proteínas median un número de actividades celulares, incluyendo la proliferación, el crecimiento, la diferenciación, la migración, la activación celular, y la respuesta a infecciones, antígenos extraños, y heridas.

15 Una familia particularmente importante de citoquinas es la familia de interleucina-6 (IL-6). Estas citoquinas exhiben una amplia gama de funciones biológicas, que a menudo se solapan, que son transmitidas por medio de receptores sobre la superficie celular de múltiples cadenas, que están formados normalmente mediante cadenas receptoras específicas de citoquina de alta afinidad y cadenas transductoras de señales de menor afinidad. A menudo, se comparten las subunidades receptoras entre los miembros de esta subfamilia de citoquinas.

20 Recientemente, se ha identificado una citoquina helicoidal novedosa que tiene una homología estructural con la familia IL-6 de citoquinas. Esta proteína fue designada p19, y se demostró que es parte de un factor compuesto novedoso que consiste en un complejo con un puente disulfuro entre las subunidades p19 y p40 de la IL-12. Este complejo p19p40 novedoso, también conocido como IL-23, es expresado de forma natural por células dendríticas activadas de ratón y de ser humano y tiene actividades biológicas que son similares pero distintas de la IL-12 (véase, por ejemplo, Oppmann et al. (2000) *Immunity* 13:715-725). La subunidad p19 de la IL-23 también es conocida como "IL-23p19".

25 La presente revelación identifica y proporciona IL-23, agonistas de la IL 23, y variantes y derivados de los mismos, como moduladores de trastornos cutáneos, por ejemplo, para ser utilizados en el tratamiento o diagnóstico de afecciones y trastornos cutáneos o en la cicatrización de heridas, véanse, por ejemplo, Fitzpatrick, et al. (eds.) (1993) *Dermatology in General Medicine* 4ª ed., McGraw-Hill, Nueva York, EE. UU.; Bos (ed.) (1989) *Skin Immune System*, CRC Press, Boca Ratón, Florida, EE. UU.; Callen (1996) *General Practice Dermatology*, Appleton and Lange, Norwalk, Connecticut, EE. UU.; Rook, et al. (eds.) (1998) *Textbook of Dermatology*, Blackwell Publ., Malden, Massachusetts, EE. UU.; Habifor y Habie (1995) *Clinical Dermatology: A Color Guide to Diagnosis and Therapy*, Mosby, Filadelfia, Pensilvania, EE. UU.; Grob (ed.) (1997) *Epidemiology, Causes and Prevention of Skin Diseases*, Blackwell, Malden, Massachusetts, EE. UU.; Hess y Salcido (2000) *Wound Care*, Springhouse Pub. Co., Springhouse, Pensilvania, EE. UU.; Mani, et al. (1999) *Chronic Wound Sealing: Clinical Measurement and Basic*, Balliere Tindall Ltd., Londres, Reino Unido; Wyngaarden y Smith (eds.) (1985) *Cecil's Textbook of medicine*, W.B. Saunders Co., Filadelfia, Pensilvania, EE. UU.; Berkow (ed.) (1982) *The Merck Manual of Diagnosis and Therapy*, Merck Sharp & Dohme Research Laboratories, West Point, Pensilvania, EE. UU.; Braunwald, et al. (eds.) (1991) *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 12ª ed., McGraw-Hill, Inc., Nueva York, EE. UU.

30 La presente revelación proporciona procedimientos y reactivos para el tratamiento, la prevención, y el diagnóstico de heridas y de la cicatrización de heridas, por ejemplo, quemaduras, heridas de cartílago, de los nervios y de la médula espinal, de los músculos, de los tejidos blandos, de los vasos sanguíneos, y angiogénesis, úlceras y llagas por decúbito, fracturas óseas y osteoporosis, y para promover el crecimiento cutáneo, por ejemplo, en sitios cosechados o donantes utilizados en un injerto cutáneo (véanse, por ejemplo, Yamaguchi y Yoshikawa (2001) *J. Dermatol.* 28: 521-534; Cairns, et al. (1993) *Arch. Surg.* 128: 1246-1252; Horn, et al. (2002) *Facial Plast. Surg.* 18: 41-52; Hackam y Ford (2002) *Surg. Infect. (Larchmt)* 3(Supl. 1): 523-535; Oshima, et al. (2002) *Hum. Cell.* 15: 118-128; Lal, et al. (2000) *Growth Horm. IGF Res.* 10 (Supl. B): S39-S43; Rose y Hemdon (1997) *Burns* 23: S19-S26; Schryvers, et al. (2000) *Arch. Phys. Med Rehabil.* 81: 1556-1562; Hidaka, et al. (2002) *Orthhop. Clin. North Am.* 33: 439-446; Dagum (1998) *J. Hand Ther.* 11: 111-117; Coutts, et al. (2001) *Clin. Orthop.* 391 (Supl.): S271-S279; Larsson (2002) *Scand J. Surg.* 91: 140-146; Goldstein (2000) *Clin. Orthop.* 379 (Supl.): S113-119; Lieberman, et al. (2002) *Mol. Therapy* 6: 141-147; Tuli, et al. (2003) *Arthritis Res. Ther.* 5: 235-238; Li, et al. (2003) *Microsc. Res. Tech.* 60: 107-114; van Hinsbergh, et al. (2001) 936: 426-437; Conway, et al. (2001) *Cardiovasc. Res.* 49: 507-521). El documento US 6 001 357 describe el uso de anticuerpos anti IL-5 para la cicatrización de heridas.

35 La cicatrización de heridas cutáneas supone un número de fases: inflamación, en primer lugar con una inflamación de neutrófilos y luego de monocitos/macrófagos, la formación de tejido nuevo, incluyendo la formación de matrices y la diferenciación de un neopitelio, y finalmente la remodelación y maduración. La fase inflamatoria inicial permite la formación de coágulos, controla la infección, y promueve la vascularización, y produce factores de crecimiento. Si no

se controla de forma apropiada, la inflamación puede dar lugar a una cicatrización patológica, por ejemplo, úlceras o cicatrices.

Los fibroblastos depositan matriz o tejido provisional de granulación, mientras que la matriz provisional recién formada se degrada más tarde en un procedimiento de remodelación del tejido. La degradación de la matriz extracelular es mediada por proteasas, tales como metaloproteasas de matriz (MMP), gelatinasa, y colagenasa, al igual que inhibidores de la proteasa. Un desequilibrio en la formación de la matriz y la degradación da lugar, en un extremo, a úlceras crónicas y, en el otro extremo, a fibrosis. Por ejemplo, los queloides, una “respuesta de sobrecicatrización”, son hipertrofias de tejido fibroso (Michalik, et al. (2001) *J. Cell Biol.* 154: 799-814; Okada, et al. (1997) *J. Cell Biol.* 137: 67-77; Fedyk, et al. (2001) *J. Immunol.* 166: 5749-5755; Ravanti y Kahari (2000) *Int. J. Mol. Med.* 6: 391-407; Peled, et al. (2000) *Clin. Past. Surg.* 27: 489-500).

La formación de matrices y la reepitelialización dependen de la angiogénesis (Montesinos, et al. (1997) *J. Exp. Med.* 186: 1615-1620; Malinda, et al. (1998) *J. Immunol.* 160: 1001-1006).

Los factores de crecimiento utilizados en la cicatrización de heridas inducen la expresión de factores antimicrobianos, por ejemplo, defensinas, catelicidinas, inhibidor de la proteasa secretora, y lipocalina asociada a la gelatinasa (de neutrófilos) (Sorensen, et al. (2003) *J. Immunol.* 170: 5583-5589).

En la cicatrización de heridas, las células tales como plaquetas, monocitos/macrófagos, células T, y otras células inmunitarias, infiltran la herida y producen factores que regulan el crecimiento del tejido. Estos factores incluyen TGF, factor de necrosis tumoral (TNF), IL-1, IL-4, IL-6, oncostatina M, GRO-alfa, diversos factores angiogénicos, y quimioquinas. A su vez, estos factores estimulan, la expresión, por ejemplo, de la matriz extracelular y el inhibidor de tejido de metaloproteasas (TIMP). (Ihn y Tamaki (2000) *J. Immunol.* 165: 2149-2155; Feugate, et al. (2002) *J. Cell Biol.* 156: 161-172). Los miofibroblastos, células que son fibrogénicas, son importantes para el cierre y la contracción de las heridas. Los estados de enfermedad caracterizados por la acumulación de miofibroblastos incluyen la fibrosis pulmonar y la escleroderma (Feugate, et al. (2002) *J. Cell Biol.* 156: 161-172).

La cicatrización de heridas de la piel y otros tejidos es un procedimiento complejo que supone la proliferación y migración de células inmunitarias, células endoteliales, fibroblastos, células estromales, miofibroblastos, células de músculo liso, pericitos, y queratinocitos.

Los parámetros utilizados para medir la cicatrización incluyen la tasa de cicatrización, la resistencia a la fractura de las heridas cicatrizadas, el grado de epitelialización, el espesor del tejido de granulación, y la densidad de la matriz extracelular (Matsuda, et al. (1998) *J. Exp. Med.* 187: 297-306).

La isquemia o la reperusión de la isquemia, según se producen por una lesión traumática y “descarga muscular” (reposo crónico en cama), tienen como resultado una infiltración de neutrófilos, en la que los neutrófilos producen a menudo un mayor daño tisular que el daño causado por la isquemia. En coherencia con este efecto adverso de los neutrófilos sobre la cicatrización es que la administración de antagonistas de la citoquina, incluyendo los antagonistas la IL-1 o el TNF, también puede mejorar la cicatrización de heridas bajo ciertas condiciones, incluso cuando se requiere la citoquina en última instancia para una reparación normal (véanse, por ejemplo, Ley (2003) *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Compo Physiol.* 285: R718-R719; Graves, et al. (2001) *J. Immunol.* 167: 5316-5320). La presente invención proporciona procedimientos que utilizan un antagonista de la IL-23 para inhibir una lesión tisular inducida por neutrófilos, por ejemplo, después de un trauma, de la inflicción de una herida, o un reposo prolongado en cama.

Una cicatrización incorrecta de heridas, por ejemplo, de heridas cutáneas, puede tener como resultado una molestia o desfiguración crónica, y puede dar lugar a complicaciones adicionales, por ejemplo, infecciones o deshidratación. Por lo tanto, existe una necesidad de un tratamiento eficaz, tanto profiláctico como curativo, para aliviar los síntomas de esas afecciones. De forma alternativa, serán útiles los procedimientos de diagnóstico, por ejemplo, de cicatrización anormal o modificada de esos tejidos. La presente invención proporciona ambos.

#### **Resumen de la invención**

La presente invención está basada, en parte, en el descubrimiento de que una proteína de fusión de IL-23, por ejemplo, una proteína de fusión que comprende la subunidad p19 enlazada a la subunidad p40, mejoró la respuesta a una cicatrización de heridas en diversos modelos de ratón.

La presente revelación incluye aspectos y realizaciones de la invención, que son como se define en las reivindicaciones adjuntas.

En consecuencia, en un primer aspecto, la invención proporciona el uso de un agonista de la IL-23 en la preparación de un medicamento para tratar una herida o mejorar la cicatrización de heridas, en el que el agonista comprende: a. IL-23; b. una proteína de fusión de IL-23; o c. un anticuerpo o composición de unión que comprende la ubicación de unión al antígeno de un anticuerpo que se une específicamente a la IL-23 o al IL-23R. En un aspecto adicional, la invención proporciona el uso de un ácido nucleico que codifica un agonista de la IL-23 en la preparación de un

medicamento para tratar una herida o mejorar la cicatrización de heridas, en el que el agonista comprende: a. IL-23; b. una proteína de fusión de IL-23; o c. un anticuerpo o composición de unión que comprende la ubicación de unión al antígeno de un anticuerpo que se une específicamente a la IL-23 o al IL-23R. En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un agonista de la IL-23 en la preparación de un medicamento para aumentar la angiogénesis, en el que el agonista comprende: a. IL-23; b. una proteína de fusión de IL-23; o c. un anticuerpo o composición de unión que comprende la ubicación de unión al antígeno de un anticuerpo que se une específicamente a la IL-23 o al IL-23R. En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un ácido nucleico que codifica un agonista de la IL-23 en la preparación de un medicamento para aumentar la angiogénesis, en el que el agonista comprende: a. IL-23; b. una proteína de fusión de IL-23; o c. un anticuerpo o composición de unión que comprende la ubicación de unión al antígeno de un anticuerpo que se une específicamente a la IL-23 o al IL-23R. La invención también proporciona agonistas de la IL-23 para ser utilizados en el tratamiento de heridas o para aumentar la angiogénesis, como se define en las reivindicaciones adjuntas.

La revelación proporciona un procedimiento de tratamiento de la cicatrización, o para mejorar la misma, que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de un agonista o antagonista de la IL-23. También se da a conocer el anterior procedimiento, en el que el agonista o antagonista comprende un polipéptido de la IL-23, o un derivado o variante del mismo; una composición de unión derivada de un anticuerpo que se une específicamente a la IL-23 o al IL-23R; o un ácido nucleico que codifica un polipéptido de la IL-23, o un derivado o variante del mismo. Además, la revelación proporciona el anterior procedimiento en el que el derivado o variante comprende una hipercina IL-23; en el que el agonista comprende un complejo de una secuencia madura de ID de SEC nº: 10; y una secuencia madura de ID de SEC nº: 12; o el anterior procedimiento en el que el ácido nucleico comprende, además, un vector de expresión.

En otro aspecto, la revelación proporciona un procedimiento para el tratamiento de la cicatrización, o para mejorar la misma, que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de un agonista o antagonista de la IL-23, en el que la cicatrización es de una herida cutánea o de la piel; de una úlcera o de un injerto; o es una cicatrización incorrecta. También se proporciona el anterior procedimiento en el que el tratamiento o la mejora aumentan una presión requerida para romper una herida cicatrizada o en proceso de cicatrización; una rigidez de una herida cicatrizada o en proceso de cicatrización; una tasa de cicatrización de una herida; un espesor de una capa de granulación de una herida cicatrizada o en proceso de cicatrización; un reclutamiento de una célula para una herida o hacia la misma, o una actividad antimicrobiana. En otro aspecto más, la revelación proporciona el anterior procedimiento en el que la célula es una célula CD11b<sup>+</sup> del MHC de clase II<sup>+</sup>; un monocito/macrófago; una célula endotelial CD31<sup>+</sup>; o una célula inmunitaria. También se da a conocer el anterior procedimiento, en el que el reclutamiento es en un tejido de granulación, o hacia el mismo, en el que la presión aumentada de la rotura de la herida es aproximadamente un aumento de un 15% o aproximadamente un 20% de la presión de la rotura de la herida; o la mayor rigidez tiene un aumento de rigidez de aproximadamente un 15% o aproximadamente un 20%. En otro caso, la presente revelación proporciona el anterior procedimiento en el que el tratamiento o la mejora comprenden una mayor angiogénesis; o vigilancia inmunitaria; o el anterior procedimiento en el que la mayor angiogénesis está mediada por ICAM-1 o -2; o la mayor vigilancia inmunitaria está mediada por células dendríticas.

Otro aspecto más de la presente revelación proporciona un procedimiento para el tratamiento de la cicatrización, o para mejorar la misma, que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de un agonista o antagonista de la IL-23, en el que el tratamiento o la mejora comprende una mayor expresión de un ácido nucleico o de proteína de una citoquina además de la IL-23; una molécula de señalización; una molécula antimicrobiana; una proteasa o un inhibidor de la proteasa, o una molécula de la matriz extracelular; o el anterior procedimiento en el que el ácido nucleico o proteína de la citoquina es IL-17, IL-6, GRO-alfa, o GM-CSF; o en el que el ácido nucleico o proteína es lactoferrina; DEC-205; CD50; óxido nítrico sintasa; o inhibidor de la leucoproteasa secretora, o CD40L.

También se da a conocer el anterior procedimiento, en el que el antagonista comprende un ácido nucleico; un anticuerpo de bloqueo de la IL-23 o el IL-23R; o un receptor soluble derivado de una parte extracelular del IL-23R; el anterior procedimiento en el que el ácido nucleico comprende un ácido nucleico antisentido; o ARN de interferencia.

Otro aspecto más de la presente revelación proporciona un agonista de la IL-23 derivado de la ubicación de unión de un anticuerpo que se une específicamente a un receptor de la IL-23, siendo el anterior agonista un anticuerpo policlonal; un anticuerpo monoclonal; un fragmento Fab, Fv, o F(ab')<sub>2</sub> humanizado; un péptido mimético o etiquetado de forma detectable. En otra realización, la presente revelación proporciona el anterior agonista que comprende un complejo de un polipéptido de la secuencia madura de la ID de SEC nº: 10 y un polipéptido de la secuencia madura de la ID de SEC nº: 12; comprendiendo el anterior agonista un complejo de dos polipéptidos de la secuencia madura de la ID de SEC nº: 10 y dos polipéptidos de la secuencia madura de la ID de SEC nº: 12. Además, la revelación proporciona el anterior agonista en el que el contacto del agonista con una célula que expresa hIL-23R e hIL-12beta1 tiene como resultado un aumento en la proliferación de la célula. También se da a conocer un *kit* que comprende el anterior agonista y un compartimento; o instrucciones para su uso o desecho. También se da a conocer un ácido nucleico que codifica un agonista de la IL-23 derivado de la ubicación de unión de un anticuerpo que se une específicamente a un receptor de la IL-23. Los agonistas, o ácidos nucleicos, de la revelación pueden ser utilizados en la invención en la medida en que está abarcada por las reivindicaciones adjuntas.

### **Descripción detallada de las realizaciones preferentes**

Según se utilizan en el presente documento, incluyendo las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares de las palabras tales como “un”, “una” y “el”, “la” incluyen sus referencias plurales correspondientes a no ser que el contexto dicte claramente lo contrario.

#### 5 I. General.

La interleucina-23 (IL-23) es una citoquina heterodimérica compuesta de una subunidad p19 novedosa (también conocida como IL-B30) y la subunidad p40 de la IL-12 (Oppann, *et al., supra*). La subunidad p19 fue identificada durante una búsqueda por cálculo de miembros de la familia IL-6 de citoquinas helicoidales caracterizada por su haz único de cuatro hélices- $\alpha$ . Un análisis genético de la familia, de la que son miembros la oncostatina-M, la IL-11, la cardiotrofina-1, y el factor inhibidor de la leucemia, muestra que el vecino evolutivo más cercano de p19 es la subunidad p35 de la IL-12. Al igual que p35, p19 requiere la expresión conjunta de p40 para una actividad biológica (Wiekowski, *et al.* (2001) *J. Immunol.* 166: 7563-7570). El receptor de la IL-23 (IL-23R) comprende una subunidad receptora novedosa (IL-23R), que une p19, e IL-12R $\beta$ 1, que une p40 (Parham, *et al.* (2002) *J. Immunol.* 168: 5699-5708). Estas dos subunidades receptoras forman el complejo de señalización funcional y son expresados en células T CD4<sup>+</sup>CD45Rb<sup>lo</sup> de memoria al igual que macrófagos de médula ósea activados por interferón-gamma (IFN $\gamma$ ) (Parham, *et al., supra*).

La caracterización preliminar de la IL-23 sugiere que tiene efectos potentes sobre las células T de memoria tanto de seres humanos como de ratones, según son medidos por la proliferación y la producción de IFN $\gamma$ . En coherencia con las propiedades inmunoestimuladoras de la IL-23, los ratones en los que las células hematopoyéticas expresan de forma constitutiva p19 transgénica tienen una inflamación generalizada de múltiples órganos que tiene como resultado la muerte prematura (Wiekowski, *et al., supra*). La enfermedad inflamatoria se caracteriza por una infiltración intensa de macrófagos, neutrofilia, y niveles elevados de monoquinas proinflamatorias tales como IL- y TNF, lo que sugiere que la IL-23 también puede actuar sobre células mieloides.

Estudios recientes que analizan la necesidad de la IL-12 en la resistencia a enfermedades infecciosas han producido resultados divergentes, dependiendo de si se utilizan ratones p35<sup>-/-</sup> o p40<sup>-/-</sup>. Aquellos, que carecen específicamente de la IL-12 pero expresan la IL-23, son resistentes a las infecciones, mientras que estos, incapaces de expresar tanto la IL-12 como la IL-23, son más susceptibles.

Los ratones transgénicos con falta de la subunidad p19 de la IL-23 (IL-23p19) fueron resistentes a EAE, una enfermedad autoinmune del SNC mediada por células TH1 y por macrófagos inflamatorios, mientras que los ratones de control de tipo salvaje y heterocigotos de p19 fueron altamente susceptibles. Los ratones con falta de la subunidad p40 de la IL-12 (ratones con falta de IL-12p40) también fueron resistentes a EAE, mientras que los ratones con falta de la subunidad p35 de la IL-12 (ratones con falta de IL-12p35) fueron muy susceptibles a EAE. Esto es indicativo de un papel de la IL-23 en la inducción de la EAE.

Los ratones con falta de p19 tuvieron una respuesta alterada notable de cicatrización de las heridas después de una inyección subcutánea de una emulsión de aceite en los ratones. Los ratones con falta de p19 también eran deficientes en una variedad de modelos de enfermedades de ratones que requerían una activación de los monocitos/macrófagos. Se conoce que los monocitos/macrófagos estimulan la reparación de heridas; véase, por ejemplo, Schaffer y Nanney (1996) *Intl. Rev. Cytol* 169: 151-181. En particular, a continuación se muestra que la administración de polipéptido de IL-23 en la piel del ratón podría atraer poblaciones de CD11b<sup>+</sup>/Clase II<sup>+</sup> activadas por monocitos/macrófagos.

#### II. Definiciones.

“Agonista de la IL-23” e “IL-23 agonista” abarcan un anticuerpo agonístico que se une específicamente al receptor de la IL-23 (IL-23R) y aumenta las propiedades de señalización del IL-23R. Agonista de la IL-23 también abarca un anticuerpo agonístico que se une específicamente al complejo de IL-23R e IL-Rbeta 1.

45 Un “anticuerpo de bloqueo” abarca, por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a la IL-23 y evita o reduce una señalización mediada por la IL-23 y el IL-23R. Un anticuerpo de bloqueo también abarca un anticuerpo que se une específicamente al IL-23R y evita o reduce la señalización mediada por el IL-23R, o mediada por la IL-23 y el IL-23R.

50 “Variantes modificadas de forma conservadora” es aplicable tanto a secuencias de aminoácidos como de ácidos nucleicos. Con respecto a secuencias particulares de ácidos nucleicos, las variantes modificadas de forma conservadora hacen referencia a aquellos ácidos nucleicos que codifican secuencias idénticas o esencialmente idénticas de aminoácidos, o en las que el ácido nucleico no codifica una secuencia de aminoácido a secuencias esencialmente idénticas de ácido nucleico. Debido a la degeneración del código genético, un gran número de ácidos nucleicos funcionalmente idénticos pueden codificar cualquier proteína dada.

En cuando a secuencias de aminoácidos, un experto reconocerá que una sustitución individual a una secuencia de ácido nucleico, de péptido, de polipéptido, o de proteína que sustituye un aminoácido o un pequeño porcentaje de aminoácidos en la secuencia codificada para un aminoácido conservado es una “variante modificada de forma conservadora”. Las tablas de sustitución conservadora que proporcionan aminoácidos funcionalmente similares son bien conocidas en la técnica. Un ejemplo de una sustitución conservadora es el intercambio de un aminoácido en uno de los siguientes grupos por otro aminoácido del mismo grupo (patente U.S. nº 5.767.063 expedida a Lee, et al.; Kyte y Doolittle (1982) *J. Mol. Biol.* 157: 105-132):

- (1) Hidrófobo: Norleucina, Ile, Val, Leu, Phe, Cys, o Met;
- (2) Hidrófilo neutral: Cys, Ser, Thr;
- (3) Acídico: Asp, Glu;
- (4) Básico: Asn, Gln, His, Lys, Arg;
- (5) Residuos que influyen la orientación de la cadena: Gly, Pro;
- (6) Aromático: Trp, Tyr, Phe;
- (7) Aminoácidos pequeños: Gly, Ala, Ser.

La expresión “cantidad eficaz” significa una cantidad suficiente para mejorar un síntoma o signo de la afección médica. Los anfitriones mamíferos típicos incluyen ratones, ratas, gatos, perros y primates, incluyendo seres humanos. Una cantidad eficaz para un paciente particular puede variar dependiendo de factores tales como la afección que está siendo tratada, la salud general del paciente, la vía de administración y la dosis de administración y la gravedad de los efectos secundarios. Cuando está en combinación, una cantidad eficaz se encuentra en una relación con una combinación de componentes y el efecto no está limitado únicamente a componentes individuales.

Un “punto final” para evaluar o diagnosticar una cicatrización mejorada, por ejemplo, una cicatrización de heridas, incluye, sin limitación: una presión de rotura de la herida; rigidez, blandura; vigilancia inmunitaria; angiogénesis; actividad antimicrobiana relacionada con la herida; inflamación, por ejemplo, por neutrófilos, grado de expresión de genes o polipéptidos indicativa de la inflamación, angiogénesis, reepitelialización, acción antimicrobiana, y remodelación, por ejemplo, formación de matriz, descomposición de matriz o de granulación.

Como se determina mediante un punto final adecuado, la presente invención proporciona un procedimiento para mejorar la cicatrización un 10% o más, más generalmente un 15% o más, lo más generalmente un 20% o más, típicamente un 25% o más, más típicamente un 30% o más, lo más típicamente un 35% o más, habitualmente un 40% o más, más habitualmente un 50% o más, lo más habitualmente un 60% o más, normalmente un 70% o más, más normalmente un 80% o más, lo más normalmente un 90% o más, idealmente un 100% (es decir, el doble) o más, más idealmente cuatro veces o más, y lo más idealmente ocho veces o más. Según se determina mediante un punto final adecuado, la presente invención también proporciona un procedimiento para mejorar la cicatrización aproximadamente un 10%, más generalmente aproximadamente un 15%, lo más generalmente aproximadamente un 20%, típicamente aproximadamente un 25%, más típicamente aproximadamente un 30%, lo más típicamente aproximadamente un 35%, habitualmente aproximadamente un 40%, más habitualmente aproximadamente un 50%, lo más habitualmente aproximadamente un 60%, normalmente aproximadamente un 70%, más normalmente aproximadamente un 80%, lo más normalmente aproximadamente un 90%, idealmente aproximadamente un 100% (es decir, el doble), más idealmente aproximadamente cuatro veces, y lo más idealmente aproximadamente ocho veces.

“Cicatrización incorrecta de heridas” abarca la ausencia o una progresión anormalmente lenta de la cicatrización de una herida, por ejemplo, una reepitelialización retrasada. Se puede encontrar una cicatrización incorrecta de heridas, por ejemplo, en úlceras y abscesos diabéticos, úlceras por decúbito, heridas infectadas, quemaduras, edad avanzada, perfusión inadecuada, y obesidad. Cicatrización incorrecta de heridas también abarca lesiones que dejan cicatrices o que son persistentes a infecciones, véanse, por ejemplo, Singer y Clark (1999) *New Engl. J. Med.* 341: 738-746; Calhoun, et al. (2002) *Adv. Skin Wound Care* 15: 31-45; Rico, et al. (2002) *J. Surg. Res.* 102: 193-197; Thomas (2001) *Cleve. Clin. J. Med.* 68: 704-722; Ashcroft et al. (2002) *Biogerontology* 3: 337-345; Thomason (1999) *Home Care Provid.* 4: 156-161; Gallagher (1997) *Ostomy. Wound Manage.* 43: 18-27.

Los parámetros y puntos finales utilizados para evaluar la cicatrización de las heridas y la respuesta a agentes terapéuticos, farmacológicos y diagnósticos, incluyen un número de parámetros histológicos, fisiológicos y bioquímicos, por ejemplo, infiltración, activación, o diferenciación de neutrófilos, monocitos y macrófagos, por ejemplo, diferenciación de monocitos con respecto a macrófagos reparativos, y aparición de nuevos estromas, vasos sanguíneos, y nervios. Los parámetros adecuados también incluyen niveles de expresión de agentes de señalización, por ejemplo, factor de crecimiento de transformación, interleucina-1, y factor de crecimiento similar a la insulina. Mediciones de la epitelialización, por ejemplo, tasa y espesor, migración de las células epidérmicas, espesor de granulación, degradación y maduración de la matriz extracelular, por ejemplo, también son parámetros

adecuados la matriz provisional en función de la matriz colagenosa, la resistencia de la herida (resistencia a la rotura), y la tasa de proliferación de fibroblastos, y el fenotipo de los mismos. Un mayor espesor de tejido de granulación puede tener como resultado heridas cicatrizadas más resistentes (véanse, por ejemplo, Singer y Clark, *supra*, Werner y Grose (2002) *Physiol. Rev.* 83: 835-870; Matsuda, et al. (1998) *J. Exp. Med.* 187: 297-306; Wankell, et al. (2001) *EMBO J.* 20: 5361-5372).

Una composición que está “etiquetada” es detectable bien de forma directa o bien de forma indirecta, por ejemplo, mediante procedimientos espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, metabólicos, inmunoquímicos, isotópicos, o químicos. Por ejemplo, las etiquetas útiles incluyen identificadores de epítipo, flouretos,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{33}\text{P}$ ,  $^{15}\text{S}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{125}\text{I}$ , isótopos estables, compuestos fluorescentes, reactivos densos en electrones, sustratos, o enzimas, por ejemplo, según se utilizan en inmunoanálisis ligados al complejo enzima-sustrato, véanse, por ejemplo, Invitrogen (2002) Catalogue, Carlsbad, California, EE. UU.; Molecular Probes (2002) Catalogue, Molecular Probes, Eugene, Oregon, EE. UU.; Rozinov y Nolan (1998) *Chem. Biol.* 5: 713-728.

Un aumento en la “actividad antimicrobiana” abarca un aumento de la expresión, concentración, o nivel de un mediador de la actividad antimicrobiana, tanto en presencia como en ausencia de una reducción demostrada de la actividad biológica, concentración, población, o número de microbios en contacto con un sujeto o anfitrión animal o ser humano. El mediador de la actividad antimicrobiana puede ser, por ejemplo, una célula inmunitaria sensible a un antígeno bacteriano, viral, fúngico, o protozario, o parasitario, o una molécula antimicrobiana, tal como una defensina. “Actividad antimicrobiana” abarca, por ejemplo, la fagocitosis y cualquier actividad que esté asociada generalmente o normalmente con la fagocitosis, por ejemplo, exposición de un microbio a oxígeno tóxico. “Actividad antimicrobiana” también abarca un cambio en la expresión, concentración, o nivel de un gen, una célula, una proteína, o una molécula pequeña que está asociado generalmente o normalmente con una acción antimicrobiana, por ejemplo, un aumento en la expresión de un gen en los neutrófilos. “Actividad antimicrobiana” no está limitada a un aumento en la expresión, es decir, también abarca una reducción en la expresión, cuando esa reducción promueve una actividad antimicrobiana.

La “proliferación” o “tasa de proliferación” puede ser medida, por ejemplo, al evaluar el aumento del número de células durante un periodo o intervalo predeterminado de tiempo, o por el número o proporción de células en la fase S en cualquier punto dado de tiempo.

### III. Agonistas y antagonistas.

La presente revelación proporciona procedimientos de uso de agonistas de la IL-23, incluyendo la proteína de citoquina de longitud completa (ID de SEC nº: 2 o 4). También se proporciona una proteína de fusión, también conocida como “hipercina IL-23” (ID de SEC nº: 6 u 8), que comprende p19 enlazada a p40 con una secuencia de BANDERA como se ha descrito para la IL-6 de la misma, por ejemplo, en Oppmann, *et al.*, *supra*; Fischer, et al. (1997) *Nature Biotechnol.* 15:142-145; Rakemann, et al. (1999) *J. Biol. Chem.* 274:1257-1266; y Peters, et al. (1998) *J. Immunol.* 161: 3575-3581. La revelación también proporciona anticuerpos agonísticos anti-IL-23R que son agonísticos al receptor de la IL-23, por ejemplo, anticuerpos que estimulan el receptor de la IL-23 en ausencia o presencia de la IL-23.

Se utilizarán los péptidos de esas secuencias, o variantes de las mismas, para inducir una señalización del receptor. La presente revelación también contempla moléculas pequeñas que también inducen una señalización del receptor. Los agonistas de la presente revelación serán útiles en el tratamiento de diversos trastornos cutáneos inflamatorios, incluyendo pero sin limitación, la cicatrización de heridas, trastornos cutáneos asociados con un reclutamiento reducido de células mieloides/monocitos.

También se dan a conocer en el presente documento antagonistas de la IL-23, por ejemplo, un anticuerpo de bloqueo que se une a la IL-23, un anticuerpo de bloqueo que se une al IL-23R, un receptor soluble basado en la porción extracelular del IL-23R, y ácidos nucleicos. Los antagonistas de la IL-23 de la presente revelación abarcan los ácidos nucleicos que son ácidos nucleicos antisentido y ácidos nucleicos de interferencia del ARN (véanse, por ejemplo, Arenz y Schepers (2003) *Naturwissenschaften* 90: 345-359; Sazani y Kole (2003) *J. Clin. Invest.* 112: 481-486; Pirollo, et al. (2003) *Pharmacol. Therapeutics* 99: 55-77; Wang, et al. (2003) *Antisense Nucl. Acid Drug Devel.* 13: 169-189).

### III. Anticuerpos y reactivos relacionados.

Se dan a conocer los anticuerpos y composiciones de unión derivadas de una ubicación de unión al antígeno de un anticuerpo. Estos incluyen anticuerpos humanizados, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, y fragmentos de unión, tales como fragmentos Fab, F(ab)<sub>2</sub> y Fv, y versiones diseñadas de los mismos. El anticuerpo o composición de unión puede ser agonístico o antagonístico. Se contemplan los anticuerpos que se unen de forma simultánea a un ligando y a un receptor. Los anticuerpos monoclonales se unirán normalmente con al menos un K<sub>D</sub> de aproximadamente 1 mM, más normalmente al menos aproximadamente 300 μM, típicamente al menos aproximadamente 100 μM, más típicamente al menos aproximadamente 30 μM, preferentemente al menos aproximadamente 10 μM, y más preferentemente al menos aproximadamente 3 μM o mejor.

Se pueden preparar anticuerpos monoclonales, policlonales y humanizados. Véanse, por ejemplo, Sheperd y Dean (eds.) (2000) *Monoclonal Antibodies*, Oxford Univ. Press, Nueva York, Nueva York, EE. UU.; Kontermann y Dubel (eds.) (2001) *Antibody Engineering*, Springer-Verlag, Nueva York, EE. UU.; Harlow y Lane (1998) *Antibodies A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, EE. UU., pp. 139-243; Carpenter, et al. (2000) *J. Immunol.* 165: 6205; He, et al. (1998) *J. Immunol.* 160: 1029; Tang, et al. (1999) *J. Biol. Chem.* 274: 27371-27378).

Se describen anticuerpos de cadena única, anticuerpos de dominio único y anticuerpos biespecíficos. Véanse, por ejemplo, Malecki, et al. (2002) *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 99: 213-218; Conrath, et al. (2001) *J. Biol. Chem.* 276: 7346-7350; Desmyter, et al. (2001) *J. Biol. Chem.* 276: 26285-26290; Kostelney, et al. (1992) *J. Immunol.* 148: 1547-1553; patentes U.S. n<sup>os</sup> 5.932.448; 5.532.210; 6.129.914; 6.133.426; 4.946.778.

La invención también abarca composiciones desamidadas de unión, por ejemplo, anticuerpos, y procedimientos para utilizar composiciones desamidadas de unión (véanse, por ejemplo, Zhang y Czupryn (2003) *J. Pharm. Biomed. Anal.* 30: 1479-1490; Perkins, et al. (2000) *Pharm. Res.* 17: 1110-1117; Lehrman, et al. (1992) *J. Protein Chem.* 11: 657-663).

Los fragmentos de antígeno pueden estar unidos a otros materiales, tales como polipéptidos fusionados o unidos de forma covalente, para ser utilizados como inmunógenos. Un antígeno y sus fragmentos pueden ser fusionados o enlazados de forma covalente a una variedad de inmunógenos, tal como hemocianina de lapa californiana, albúmina de suero bovino, u ovalbúmina (Goligan, et al. (1994) *Current Protocols in Immunol.*, Vol. 2, 9:3-9:4, John Wiley and Sons, Nueva York, Nueva York, EE. UU.). Los péptidos de antigenicidad adecuada pueden ser seleccionados del polipéptido objetivo, utilizando un algoritmo, tal como los de Parker, et al. (1986) *Biochemistry* 25: 5425-5432; Welling, et al. (1985) *FEBS Lett.* 188: 215-218; Jameson y Wolf (1988) *Cabios* 4: 181-186; o Hopp y Woods (1983) *Mol. Immunol.* 20: 483-489.

No es necesaria la purificación del antígeno para la generación de anticuerpos. La vacunación puede llevarse a cabo mediante una vacunación con vectores de ADN. Véase, por ejemplo, Wang, et al. (1997) *Virology* 228: 278-284. De forma alternativa, se pueden vacunar los animales con células que portan el antígeno de interés. Entonces, se pueden aislar los esplenocitos de los animales vacunados, y se puede fusionar los esplenocitos con una línea celular de mieloma para producir un hibridoma. Se pueden investigar los hibridomas resultantes en busca de la producción del anticuerpo deseado mediante análisis funcionales o análisis biológicos, es decir, análisis que no dependen de la posesión del antígeno purificado. La vacunación con células puede demostrar que es superior para la generación de anticuerpos que la vacunación con antígeno purificado (Meygaard, et al. (1997) *Immunity* 7: 283-290; Wright, et al. (2000) *Immunity* 13: 233-242; Preston, et al. (1997) *Eur. J. Immunol.* 27: 1911-1918; Kaithamana, et al. (1999) *J. Immunol.* 163: 5157-5164).

Se puede medir la afinidad de anticuerpos, es decir, las propiedades de unión del anticuerpo al antígeno, por ejemplo, mediante resonancia de plasmón de superficie o análisis por absorción ligada al complejo enzima-sustrato (ELISA) (véanse, por ejemplo, Maynard y Georgiou (2000) *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2: 330-376; Karlsson, et al. (1991) *J. Immunol. Methods* 145: 229-240; Neri, et al. (1997) *Nat. Biotechnol.* 15: 1271-1275; Jonsson, et al. (1991) *Biotechniques* 11: 620-627; Friguet, et al. (1985) *J. Immunol. Methods* 77: 305-319; Hubble (1997) *Immunol. Today* 18: 305-306).

Los anticuerpos de la presente revelación se unirán normalmente con al menos un  $K_D$  de aproximadamente  $10^{-3}$  M, más normalmente de al menos  $10^{-6}$  M, típicamente al menos  $10^{-7}$  M, más típicamente de al menos  $10^{-8}$  M, preferentemente al menos aproximadamente  $10^{-9}$  M, y más preferentemente al menos  $10^{-10}$  M, y lo más preferentemente al menos  $10^{-11}$  M (véanse, por ejemplo, Presta, et al. (2001) *Thromb. Haemost.* 85: 379-389; Yang, et al. (2001) *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 38: 17-23; Camahan, et al. (2003) *Clin. Cancer Res. (Supl.)* 9: 3982s-3990s; Wilchek, et al. (1984) *Meth. Enzymol.* 104: 3-55).

Los anticuerpos del IL-23R, teniendo el anticuerpo anti-IL-23R sustancialmente la misma secuencia de ácido nucleico y de aminoácido que las enumeradas en el presente documento, pero que posee sustituciones que no afectan sustancialmente a los aspectos funcionales de la secuencia de ácido nucleico o de aminoácido, se encuentran dentro de la definición de la revelación. Las variantes con truncamientos, deleciones, adiciones, y sustituciones de regiones que no cambian sustancialmente las funciones biológicas de estos ácidos nucleicos y polipéptidos también se encuentran dentro de la definición de la revelación.

Un anticuerpo humanizado abarca un anticuerpo de un ser humano, un fragmento de anticuerpo, un anticuerpo de cadena única, y similares, que tiene uno o más residuos de aminoácido introducidos en el mismo procedentes de una fuente que no es humana (anticuerpo de importación). Los aminoácidos utilizados para el injerto pueden comprender todo el dominio variable de la fuente, una o más de las regiones de determinación complementaria (CDR) de la fuente, o las seis CDR del anticuerpo fuente. Al injertar las regiones de aminoácidos o de polipéptidos de importación en el anticuerpo anfitrión, se eliminan generalmente los aminoácidos o regiones correspondientes del anticuerpo anfitrión. Un anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente todos estos, y normalmente dos dominios variables (Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fabc, Fv) en los que todas, o sustancialmente todas, las regiones CDR se corresponden con las de una inmunoglobulina no humana y todas, o sustancialmente todas, las regiones de



entramado son aquellas de una secuencia de consenso de inmunoglobulina humana. Las regiones de entramado y las CDR están sumamente conservadas en secuencia y conformación y pueden predecirse de forma precisa, por ejemplo, para ser utilizadas en CDR de injerto en un aceptor de entramado de anticuerpo humano. Las regiones CDR pueden ser injertadas en un entramado aceptor humano que se encuentra de forma natural, o en un entramado de consenso derivado de muchos anticuerpos humanos. Se han identificado un número de secuencias de consenso de ligeras variables (VL) y pesadas variables (VH) humanas. Para la humanización, se puede comparar una cadena del anticuerpo de ratón con las cadenas disponibles del entramado humano, en las que se escoge la cadena humana de homología más cercana para ser injertada (véanse, por ejemplo, Maynard y Georgiou, *supra*; Li, et al. (2002) *Immunol. Revs.* 190: 53-68; Co, et al. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 2869-2873; Sims, et al. (1993) *J. Immunol.* 151: 2296-2308; Sato, et al. (1994) *Mol. Immunol.* 31:371-381; Morea, et al. (2000) *Methods* 20: 267-279; Kabat et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*. 5ª ed., vol. 4, U.S. Department of Health Human Services, NIH, EE. UU.; patente U.S. nº 6.538.111, expedida a Koike, et al.; patente U.S. nº 6.329.511, expedida a Vasquez, et al.).

El anticuerpo humanizado de la presente revelación también abarca sustituciones, deleciones, y/o inserciones, utilizando técnicas estándar de mutagénesis dirigida a sitios, por ejemplo, las utilizadas para un barrido de alaninas, véanse, por ejemplo, Jin y Wells (1994) *Protein Sci.* 3: 2351-2357; Cunningham y Wells (1997) *Curr. Opin. Struct. Biol.* 7: 457-462; Jones, et al. (1998) *J. Biol. Chem.* 273: 11667-11674; patente U.S. nº 4.816.567 expedida a Cabilly, et al.

Las realizaciones de la presente revelación abarcan proteínas de fusión, identificadores de purificación e identificadores de epítipo, en un N-terminal, en un C-terminal, o en posiciones en el polipéptido, por ejemplo, el identificador de BANDERA y la proteína de fusión GSH-S transferasa. Los cambios de aminoácido pueden alterar, añadir, o eliminar procedimientos post-traduccionales del anticuerpo agonista anti-IL-23R, por ejemplo, sitios para O y N-glicosilación, y posiciones de los residuos de cisteína utilizados para la formación de disulfuro, véanse, por ejemplo, Wright y Morrison (1997) *Trends Biotechnol.* 15: 26-32; Kunkel, et al. (2000) *Biotechnol. Prog.* 16: 462-470.

Se pueden mejorar las propiedades de unión del anticuerpo humanizado mediante el siguiente procedimiento, por ejemplo, que supone mutagénesis dirigida a sitios. Una modelación informática permite la visualización de qué residuos de aminoácido de entramado de ratón son probables que interactúen con las CDR del ratón. Entonces, se superponen estos aminoácidos "de contacto" del entramado de ratón sobre el entramado humano homólogo. Cuando la superposición indica que el aminoácido "de contacto" del entramado de ratón es distinto del aminoácido correspondiente del entramado humano, se cambia el aminoácido humano al aminoácido correspondiente del entramado de ratón. "Contacto" significa un contacto entre cadenas entre una cadena ligera y una cadena pesada, en el que, por ejemplo, se predice que los aminoácidos se encuentran a menos de 3 angstroms el uno del otro.

También puede ser deseable una mutagénesis dirigida a sitios cuando el aminoácido del entramado humano es raro para esa posición y el aminoácido correspondiente en la inmunoglobulina de ratón es común para esa posición en las secuencias de inmunoglobulina humana. Aquí, se puede mutar el aminoácido del entramado humano al aminoácido correspondiente del entramado donante; véanse, por ejemplo, la patente U.S. nº 6.407.213, expedida a Carter et al.; la patente U.S. nº 6.180.370, expedida a Queen, et al.; Jung, et al. (2001) *J. Mol. Biol.* 309: 701-716.

El anticuerpo humanizado puede comprender al menos una porción de una región constante (Fc) de inmunoglobulina, por ejemplo, de una inmunoglobulina humana. El anticuerpo puede incluir, opcionalmente, las regiones CH1, bisagra, CH2, CH3, y CH4 de la cadena pesada. El anticuerpo humanizado puede estar seleccionado de cualquier clase de inmunoglobulina, incluyendo IgM, IgG, IgD, IgA e IgE, y cualquier isotipo, incluyendo IgG 1, IgG2, IgG3 e IgG4. Se pueden utilizar procedimientos estándar para mejorar, o eliminar, la función efectora. La función efectora incluye una unión a FcRn, FcγR, y al complemento. Se puede mejorar la vida media, por ejemplo, al utilizar subclases IgG2 o IgG4 humanas o al alterar residuos en la región bisagra (véanse, por ejemplo, Clark (2000) *Immunol. Today* 21: 397-402; Presta, et al. (2002) *Biochem. Soc. Trans.* 30: 487-490; Morea, et al. (2000) *Methods* 20: 267-279).

Las regiones CDR y el entramado del anticuerpo humanizado no necesitan corresponderse de forma precisa con las secuencias de importación o anfitrionas, por ejemplo, estas secuencias pueden ser mutagenizadas mediante sustitución, inserción o deleción de al menos un residuo, de forma que el residuo en el sitio no se corresponda ya sea con el consenso o con el anticuerpo de importación. Sin embargo, tales mutaciones no serán grandes. Normalmente, al menos un 75% de los residuos del anticuerpo humanizado se corresponderán con los de las secuencias parentales FR y CDR, más habitualmente un 90%, y lo más preferentemente más de un 95%.

Normalmente, las variantes de secuencias de aminoácidos del anticuerpo anti-IL-23R humanizado tendrán una secuencia de aminoácido que tiene al menos un 75% de identidad de secuencia del aminoácido con las secuencias originales de aminoácido del anticuerpo humanizado bien de la cadena pesada o bien de la ligera (por ejemplo, como en la ID de SEC nºs. 2 y 4), más preferentemente al menos un 80%, más preferentemente al menos un 85%, más preferentemente al menos un 90%, y lo más preferentemente al menos un 95%. La identidad u homología con respecto a esta secuencia está definida en el presente documento como el porcentaje de residuos de aminoácido en la secuencia candidata que son idénticos a los residuos anti-IL-23R humanizado, después de alinear las secuencias

y de introducir espacios, si fuese necesario, para conseguir el máximo porcentaje de identidad de secuencia, y sin considerar ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencia. No se interpretará que ningún N-terminal, C-terminal, ni extensiones internas, deleciones, ni inserciones en la secuencia del anticuerpo afecten la identidad u homología de la secuencia.

- 5 Una alternativa a la humanización es utilizar bibliotecas de anticuerpos humanos representadas en bibliotecas de fagos o anticuerpos humanos contenidos en ratones transgénicos (véanse, por ejemplo, Vaughan, et al. (1996) Nat. Biotechnol. 14: 309-314; Barbas (1995) Nature Med. 1: 837-839; de Haard, et al. (1999) J. Biol. Chem. 274: 18218-18230; McCafferty et al. (1990) Nature 348: 552-554; Clackson et al. (1991) Nature 352: 624-628; Marks et al. (1991) J. Mol. Biol. 222: 581-597; Mendez, et al. (1997) Nature Genet. 15: 146-156; Hoogenboom y Chames (2000) Immunol. Today 21: 371-377; Barbas, et al. (2001) Phage Display: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, EE. UU.; Kay, et al. (1996) Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual, Academic Press, San Diego, California, EE. UU.; de Bruin, et al. (1999) Nat. Biotechnol. 17: 397-399).

#### IV. Ácidos nucleicos, vectores, y purificación de proteínas.

- 15 Un "vector de expresión" es una construcción de ácido nucleico, generada de forma recombinante o sintética, con uno o más elementos predeterminados de ácido nucleico que permiten la transcripción de un ácido nucleico particular. Normalmente, el vector de expresión incluye un ácido nucleico que va a ser transcrito enlazado de forma operativa a un promotor.

- 20 La cadena ligera y la cadena pesada del anticuerpo anti-IL-23R agonístico pueden ser codificadas por un ácido nucleico, cuando la expresión de la cadena ligera está enlazada de forma operativa a un primer promotor, y cuando la expresión de la cadena pesada está enlazada de forma operativa a un segundo promotor. De forma alternativa, tanto la cadena ligera como la pesada pueden ser codificadas por un ácido nucleico, cuando la expresión de ambas cadenas está enlazada de forma operativa a un promotor. El o los ácidos nucleicos que codifican la cadena ligera y la cadena pesada pueden estar proporcionados como uno o como dos vectores. Los procedimientos de la presente revelación abarcan la incorporación del o de los dos vectores en el genoma de una célula anfitriona (véanse, por ejemplo, Chadd y Chamow (2001) Curr. Opin. Biotechnol. 12: 188-194; Houdebine (2000) Transgenic Res. 9: 305-320; Stoger, et al. (2002) Curr. Opin. Biotechnol. 13: 161-166).

- 25 El ácido nucleico que codifica la cadena ligera puede comprender, además, un primer vector, mientras que el ácido nucleico que codifica la cadena pesada puede comprender, además, un segundo vector. De forma alternativa, un vector puede comprender los ácidos nucleicos que codifican la cadena ligera y la cadena pesada.

- 30 Para una expresión a largo plazo o aumentada del anticuerpo anti-IL-23R agonístico, se puede incorporar un vector, que contiene los ácidos nucleicos que codifican tanto la cadena ligera como la cadena pesada, en el genoma anfitrión, por ejemplo, cuando la incorporación es en un punto o en una pluralidad de puntos en el genoma anfitrión. La expresión conjunta de la cadena ligera y de la cadena pesada en una célula anfitriona produce un anticuerpo soluble. La célula anfitriona puede ser, por ejemplo, una célula de un mamífero, transformada o inmortalizada, de un insecto, de una planta, de una levadura o bacteriana. La célula anfitriona puede comprender, además, un animal transgénico. Se contemplan las combinaciones de las realizaciones anteriores, por ejemplo, cuando la cadena ligera es expresada de forma simultánea por un vector que está incorporado en el genoma de la célula anfitriona y por un vector que no está incorporado en el genoma.

- 40 La purificación de un anticuerpo, o de fragmentos del mismo, puede suponer una cromatografía de intercambio iónico, una inmunoprecipitación, identificadores de epítipo, una cromatografía de afinidad, una cromatografía líquida a alta presión, y el uso de agentes estabilizantes, detergentes o emulsionantes (Dennison y Lovrien (1997) Protein Expression Purif. 11: 149-161; Murby, et al. (1996) Protein Expression Purif. 7: 129-136; Ausubel, et al. (2001) Curr. Protocols Mol. Biol., vol. 3, John Wiley and Sons, Nueva York, Nueva York, EE. UU, pp. 17.0.1-17.23.8; Rajan, et al. (1998) Protein Expression Purif. 13: 67-72; Amersham-Pharmacia (2001) Catalogue, Amersham-Pharmacia Biotech, Inc., pp. 543-567, 605-654; Gooding y Regnier (2002) HPLC of Biological Molecules, 2ª ed., Marcel Dekker, Nueva York, EE. UU.).

#### V. Kits.

- 50 También se dan a conocer un anticuerpo anti-IL-23R agonístico, fragmentos del mismo, ácidos nucleicos que codifican un anticuerpo anti-IL-23R agonístico, o fragmentos de los mismos, en un *kit* diagnóstico. Se da a conocer el uso de composiciones de unión, que incluyen anticuerpos o fragmentos de anticuerpo, para la detección de IL-23R y metabolitos y productos de la descomposición del mismo, y para la detección de actividades dependientes del IL-23R, por ejemplo, una actividad bioquímica o celular. Los anticuerpos conjugados son útiles para fines diagnósticos o de *kit*, e incluyen anticuerpos acoplados con una etiqueta o polipéptido, por ejemplo, un tinte, isótopos, enzima, o metal, véanse, por ejemplo, Le Doussal, et al. (1991) J. Immunol. 146: 169-175; Gibellini, et al. (1998) J. Immunol. 160: 3891-3898; Hsing y Bishop (1999) J. Immunol. 162: 2804-2811; Everts, et al. (2002) J. Immunol. 168: 883-889.

La revelación proporciona un *kit*, comprendiendo el *kit* un compartimento que contiene un anticuerpo anti-IL-23R agonístico, un fragmento antigénico del mismo, o un ácido nucleico que codifica un anticuerpo anti-IL-23R agonístico, o un fragmento del mismo. En otro caso, el *kit* tiene un compartimento, un ácido nucleico, por ejemplo, una sonda, un cebador, o una baliza molecular, véanse, por ejemplo Zamatteo, et al. (2002) Biotech. Annu. Rev. 8: 85-101; Klein (2002) Trends Mol. Med 8: 257-260.

El *kit* puede comprender, por ejemplo, un reactivo y un compartimento, un reactivo e instrucciones para su uso, o un reactivo tanto con un compartimento como con instrucciones para su uso. Un *kit* para determinar la unión de un compuesto de prueba, por ejemplo, adquirido de una muestra biológica o de una biblioteca química, puede comprender un compuesto de control, un compuesto etiquetado, y un procedimiento para separar el compuesto etiquetado libre del compuesto etiquetado unido. Se pueden utilizar análisis de diagnóstico con las matrices biológicas tales como células vivas, extractos y lisatos de células, células fijas, cultivos celulares, fluidos corporales, o muestras forenses. Existen diversos formatos de análisis, tales como radioinmunoanálisis (RIA), ELISA, y laboratorio en un chip (patentes U.S. n<sup>os</sup> 6.176.962 y 6.517.234).

El procedimiento puede comprender, además, poner en contacto una muestra de un sujeto de control, un sujeto normal, o tejido o fluido normal del sujeto de prueba, con la composición de unión. Además, el procedimiento puede comprender, adicionalmente, comparar la unión específica de la composición al sujeto de prueba con la unión específica de la composición con el sujeto normal, el sujeto de control, o tejido o fluido normal del sujeto de prueba. Se puede comparar la expresión o actividad de una muestra de prueba o de un sujeto de prueba con la de una muestra de control o de un sujeto de control. Una muestra de control puede comprender, por ejemplo, una muestra de tejido no afectado o no inflamado en un paciente que padece un trastorno inmunológico. Se puede proporcionar la expresión o actividad de un sujeto de control o una muestra de control como un valor predeterminado, por ejemplo, adquirido de un grupo estadísticamente apropiado de sujetos de control.

#### VI Usos diagnósticos; Composiciones terapéuticas; Procedimientos.

La presente invención versa acerca de procedimientos para el tratamiento y el diagnóstico de la cicatrización, de una cicatrización incorrecta, de una cicatrización de heridas y de una cicatrización incorrecta de heridas, por ejemplo, de la piel. Como se define en las reivindicaciones adjuntas, se proporcionan usos de agonistas de la IL-23, y agonistas de la IL-23 para ser utilizados para mejorar una cicatrización normal de heridas, por ejemplo, al aumentar la tasa de cicatrización, y para tratar una cicatrización incorrecta de heridas, por ejemplo, heridas caracterizadas por úlceras o exceso de fibrosis. Además, la invención versa acerca de procedimientos para tratar y evitar infecciones relacionadas con las heridas.

Se puede llevar a cabo una terapia génica de trastornos cutáneos utilizando una variedad de procedimientos. Los vehículos de administración están bien descritos en la técnica, véanse, por ejemplo, Boulikas (1998) Gene Therapy and Molecular Biology, vol. 1, Gene Therapy Press, Palo Alto, California, EE. UU.; Jolly, et al. (1994) Cancer Gene Therapy 1: 51-64; Kimura, et al. (1994) Human Gene Therapy 5: 845-852; y Kaplitt, et al. (1994) Nat. Genetics 6: 148-153.

Para preparar composiciones farmacéuticas o estériles que incluyen una citoquina o un agonista de molécula pequeña, se mezcla la entidad con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable, que es preferentemente inerte. La preparación de tales composiciones farmacéuticas es conocida en la técnica, véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences and U.S. Pharmacopeia: National Formulary, Mack Publishing Company, Easton, Pensilvania, EE. UU. (1984).

Normalmente, las citoquinas son administradas parenteralmente, preferentemente de forma intravenosa. Dado que tales proteínas o péptidos pueden ser inmunogénicos son administrados, preferentemente, lentamente, bien mediante un conjunto IV de administración convencional o a partir de un depósito subcutáneo, por ejemplo, como enseña la patente U.S. 4.732.863 de Tomasi, et al. Se pueden aplicar medios para minimizar las reacciones inmunológicas. Las entidades de molécula pequeña pueden ser activas oralmente. Para el tratamiento de trastornos cutáneos, la presente invención también puede ser administrada tópicamente, véanse, por ejemplo, Gilman, et al. (eds.) (1990) Goodman and Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, 8<sup>a</sup> ed., Pergamon Press; y Remington's Pharmaceutical Sciences, 17<sup>a</sup> ed. (1990), Mack Publishing Co., Easton, Pensilvania, EE. UU.

Se puede administrar una terapéutica parenteral en vehículos acuosos tales como agua, solución salina, o vehículos tamponados con o sin diversos aditivos y/o agentes diluyentes. De forma alternativa, se puede preparar una suspensión, tal como una suspensión de cinc, que incluya el péptido. Tal suspensión puede ser útil para una inyección subcutánea (SQ) o intramuscular (IM), véanse, por ejemplo, Avis, et al. (eds.) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, 2<sup>a</sup> ed., Dekker, Nueva York, EE. UU.; Lieberman, et al. (eds. 1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, 2<sup>a</sup> ed., Dekker, Nueva York, EE. UU.; Lieberman, et al. (eds. 1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Dekker, Nueva York, EE. UU.; Fodor, et al. (1991) Science 251: 767-773; Coligan (ed.) Current Protocols in Immunology; Hood et al. Immunology Benjamin/Cummings: Paul (ed.) Fundamental Immunology, Academic Press; Parce, et al. (1989) Science 246: 243-247; Owicki, et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci USA 87: 4007-4011; y Blundell y Johnson (1976) Protein Crystallography, Academic Press, Nueva York, EE. UU.

La selección de un régimen de administración para una terapéutica depende de varios factores, incluyendo el suero o la tasa de renovación del tejido de la entidad, el nivel de síntomas, la inmunogenicidad de la entidad, y la accesibilidad de las células objetivo, el momento de la administración, la absorción a través de las capas epiteliales, etc. Preferentemente, un régimen de administración maximiza la cantidad terapéutica administrada al paciente coherente con un nivel aceptable de efectos secundarios. En consecuencia, la cantidad de compuestos biológicos administrada depende en parte de la entidad particular y de la gravedad de la afección que esté siendo tratada. La directriz para seleccionar las dosis apropiadas de citoquina o moléculas pequeñas se determina utilizando metodologías estándar.

El clínico toma la determinación de la dosis apropiada, por ejemplo, utilizando parámetros o factores conocidos o sospechados en la técnica para efectuar el tratamiento o que se predice que afectan al tratamiento. En general, la dosis comienza con una cantidad algo menor que la dosis óptima y es aumentada en pequeños incrementos a partir de entonces hasta que se consigue el efecto deseado u óptimo con respecto a cualquier efecto secundario negativo. Importantes medidas diagnósticas incluyen las de síntomas, por ejemplo, de la inflamación o del nivel producido de citoquinas inflamatorias. Preferentemente, un compuesto biológico que será utilizado está derivado de estas mismas especies que el animal seleccionado para ser tratado, minimizando de ese modo una respuesta humoral al reactivo.

Se pueden proporcionar los anticuerpos, los fragmentos de anticuerpo y las citoquinas mediante infusión continua, o mediante dosis a intervalos de, por ejemplo, un día, una semana, o 1-7 veces por semana. Se pueden proporcionar las dosis de forma intravenosa, subcutánea, tópicamente, oral, nasal, rectal, intramuscular, intracerebral, o mediante inhalación. Un protocolo preferente de dosis es aquel que implica una dosis o frecuencia de dosis máxima que evita efectos secundarios significativos no deseables. Una dosis semanal total es generalmente de al menos 0,05 µg/kg de peso corporal, más generalmente de al menos 0,2 µg/kg, lo más generalmente de al menos 0,5 µg/kg, típicamente de al menos 1 µg/kg, más típicamente de al menos 10 µg/kg, lo más típicamente de al menos 100 µg/kg, preferentemente de al menos 0,2 mg/kg, más preferentemente de al menos 1,0 mg/kg, lo más preferentemente de al menos 2,0 mg/kg, óptimamente de al menos 10 mg/kg, más óptimamente de al menos 25 mg/kg, y lo más óptimamente de al menos 50 mg/kg, véanse, por ejemplo, Yang, et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 349: 427-434; Herold, et al. (2002) *New Engl. J. Med.* 346: 1692-1698; Liu, et al. (1999) *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 67: 451-456; Portielji, et al. (2003) *Cancer Immunol. Immunother.* 52: 133-144. La dosis deseada de un compuesto terapéutico de molécula pequeña, por ejemplo, un péptido mimético, un producto natural, o una sustancia química orgánica, es aproximadamente igual que para un anticuerpo o polipéptido, medida en moles/kg.

La presente invención también proporciona la administración de compuestos biológicos en combinación con terapias conocidas, por ejemplo, esteroides, glucocorticoides en particular, que alivian los síntomas, por ejemplo, asociados con la inflamación, o antibióticos o antiinfectivos. Las dosis diarias para glucocorticoides variarán desde al menos aproximadamente 1 mg, generalmente al menos aproximadamente 2 mg, y preferentemente al menos aproximadamente 5 mg por día. En general, la dosis será inferior a aproximadamente 100 mg, típicamente inferior a aproximadamente 50 mg, preferentemente inferior a aproximadamente 20 mg, y más preferentemente al menos aproximadamente 10 mg por día. En general, los intervalos serán desde al menos aproximadamente 1 mg hasta aproximadamente 100 mg, preferentemente desde aproximadamente 2 mg hasta 50 mg por día. También son conocidas las combinaciones adecuadas de dosis con antibióticos, antiinfectivos, o antiinflamatorios.

La presente revelación proporciona agonistas y antagonistas de la IL-23 para modular genes relacionados con una cicatrización, por ejemplo, de cicatrización de heridas. También se dan a conocer procedimientos de diagnóstico de cicatrización, por ejemplo, que suponen detectar la expresión o cambios en la expresión de genes y productos genéticos modulados con IL-23. Estos genes y productos genéticos incluyen, por ejemplo, de óxido nítrico sintasa 2 (NOS2), lactoferrina, IL-19, DEC-205, CD50 (ICAM-2), IL-25, TNFSF7 (CD27L), proteína básica eosinófila, y otros.

La revelación proporciona un procedimiento para modular la expresión de MMP-7, por ejemplo, para el tratamiento de la cicatrización de heridas. La proteólisis de la matriz es un distintivo de la inflamación. Se utiliza matrilisina, una metaloproteasa, en la reparación de heridas (véanse, por ejemplo, Parks, et al. (2001) *Chest* 120: 36S-41S; Wilson, et al. (1999) *Science* 286: 113-117).

La presente revelación proporciona procedimientos para modular actividades y proteínas relacionadas con los neutrófilos, tales como quimioatrayentes de neutrófilos y proteínas y metabolitos expresados por los neutrófilos. La IL-23 estimula la expresión de la IL-17 que, a su vez, estimula la producción de quimioquinas que atraen a los neutrófilos. Se encuentra una mayor expresión o actividad de respuesta de los neutrófilos, lactoferrina, IL-17, IL-6, y óxido nítrico, en un número de afecciones inflamatorias, y puede desempeñar un papel en la modulación de la cicatrización de heridas (véanse, por ejemplo, Tsokos, et al. (2002) *Virchows Arch.* 441: 494-499; Linden (2001) *Int. Arch. Allergy Immunol.* 126: 179-184; Sheppard (2002) *Chest* 121: 21S-25S; Redington (2000) *Monaldi Arch. Chest Dis.* 55: 317-323; Vignola, et al. (2001) *Curr. Allergy Asthma Rep.* 1: 108-115).

Se dan a conocer procedimientos para modular la expresión de lactoferrina, una proteína producida por los neutrófilos (véanse, por ejemplo, Boyton, et al. (2002) *Brit. Medical Bull.* 61: 1-12; Singh, et al. (2002) *Nature* 417: 552-555; Gómez, et al. (2002) *Infect. Immun.* 70: 7050-7053).

Se dan a conocer procedimientos para modular la expresión de elastasa de los neutrófilos, por ejemplo, para modular una cicatrización de heridas (véanse, por ejemplo, Tkalcevic, et al. (2000) *Immunity* 12: 201-210; Aprikyan, et al. (2001) *Curr. Opin. Immunol.* 13: 535-538; Tremblay, et al. (2003) *Curr. Opin. Investig. Drugs* 4: 556-565; Lee, et al. (2001) *Curr. Opin. Crit. Care* 7: 1-7; Shapiro (2002) *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 26: 266-268).

5 También se dan a conocer procedimientos para modular atrayentes para promover una cicatrización de heridas, por ejemplo, IL-17, óxido nítrico, y GRO-alfa. La IL-17 modula el reclutamiento de neutrófilos (véanse, por ejemplo Ye, et al. (2001) *J. Exp. Med* 194: 519-527; Ye, et al. (2001) *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 25: 335-340). Óxido nítrico, sintetizado mediante óxido nítrico sintasa, puede promover una cicatrización de las heridas, por ejemplo, al atraer monocitos y neutrófilos a la herida, véanse, por ejemplo, Schwentker, et al. (2002) *Nitric Oxide* 7: 1-10; MacMicking, et al. (1997) *Annu. Rev. Immunol.* 15: 323-350. El CXCL-1 (también conocido como GRO-alfa) promueve una cicatrización de las heridas, por ejemplo, al atraer neutrófilos a las heridas y estimulando la proliferación de queratinocitos y angiogénesis (véanse, por ejemplo, Gillitzer, et al. (2001) *J. Leukoc. Biol.* 69: 513-521; Li y Thornhill (2000) *Cytokine* 12: 1409-1413).

15 La IL-6 promueve la cicatrización de lesiones, por ejemplo, heridas cutáneas, véanse, por ejemplo, Gallucci, et al. (2001) *J. Interferon Cytokine Res.* 21: 603-609; Sugawara, et al. (2001) *Cytokine* 15: 328-336; Erdag, et al. (2002) *Ann. Surg.* 235: 113-124; Nadeau, et al. (2002) *Microbes Infect.* 4: 1379-1387; Imanishi, et al. (2000) *Prog. Retin. Eye Res.* 19: 113-129; Gregory, et al. (1998) *J. Immunol.* 160: 6056-6061.

20 El interferón-gamma (IFN $\gamma$ ) media una cicatrización apropiada de heridas, por ejemplo, al modular el contenido de actina y de colágeno, la capacidad de contracción, y la formación de cicatrices, véanse, por ejemplo, Moulin, et al. (1998) *Exp. Cell Res.* 238: 283-293; Ahdieh, et al. (2001) *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 281: C2029-C2038; Cornelissen, et al. (2000) *J. Dent. Res.* 79: 1782-1788; Shtrichman, et al. (2001) *Curr. Opin. Microbiol.* 4: 251-259; Ikeda, et al. (2002) *Cytokine Growth Factor Rev.* 13: 95-109; Rottenberg, et al. (2002) *Curr. Opin. Immunol.* 14: 444-451).

25 La producción de IFN $\gamma$  es estimulada por CD27 (también conocido como TNFRSF7). El CD27 también estimula la proliferación celular y está implicado en la activación y el desarrollo de las células T, y en la producción de anticuerpos dependientes de las células T, incluyendo la producción de IgE, mediante células B (véanse, por ejemplo, Takeda, et al. (2000) *J. Immunol.* 164: 1741-1745; Nagumo, et al. (1998) *J. Immunol.* 161: 6496-6502; Tomiyama, et al. (2002) *J. Immunol.* 168: 5538-5550; Busse y Lemanske (2001) *New Engl. J. Med.* 344: 350-362).

30 El MUC5ac cumple varias funciones biológicas, incluyendo la cicatrización de heridas, véanse, por ejemplo, Dohrman, et al. (1998) *Biochim. Biophys. Acta* 1406: 251-259; Rose, et al. (2000) *J. Aerosol. Med.* 13: 245-261; Rogers (2000) *Monaldi Arch. Chest Dis.* 55: 324-332; Enss, et al. (2000) *Inflamm. Res.* 49: 162-169.

Se comprende mejor el amplio alcance de la presente invención con referencia a los siguientes ejemplos, que no se pretende que limiten la invención a las realizaciones específicas.

### Ejemplos

#### 35 I. Procedimientos generales.

Se describen procedimientos estándar de bioquímica y de biología molecular, o se hace referencia a los mismos, por ejemplo, en Maniatis, et al. (1982) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, EE. UU.; Sambrook y Russell (2001) *Molecular Cloning*, 3ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, EE. UU.; Wu (1993) *Recombinant DNA*, vol. 217, Academic Press, San Diego, California, EE. UU.; Innis, et al. (eds.) (1990) *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Academic Press, Nueva York, EE. UU. También se encuentran procedimientos estándar en Ausbel, et al. (2001) *Current Protocols in Molecular Biology*, volúmenes 1-4, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York, Nueva York, EE. UU., que describe la clonación en células bacterianas y mutagénesis de ADN (vol. 1), clonación en células de mamíferos y levadura (vol. 2), glucoconjugados y expresión de proteínas (vol. 3), y bioinformática (vol. 4). Se describen procedimientos para producir proteínas de fusión. Véanse, por ejemplo, Invitrogen (2002) *Catalogue*, Carlsbad, California, EE. UU.; Amersham Pharmacia Biotech (2002), *Catalogue*, Piscataway, Nueva Jersey, EE. UU.; Liu, et al. (2001) *Curr. Protein Pept. Sci.* 2: 107-121; Graddis, et al. (2002) *Curr. Pharm. Biotechnol.* 3: 285-297. Se describen procedimientos estándar de histología (Carson (1997) *Histotechnology: A Self-Instructional Text*, 2ª ed., Am. Sco. Clin. Pathol. Press, Chicago, Illinois, EE. UU.; Bancroft y Gamble (eds.) (2002) *Theory and Practice of Histological Techniques*, 5ª ed., W.B. Saunders Co., Filadelfia, Pensilvania, EE. UU.).

55 Hay disponibles procedimientos para una citometría de flujo, incluyendo una separación de células activadas por fluorescencia (FACS), véanse, por ejemplo, Owens, et al. (1994) *Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice*, John Wiley and Sons, Hoboken, Nueva Jersey, EE. UU.; Givan (2001) *Flow Cytometry*, 2ª ed.; Wiley-Liss, Hoboken, Nueva Jersey, EE. UU.; Shapiro (2003) *Practical Flow Cytometry*, John Wiley and Sons, Hoboken, Nueva Jersey, EE. UU.

Se describen procedimientos estándar de histología del sistema inmunitario, véanse, por ejemplo, Muller-Harmelink (ed.) (1986) *Human Thymus: Histopathology and Pathology*, Springer Verlag, Nueva York, Nueva York, EE. UU.; Hiatt, et al. (2000) *Color Atlas of Histology*, Lippincott, Williams, and Wilkins, Filadelfia, Pensilvania, EE. UU.; Louis, et al. (2002) *Basic Histology: Text and Atlas*, McGraw-Hill, Nueva York, Nueva York, EE. UU.

5 Se describen procedimientos para la producción y modificación de anticuerpos, por ejemplo, en Coligan, et al. (2001) *Current Protocols in Immunology*, vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York, EE. UU.; Harlow y Lane (1999) *Using Antibodies*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, EE. UU.); Harlow y Lane (1988) *Antibodies A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, EE. UU.; Einhauer, et al. (2001) *J. Biochem. Biophys. Methods* 49: 455-465. Se describen procedimientos para  
10 diseño y transfección de adenovirus, por ejemplo, en células o mamíferos (Hurst, et al. (2002) *New Engl. J. Med.* 169: 443-453; Danthinne y Imperiale (2000) *Gene Ther.* 7: 1707-1714; Carlisle (2002) *Curr. Op. Mol. Ther.* 4: 306-312.

Se describen procedimientos para la purificación de proteínas tales como la inmunoprecipitación, la cromatografía en columna, la electroforesis, el enfoque isoelectrico, la centrifugación, y la cristalización (Coligan, et al. (2000) *Current Protocols in Protein Science*, vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York, EE. UU.). Se describe el análisis  
15 químico, la modificación química, la modificación postraduccional, y la glicosilación de proteínas. Véanse, por ejemplo, Coligan, et al. (2000) *Current Protocols in Protein Science*, vol. 2, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York, EE. UU.; Walker (ed.) (2002) *Protein Protocols Handbook*, Humana Press, Towota, Nueva Jersey, EE. UU.; Lundblad (1995) *Techniques in Protein Modification*, CRC Press, Boca Raton, Florida, EE. UU. Se describen  
20 técnicas para caracterizar interacciones de unión (Coligan, et al. (2001) *Current Protocols in Immunology*, vol. 4, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York, EE. UU.; Parker, et al. (2000) *J. Biomol. Screen.* 5: 77-88; Karlsson, et al. (1991) *J. Immunol. Methods* 145: 229-240; Neri, et al. (1997) *Nat. Biotechnol.* 15: 1271-1275; Jonsson, et al. (1991) *Biotechniques* 11: 620-627; Friguet, et al. (1985) *J. Immunol. Methods* 77: 305-319; Hubble (1997) *Immunol. Today* 18: 305-306; Shen, et al. (2001) *J. Biol. Chem.* 276: 47311-47319).

25 Se lleva a cabo un análisis informático utilizando *software* para determinar, por ejemplo, fragmentos antigénicos, secuencias de señal y delantera, plegado de proteínas, y dominios funcionales que hay disponibles. Véanse, por ejemplo, Vector NTI® Suite (Informax, Inc., Bethesda, Maryland, EE. UU.); GCG Wisconsin Package (Accelrys, Inc., San Diego, California, EE. UU.), y DeCypher® (TimeLogic Corp., Crystal Bay, Nevada, EE. UU.); Menne, et al. (2000) *Bioinformatics* 16: 741-742. También se utilizaron bases de datos públicas de secuencias, por ejemplo, de  
30 GenBank y otras.

## II. Generación de heridas en ratones con falta de p19.

Se inyectó a ratones con falta de la subunidad p19 de la IL-23 (ratones de control p19; ratones p19KO) con 1 mg de *Mycobacterium tuberculosis* (cepa H37 RA) muerta por calor emulsionada en adyuvante incompleto de Freund (IFA) en cuatro ubicaciones dorsal-ijar. Después de 14-18 días posteriores a la exposición al antígeno bacteriano, los  
35 ratones p19KO mostraron una pérdida de pelo y lesiones cutáneas significativas. Estos resultados sugieren que en ausencia de la IL-23, los ratones tienen una respuesta inmunitaria anormal a un desafío de antígeno bacteriano, lo que da lugar a una respuesta reducida de cicatrización de las heridas.

## III. Generación de herida por incisión y evaluación de las respuestas histológicas.

Se llevó a cabo la inflicción de una herida por incisión (5 mm) en la piel dorsal de los ratones de tipo salvaje (WT) y p19KO como se ha descrito (véase, por ejemplo, Cohen y Mast (1990) *Advances in Understanding Trauma and Burn Injury* 30: S149-S 155). Dieciocho horas después de la inflicción de una herida lineal por incisión, se cosecharon  
40 muestras de la piel que rodeaba la incisión y fueron sometidas a una microscopía confocal. Se tincionaron las secciones de tejido con anti IA-FITC y anti-CD11b-APC. Los ratones p19KO mostraron un reclutamiento retrasado de células CD11b+ MHC de clase II positiva, es decir, un retraso en el reclutamiento de monocitos derivados de la médula ósea durante el proceso de cicatrización de la herida.  
45

Se descubrió que la IL-23 induce el reclutamiento de monocitos/macrófagos activados. Se inyectó a ratones C57BL/6 con 10 microgramos de IL-23 recombinante (rIL-23) en una ubicación dorsal intradérmica. Se tincionaron  
muestras cutáneas con anti-IA-FITC y anti-CD11b-APC y se analizaron mediante microscopía confocal. La IL-23 indujo el reclutamiento de monocitos CD11b+ MHC de clase II+ a la ubicación de la inyección de citoquina. Las  
50 muestras cutáneas tratadas con PBS parecieron negativas para el reclutamiento de estos monocitos. Tomada en conjunto, la respuesta alterada de cicatrización de los ratones p19KO a la *Mycobacterium tuberculosis* inyectada y el reclutamiento de la IL-23 de monocitos/macrófagos activados sugiere un papel de la IL-23 en la respuesta de la cicatrización de heridas.

La IL-23 también indujo un reclutamiento de monocitos/macrófagos en el tejido de granulación del lecho de la herida.  
55 Se administraron diez microgramos de rIL-23 intradérmicamente en ocho ubicaciones en torno a las dos heridas escisionales dorsales con un grosor completo de 6 mm inmediatamente posterior a la inflicción de la herida. En el día 3, se escindieron las dos heridas y la piel circundante, fueron congeladas en OCT, seccionadas y tincionadas con anti-CD11b. Se realizó una contratinción con hematoxilina (azul). El tejido de la herida tratado con la IL-23

exhibió una mayor infiltración de monocitos/macrófagos que el control de tampón 3 días posterior a la inflicción de la herida. Se encontraron resultados similares para la migración de células endoteliales CD31<sup>+</sup>.

Se descubrió que la IL-23 recombinante aumenta la cicatrización de las heridas. Inmediatamente después de la inflicción de la herida se administraron diez microgramos de rIL-23 intradérmicamente en ocho ubicaciones en torno a las heridas escisionales con un espesor completo de 6 mm en los lomos de ratones de tipo salvaje Balb/c con capacidad de cicatrización. En el día 3 posterior a la inflicción de la herida se escindieron dos heridas escisionales además de piel circundante adicional. Las heridas fueron fijadas en formaldehído, embebidas en parafina y tincionadas con hematoxilina y eosina. Los portaobjetos de histología fueron evaluados para encontrar la profundidad del tejido de granulación. Los ratones tratados con la IL-23 exhibieron un mayor espesor de la capa tisular de granulación en comparación con los ratones tratados con un tampón de control. Es imprescindible un aumento de la capa tisular de granulación para una cicatrización de heridas de etapa tardía (véase, por ejemplo, Schaffer y Nanney, *supra*). Se obtuvieron resultados similares en los días 3, 6 y 10 posteriores a la inflicción de la herida.

Se utilizó el mismo procedimiento para determinar si la IL-23 aumenta la reepitelialización normal que se produce en la cicatrización de heridas. Los ratones tratados con IL-23 exhibieron capas de queratinocitos más gruesas que los ratones de control de tampón.

#### IV. Cicatrización de las heridas por incisión y evaluación de la resistencia a la rotura.

Se afeitaron ratones macho C57B1/6NT de doce semanas y se eliminó el pelo del dorso utilizando un depilatorio (Nair®, Church and Dwight Co., Princeton, Nueva Jersey, EE. UU.). Se crearon dos heridas por incisión de 0,5 cm aproximadamente 4 cm por debajo desde la nuca y 1 cm alejadas de la línea media utilizando tijeras quirúrgicas. Cada ratón recibió cuatro inyecciones intradérmicas de 20 microlitros bien con solución salina o bien con mL-23 (10 microgramos por ratón) en torno a la periferia de cada herida para abarcar toda la longitud de la incisión en ambos lados. Se cerró cada herida utilizando un adhesivo médico (Mastisol®, Ferndale Labs., Ferndale, Michigan, EE. UU.) y un apósito transparente (OpSite 3000®, Smith and Nephew, Largo, Florida, EE. UU.). Tres días después, se anestesiaron los ratones con un cóctel de ketamina/xilacina y se analizaron las heridas *in vivo* utilizando un caracterizador tisular biomecánico (BTC-2000, SRLI Technologies, Nashville, Tennessee, EE. UU.), según las instrucciones del fabricante. El BTC-2000 utiliza un láser de disparo de alta resolución y vacío para medir la deformación cutánea en un intervalo de presión negativa y de tiempo. Se aplicó una presión negativa a una tasa de 1,33 kPa/segundo hasta que se produjo una ruptura de la herida.

Se analizaron los datos al trazar la deformación cutánea como una función de presión negativa para dar: 1) la rigidez de la herida en proceso de cicatrización (pascales de presión negativa requeridos para deformar el tejido) y 2) la resistencia total de la herida en proceso de cicatrización (es decir, pascales de presión negativa requeridos para romper la herida). Las pruebas comparando los controles tratados con solución salina con objetos de experimentación tratados con mL-23 demostraron que se requería un 46% más de presión negativa para romper las heridas tratadas con mL-23 (26,08 kPa) que para romper las heridas tratadas con solución salina (17,88 kPa). Además, la herida en proceso de cicatrización después del tratamiento con mL-23 (35,02 kPa/mm) era más rígida en comparación con los controles tratados con solución salina (26,45 kPa/mm).

Se contempla la administración de un agonista de la IL-23 para tener como resultado un aumento deseable de la rigidez (o reducción de la blandura) de la herida cicatrizada, más allá de lo cual, se produce un aumento no deseable de la rigidez (o reducción no deseable de blandura). Por lo tanto, se proporciona un antagonista de la IL-23 para reducir cualquier rigidez no deseable (o reducción no deseada de blandura) de una herida en proceso de cicatrización natural o de una herida tratada con agonista de la IL-23. De forma alternativa, por ejemplo, se contempla un agonista de la IL-23 para tener como resultado una reducción de la rigidez no deseable, por ejemplo, debido a un exceso de fibrosis. Por lo tanto, se proporciona un agonista de la IL-23 para reducir cualquier rigidez no deseable.

#### V. El tratamiento con IL-23 aumenta el tejido de granulación.

La respuesta de cicatrización de las heridas en el modelo escisional de los lomos de ratón está mediada por la combinación de una mayor formación de tejido de granulación, reepitelialización, y contracción de las heridas. Una fase de la contracción de la herida en este modelo se produce muy pronto y contribuye de forma significativa al cierre general de la herida. Para confirmar que las actividades de promoción de la IL-23 de cicatrización de heridas también eran vistas en un modelo de ratón que no tenía un aspecto prominente de contracción temprana de la herida a la respuesta de cicatrización, se escogió el modelo escisión en la cabeza del ratón.

Se administraron 10 microgramos de IL-23 recombinante intradérmicamente a 4 ubicaciones en torno a una herida escisional de grosor completo de 3 mm en la coronilla de la cabeza de los ratones Balb/c inmediatamente posterior a la inflicción de la herida. En el día 3 posterior a la inflicción de la herida, se escindieron la herida y la piel circundante. Las heridas fueron fijadas en formaldehído, embebidas en parafina, y tincionadas con hematoxilina y eosina (H/E). Se evaluaron los portaobjetos de histología del centro de la herida para encontrar la profundidad del tejido de granulación.

Los datos del día 3 posterior a la inflicción de la herida indican que la mayor actividad de tejido de granulación resultante del tratamiento con IL-23 fue vista antes del inicio de la contracción de etapa posterior y, por lo tanto, es independiente de la contracción de la herida de la fase temprana. Se hace notar que en este modelo también se produce una fase posterior de contracción de la herida, pero solo se produce después del día 4-6.

#### 5 VI. Terapia génica.

Se administra IL-23 a la ubicación de una herida cutánea utilizando tecnología de terapia génica. La administración terapéutica a la piel se lleva a cabo mediante procedimientos *ex vivo* o *in vivo* (véanse, por ejemplo, Khavari (1997) *Mol. Med. Today* 3: 533-538 y Khavari, et al. (2002) *J. Int. Med.* 252: 1-10).

10 Se preparó una preparación adenoviral recombinante por medio de técnicas convencionales, véanse, por ejemplo, Srivastava en WO 93/09239, Samulski et al. (1989) *J Virol.* 63: 3822-3828; Mendelson et al. (1988) *Viol.* 166: 154-165; y Flotte et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 10613-10617). Se administró intradérmicamente un número creciente de partículas adenovirales que codifican hipercina IL-23 de ratón o proteína fluorescente verde (GFP) o diluyente salino en 8 ubicaciones en torno a dos heridas escisionales con un espesor total de 6 mm en los lomos de los ratones Balb/c inmediatamente posterior a la inflicción de la herida. En el día 3 posterior a la inflicción de la herida, se escindieron las dos heridas y la piel circundante. Las heridas fueron fijadas en formaldehído, embebidas en parafina, y tincionadas con hematoxilina y esoína (H/E). Se evaluaron los portaobjetos de histología del centro de la herida para encontrar la profundidad del tejido de granulación. La administración de mL-23 mediante este procedimiento tuvo como resultado una mayor respuesta de cicatrización de heridas en comparación con el vehículo por sí solo.

#### 20 VII. Expresión génica con un tratamiento de hipercina mL-23.

Se crearon heridas escisionales en los lomos de ratones C57Bl6/NT. Las heridas fueron tratadas con 10 microgramos de hipercina mL-23 o un control de solución salina mediante inyección intradérmica (i.d.) en torno a la periferia de la herida. Las heridas fueron cosechadas en el día 1 y en el día 3 posterior a la inflicción de la herida. Se obtuvieron muestras cutáneas distales a la ubicación de la inflicción de la herida como controles "no heridos". Se llevó a cabo un análisis PCR Taqman® en tiempo real (Applied Biosystems, Foster City, California, EE. UU.) en las muestras tisulares. Los datos de expresión fueron relativos a la expresión de ubiquitina, fijándose la expresión de ubiquitina a uno (1,0). Entonces, se compararon los datos de expresión según los pares indicados de conjuntos de datos.

30 Se examinó la expresión con y sin un tratamiento de hipercina IL-23, en ausencia de la inflicción de una herida (Tabla 1) y con y sin hipercina IL-23 con inflicción de herida (Tabla 2). Se trataron ratones C57Bl6/NT con hipercina IL-23 o solución salina, seguido de la determinación de la expresión del gen indicado por el análisis PCR Taqman® en tiempo real (Tabla 1). Se inyectó intradérmicamente a cada ratón, en el lomo, bien con solución salina o bien con 10 microgramos de hipercina IL-23. Se tomaron muestras tisulares y fueron extraídas 1, 3 o 7 días después de la inyección, agrupándose las muestras de los tres días fueron, y luego fueron utilizadas para un análisis Taqman®. Se muestra (Tabla 1) la relación de expresión génica con y sin un tratamiento de hipercina IL-23. La hipercina IL-23 provocó un aumento de la expresión, de 2 veces o más, de 15 de los 157 genes probados. Estos incluyeron IL-6 (33 veces), IL-19 (32 veces), y CXCL-1 (GRO-alfa) (11 veces) (Tabla 1).

Tabla 1. Relación de [Expresión génica con IL-23] / [Expresión génica con solución salina]. Se adquirieron los datos de control (solución salina) y experimentales (IL-23) sin inflicción de herida.

IL-6	33
IL-19	32
CXCL-1 (GRO-alfa)	11
IL-17	9
mMUC-Sac.fcgi	8
inhibidor de la leucoproteasa secretora (SLPI)	5
factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF)	5
TNFSF5 (CD40L)	3
MAdCAM-1	3
interferón-gamma (IFN-gamma)	3



IL-9	3
12-lipoxigenasa	2
Inhibidor tisular de metaloproteinasas-1 (TIMP-1)	2
IL-1 alfa	2
IL-17RC	2

Se muestran (Tabla 2) los datos de expresión del día 1 (1 día después de la inflicción de la herida) y del día 3 (3 días después de la inflicción de la herida) La IL-23 con inflicción de herida estimuló un aumento en la expresión con respecto a la encontrada con la inflicción de una herida únicamente para un número de genes asociados con una respuesta de cicatrización o de neutrófilos, incluyendo la IL-17, óxido nítrico sintasa, lactoferrina, y metaloproteasas de matriz (Tabla 2).

5

Tabla 2. Relación de [Expresión génica con IL-23, con herida] / [Expresión génica con solución salina, con herida]

	Día 1	Día 3
IL-17	234	6,7
Óxido nítrico sintasa 2 (NOS2)	17	—
lactoferrina	5,3	8,9
IL-12 (subunidad p35)	3,9	—
IL-12 (subunidad p40)	3,6	—
CD107 (LAMP-2; mac-3)	3,5	—
cadena integrina beta7	3,4	—
TNFSF11 (RANKL)	3,3	—
CD11a (cadena LFA-1a)	3,0	—
IL-19	2,9	2,0
endoperoxidasa sintasa tipo II (COX-2)	2,8	—
IL-1RA	2,8	—
IL-17RA	2,7	—
CD29 (integrina b1)	2,6	—
leucotrieno A4 hidrolasa	2,5	—
MMP-13	2,4	—
MMP-8 (colagenasa 2)	2,4	—
receptor de leucotrieno B4	2,4	—
TNFRSF11a (RANK)	2,4	—
M-CSF1	2,3	—
TIMP-1	2,3	—
CD14	2,3	—
enzima de conversión del TNF-alfa (TACE)	2,3	—

	Día 1	Día 3
subunidad Mac-1 alfa (CD11b)	2,3	—
DEC-205	2,2	—
CD50 (ICAM-1)	2,2	—
CCL3 MIP-1alfa	2,2	—
CD86 (B7-2)	2,2	—
CD80 (B7-1)	2,1	—
IL-80	2,1	—
fibronectina	2,0	—
TNFRSF6a (FAS)	2,0	—
elastasa de neutrófilo	0,1	13,7
interferón-gamma (IFN-gamma)	0,7	8,7
matrilisina (MMP-7)	0,1	5,3
TNFRSF7u (CD27)	0,8	4,9
IL-13Ra2	1,4	4,8
IL-12Rb1	1,6	3,8
mieloperoxidasa	1,1	2,7
Proteína básica mayor del eosinófilo	0,4	2,7
proteínasa 3	1,6	2,6
IL-15	1,4	2,5

Las tendencias dependientes de la IL-23 en la expresión génica en común con dos cepas de ratón (ratón C57B1/6NT; ratón Balb/c) fueron como sigue. Se investiga un panel de 158 genes para determinar cuáles son regulados por el tratamiento de IL-23 durante una cicatrización de heridas. Solo fueron regulados al alza cinco de estos genes al menos 2 veces (Tabla 3), y solo fueron regulados a la baja tres de los genes 2 veces o más (Tabla 3).

- 5 Se ha demostrado que la IL-17 regula genes importantes para la remodelación en otros sistemas tisulares. La IL-17 potencia tanto la expresión de MMP-3 y TIMP-1 como la secreción estimulada por TNF e IL-1 en miofibroblastos subepiteliales colónicos humanos (Bamba, et al. (2003) *J Gastroenterol.* 38: 548-554). En osteoblastos humanos, la IL-17 sinergiza con TNF-alfa, TNF-beta, e IFN-gamma para estimular la producción de MMP-13 (Rifas y Arackal (2003) *Arthritis Rheum.* 48: 993-1001). Dado que la IL-17 por sí sola tiene efectos mínimos en estos modelos, el papel fundamental de la IL-17 puede ser amplificar la respuesta de remodelación. La IL-19 se encuentra en la piel y ha sido asociada con la psoriasis (Ghoreschik, et al. (2003) *Nature Med.* 9: 40-46; Gallagher, et al. (2000) *Genes Immunity* 1: 442-450). La lactoferrina es una proteína de unión al hierro presente en gránulos de neutrófilos maduros con un número de funciones biológicas que incluyen propiedades antimicrobianas y pueden proteger, de esta manera, contra una infección bacteriana en la herida (Masson, et al. (1969) *J. Exp. Med.* 130: 643-658; Farnaud y Evans (2003) *Mol Immunol.* 40: 395-405). La ICAM-2 se expresa de forma constitutiva en todas las células endoteliales vasculares, lo que sugiere que la IL-23 puede promover una angiogénesis en la herida (Yasuda, et al. (2002) *Am. J. Physiol.* 282: C917-C925; Sakurai, et al. (2003) *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 44: 2743-2749; Moromizato, et al. (2000) *Am J. Pathol.* 157: 1277-1281). La DEC-205 es un marcador de célula dendrítica implicada en la maduración de las células dendríticas (Anjuere, et al. (1999) *Blood* 93: 590-598; Bonifax, et al. (2002) *J. Exp. Med.* 196: 1627-1638). Por lo tanto, la IL-23 de la presente invención puede promover una vigilancia inmunitaria en la piel.

Tomado conjuntamente, el tratamiento de IL-23 en heridas puede tener efectos pleiotrópicos para acelerar la respuesta de cicatrización de heridas. El tratamiento de IL-23 también redujo la expresión de 3 genes en el entorno de la herida, es decir, la IL-25, el TNSF7, y la proteína básica eosinofílica. La infusión de ratones con IL-25 indujo una expresión génica de la IL-4, la IL-5 y la IL-13 asociada con una patología de remodelación pulmonar (Fort, et al.

(2001) Immunity 15: 985-995). Por lo tanto, la IL-23 puede modular o reducir un exceso de fibrosis en una cicatrización de heridas.

La metodología relevante fue como sigue. Se afeitó el pelo y se eliminó con Nair del dorso de ratones macho C57B1/6NT de 9 semanas y Balb/c de 8 semanas. Se crearon dos heridas escisionales con un diámetro de 6 mm, aproximadamente 3,5 cm por debajo de la nuca y 0,6 cm alejadas de la línea media utilizando una herramienta de biopsia por punción. Se le administró a cada ratón hipercina mL-23 (10 microgramos por ratón) o solución salina en cuatro inyecciones intradérmicas de 20 microlitros en torno a la periferia de cada herida. Se aplicó un apósito transparente y se permitió que los ratones se recuperasen y cicatrizaran. Un día después, los ratones fueron sacrificados y las heridas fueron escindidas con un margen de aproximadamente 1,5 mm. Además, se obtuvo una muestra de piel no herida de cada ratón. Todas las muestras fueron congeladas rápidamente en nitrógeno líquido y fueron almacenadas a -80 grados Celsius para un procesamiento adicional. Se extrajo ARN de cada muestra, se reunió en grupos apropiados, y se analizó mediante PCR en tiempo real para encontrar la expresión de un panel de 158 genes candidatos.

Tabla 3. Modulación de expresión génica, al menos 2 veces, en respuesta a la IL-23 tanto en ratones C57B 1/6NT como en ratones Balb/c.

Genes regulados al alza.	Ratón C57B1/6NT	Ratón Balb/c
IL-17	234,5	207,9
Lactoferrina	5,3	3,3
IL-19	2,9	2,2
DEC-205	2,3	2,8
CD50 (ICAM-2)	2,3	2,1
Genes regulados a la baja.	Ratón C57B 1/6NT	Ratón Balb/c
IL-25	5,88	5,56
TNSF7-CD27L	3,45	100
Proteína básica eosinofílica	2,13	2,33

#### VIII. Anticuerpos anti-IL-23R agonistas.

Se prepararon anticuerpos anti-IL-23R de ratón contra IL-23R humano utilizando procedimientos estándar. Estos anticuerpos anti-IL-23R resultantes fueron investigados en busca de una actividad agonista utilizando células transfectadas con hIL-23R e hIL-12Rbeta1, determinándose la actividad agonista por medio de aumentos en la proliferación celular. Se midió la proliferación de células Ba/F3 transfectantes por medio de procedimientos colorimétrico utilizando azul de Alamar, un tinte indicador del crecimiento.

Se midió la proliferación celular después del cultivo en medio Roswell Park Memorial Institute (RPMI)-1640, suero fetal bovino (10%), 0,05 mM de 2-mercaptoetanol, glutamina, penicilina, estreptomycin, e interleucina-3 de ratón (mIL-3) (10 ng/ml). Las células fueron incubadas en presencia de una concentración de anticuerpo, variando las concentraciones entre 0,01 y 10.000 ng/ml. La referencia de proliferación celular fue la que hubo en ausencia del anticuerpo. La proliferación máxima con los anticuerpos probados se produjo en el intervalo de concentración de 1000 hasta 10.000 ng/ml. "Estimulación detectable", por ejemplo de actividad celular, proliferación celular, o una actividad predeterminada, hace referencia, por ejemplo, a una comparación de proliferación en presencia y ausencia, por ejemplo, de un agonista de la IL-23. "Detectable" puede ser una función del contexto, por ejemplo, de los reactivos, de la instrumentación, o del sistema biológico.

Los anticuerpos que estimularon la expresión incluyeron TC48-8B10.D5 (cadena ligera, ID de SEC n<sup>os</sup>: 9 y 10; cadena pesada, ID de SEC n<sup>os</sup>: 11 y 12), TC48-1H3.G5, TC48-2C9A5, y TC48-5B12.C9. De estos anticuerpos, TC48-8B10.D5 mostró la mayor actividad agonista, en términos de concentración de anticuerpo provocando un aumento máximo de ½ en la proliferación celular. Una proliferación celular de un 100% significa un aumento máximo en la proliferación celular en respuesta al anticuerpo, en curvas de valoración (Tabla 4). El punto de escisión predicho para la secuencia de señal de la cadena ligera de TC48-8B 10.D5 es entre los aminoácidos 22 (Ala) y 23 (Glu) de la ID de SEC n<sup>o</sup>: 10, mientras que el punto de escisión predicho para la cadena pesada es entre los aminoácidos 19 (Ser) y 20 (Gln) de la ID de SEC n<sup>o</sup>: 12.

Tabla 4. Proliferación de células Ba/F3-2.21o en respuesta a anticuerpos agonísticos.

Anticuerpo	Aumento máximo de la proliferación celular en respuesta al anticuerpo (unidades de OD <sub>570-600</sub> nm)	Concentración del anticuerpo que proporciona un aumento máximo de ½ en la proliferación celular.
TC48-8B10.D5 (ID de SEC n <sup>os</sup> : 9-12)	0,026	10 ng/ml
TC48-2C9A5	0,021	20 ng/ml
TC48-1H3.G5	0,018	50 ng/ml
TC48-5B12.C9	0,026	100 ng/ml

La invención proporciona un anticuerpo murino agonístico que se une específicamente al IL-23R humano, TC48-8B10.D5. Este anticuerpo comprende un ácido nucleico (ID de SEC n<sup>o</sup>: 9) y polipéptido (ID de SEC n<sup>o</sup>: 10) de la cadena ligera, y el ácido nucleico (ID de SEC n<sup>o</sup>: 11) y el polipéptido (ID de SEC n<sup>o</sup>: 12) de la cadena pesada de TC48-8B10.D5. También se proporcionan los ácidos nucleicos y los polipéptidos que comprenden las regiones hipervariables de las ID de SEC n<sup>os</sup>: 9-12.

Las regiones hipervariables de la cadena ligera son: ITSTDIDDDMI (aminoácidos 46-56); EGNTLRP (aminoácidos 72-78); y LQSDNMPLT (aminoácidos 111-119), de la ID de SEC n<sup>o</sup>: 10. Las regiones hipervariables de la cadena pesada son: GYT-FTSYWMN (aminoácidos 45-54); MIDPLDSETHYNQMFKD (aminoácidos 69-87); y GDNYAMDY (aminoácidos 118-126), de la ID de SEC n<sup>o</sup>: 12.

#### IX. Anticuerpos IL-23R antirratón de rata y cicatrización de heridas.

Los anticuerpos contra el IL-23R de ratón fueron desarrollados en ratas utilizando procedimientos estándar, teniendo como resultado anticuerpos denominados 5C10, 29A5, y 10E11 1 (Tabla 5). Se preparó una hipercina IL-23 que comprende una subunidad p19 y una subunidad p40 conectadas de forma covalente por medio de un conector elástico (InvivoGen, San Diego, California, EE. UU.), y fue denominada "elastina IL-23". Los anticuerpos IL-23R antirratón, la elastina IL-23 (control), el anticuerpo 36E10 (control de isotipo), y la solución salina (control) fueron probados en un análisis de cicatrización de heridas. Los resultados demostraron una estimulación de la cicatrización de las heridas con la elastina IL-23, y una estimulación menor con el anticuerpo 5C10 (Tabla 5):

Tabla 5. Cicatrización de heridas; espesor del tejido de granulación (micrómetros).

Control de solución salina	170 micrómetros
control de elastina IL-23	300
control de isotipo 36E10	170
5C10	205
29A5	170
10E11	125

Se resumen las secuencias en el listado de secuencias (Tabla 6):

Tabla 6. Secuencias en el listado de secuencias.

ID de SEC n <sup>o</sup> :	Ácido nucleico o polipéptido
1	Ácido nucleico de IL-19 de ratón
2	Polipéptido de IL-19 de ratón
3	Ácido nucleico de IL-19 humana
4	Polipéptido de IL-19 humana
5	Ácido nucleico de hipercina de ratón
6	Polipéptido de hipercina de ratón

ID de SEC nº:	Ácido nucleico o polipéptido
7	Ácido nucleico de hipercina humana
8	Polipéptido de hipercina humana
9	Ácido nucleico de cadena ligera de Ab agonista antihumano de ratón
10	Polipéptido de cadena ligera de Ab agonista antihumano de ratón
11	Ácido nucleico de cadena pesada de Ab agonista antihumano de ratón
12	Polipéptido de cadena pesada de Ab agonista antihumano de ratón

**Listado de secuencias**

<110> Schering Corporation

<120> Usos de citoquina de mamífero; reactivos relacionados

<130> DX01578K

5 <150> US 60/436274 <151> 2002-12-23

<160> 12

<170> Patente en versión 3.1

<210> 1

<211> 1203

10 <212> ADN

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (113)..(700)

15 <223>

<220>

<221> mat\_péptido

<222> (176)..(700)

<223>

20 <400> 1

```

cgcttagaag      tcggactaca      gagttagact      cagaacccaaa      ggaggtggat      agggggtcca      60
caggcctggt      gcagatcaca      gagccagcca      gatctgagaa      gcaggaaca      ag  atg  ctg      118
                                   Met  Leu
                                   -20

gat  tgc  aga  gca  gta  ata  atg  cta  tgg  ctg  ttg  ccc  tgg  gtc  act  cag  166
Asp  Cys  Arg  Ala  Val  Ile  Met  Leu  Trp  Leu  Leu  Pro  Trp  Val  Thr  Gln
                                   -15                               -10                               -5

ggc  ctg  gct  gtg  cct  agg  agt  age  agt  cct  gac  tgg  gct  cag  tgc  cag  214
Gly  Leu  Ala  Val  Pro  Arg  Ser  Ser  Ser  Pro  Asp  Trp  Ala  Gln  Cys  Gln
                                   -1  1                               5                               10
    
```

# ES 2 367 302 T3

cag	ctc	tct	egg	aat	ctc	tgc	atg	cta	gcc	tgg	aac	gca	cat	gca	cca	262
Gln	Leu	Ser	Arg	Asn	Leu	Cys	Met	Leu	Ala	Trp	Asn	Ala	His	Ala	Pro	
	15					20					25					
gcg	gga	cat	atg	aat	cta	cta	aga	gaa	gaa	gag	gat	gaa	gag	act	aaa	310
Ala	Gly	His	Met	Asn	Leu	Leu	Arg	Glu	Glu	Glu	Asp	Glu	Glu	Thr	Lys	
30					35					40					45	
aat	aat	gtg	ccc	cgt	atc	cag	tgt	gaa	gat	ggg	tgt	gac	cca	caa	gga	358
Asn	Asn	Val	Pro	Arg	Ile	Gln	Cys	Glu	Asp	Gly	Cys	Asp	Pro	Gln	Gly	
				50					55					60		
ctc	aag	gac	aac	agc	cag	ttc	tgc	ttg	caa	agg	atc	cgc	caa	ggg	ctg	406
Leu	Lys	Asp	Asn	Ser	Gln	Phe	Cys	Leu	Gln	Arg	Ile	Arg	Gln	Gly	Leu	
			65					70					75			
gct	ttt	tat	aag	cac	ctg	ctt	gac	tct	gac	atc	ttc	aaa	ggg	gag	cct	454
Ala	Phe	Tyr	Lys	His	Leu	Leu	Asp	Ser	Asp	Ile	Phe	Lys	Gly	Glu	Pro	
		80					85					90				
gct	cta	ctc	cct	gat	agc	ccc	atg	gag	caa	ctt	cac	acc	tcc	cta	cta	502
Ala	Leu	Leu	Pro	Asp	Ser	Pro	Met	Glu	Gln	Leu	His	Thr	Ser	Leu	Leu	
	95					100						105				
gga	ctc	agc	caa	ctc	ctc	cag	cca	gag	gat	cac	ccc	cgg	gag	acc	caa	550
Gly	Leu	Ser	Gln	Leu	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	His	Pro	Arg	Glu	Thr	Gln	
110					115					120					125	
cag	atg	ccc	agc	ctg	agt	tct	agt	cag	cag	tgg	cag	cgc	ccc	ctt	ctc	598
Gln	Met	Pro	Ser	Leu	Ser	Ser	Ser	Gln	Gln	Trp	Gln	Arg	Pro	Leu	Leu	
				130					135					140		
cgt	tcc	aag	atc	ctt	cga	agc	ctc	cag	gcc	ttt	ttg	gcc	ata	gct	gcc	646
Arg	Ser	Lys	Ile	Leu	Arg	Ser	Leu	Gln	Ala	Phe	Leu	Ala	Ile	Ala	Ala	
			145					150					155			
cgg	gtc	ttt	gcc	cac	gga	gca	gca	act	ctg	act	gag	ccc	tta	gtg	cca	694
Arg	Val	Phe	Ala	His	Gly	Ala	Ala	Thr	Leu	Thr	Glu	Pro	Leu	Val	Pro	
		160						165				170				
aca		gct		taaggatgcc		caggttccca		tggtaccat		gataagacta		atctatcagc				750
Thr		Ala														
		175														
ccagacatct		accagttaat		taaccatta		ggacttggtc		tggttctggt		tcgtttgttt						810
tcgctgaagg		gcaaggacac		cattattaa		gagaaaagaa		acaaaccca		gagcaggcag						870
ctggctagag		aaaggagctg		gagaagaaga		ataaagtctc		gagccctgg		ccttgaagc						930
gggcaagcag		ctgcgtggcc		tgaggggaag		ggggcgggtg		catcgagaaa		ctgtgagaaa						990
accagagca		tcagaaaaag		tgagcccagg		ctttggccat		tatctgtaag		aaaaacaaga						1050
aaaggggaac		attatacttt		cctgggtggc		tcagggaaat		gtgcagatgc		acagtactcc						1110
agacagcagc		tctgtacctg		cctgctctgt		ccctcagttc		taacagaatc		tagtcactaa						1170
gaactaacag		gactaccaat		acgaactgac		aaa										1203

<210> 2

<211> 196

<212> PRT

<213> Mus musculus

5 <400> 2

ES 2 367 302 T3

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

<210> 3

<211> 570

<212> ADN

<213> Homo sapiens

5 <220>

<221> CDS

<222> (1)..(567)

<223>

<220>

10 <221> mat\_péptido

<222> (64)..(567)

<223>

<400> 3

atg	ctg	ggg	agc	aga	gct	gta	atg	ctg	ctg	ttg	ctg	ctg	ccc	tgg	aca	48
Met	Leu	Gly	Ser	Arg	Ala	Val	Met	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Pro	Trp	Thr	
	-20					-15						-10				

ES 2 367 302 T3

gct	cag	ggc	aga	gct	gtg	cct	ggg	ggc	agc	agc	cct	gcc	tgg	act	cag	96
Ala	Gln	Gly	Arg	Ala	Val	Pro	Gly	Gly	Ser	Ser	Pro	Ala	Trp	Thr	Gln	
-5				-1	1				5					10		
tgc	cag	cag	ctt	tca	cag	aag	ctc	tgc	aca	ctg	gcc	tgg	agt	gca	cat	144
Cys	Gln	Gln	Leu	Ser	Gln	Lys	Leu	Cys	Thr	Leu	Ala	Trp	Ser	Ala	His	
			15					20					25			
cca	cta	gtg	gga	cac	atg	gat	cta	aga	gaa	gag	gga	gat	gaa	gag	act	192
Pro	Leu	Val	Gly	His	Met	Asp	Leu	Arg	Glu	Glu	Gly	Asp	Glu	Glu	Thr	
		30					35					40				
aca	aat	gat	gtt	ccc	cat	atc	cag	tgt	gga	gat	ggc	tgt	gac	ccc	caa	240
Thr	Asn	Asp	Val	Pro	His	Ile	Gln	Cys	Gly	Asp	Gly	cys	Asp	Pro	Gln	
	45					50					55					
gga	ctc	agg	gac	aac	agt	cag	ttc	tgc	ttg	caa	agg	atc	cac	cag	ggt	288
Gly	Leu	Arg	Asp	Asn	Ser	Gln	Phe	Cys	Leu	Gln	Arg	Ile	His	Gln	Gly	
60					65					70					75	
ctg	att	ttt	tat	gag	aag	ctg	cta	gga	tcg	gat	att	ttc	aca	ggg	gag	336
Leu	Ile	Phe	Tyr	Glu	Lys	Leu	Leu	Gly	Ser	Asp	Ile	Phe	Thr	Gly	Glu	
				80					85					90		
cct	tct	ctg	ctc	cct	gat	agc	cct	gtg	gcg	cag	ctt	cat	gcc	tcc	cta	384
Pro	Ser	Leu	Leu	Pro	Asp	Ser	Pro	Val	Ala	Gln	Leu	His	Ala	Ser	Leu	
			95					100					105			
ctg	ggc	ctc	agc	caa	ctc	ctg	cag	cct	gag	ggt	cac	cac	tgg	gag	act	432
Leu	Gly	Leu	Ser	Gln	Leu	Leu	Gln	Pro	Glu	Gly	His	His	Trp	Glu	Thr	
		110					115					120				
cag	cag	att	cca	agc	ctc	agt	ccc	agc	cag	cca	tgg	cag	cg	ctc	ctt	480
Gln	Gln	Ile	Pro	ser	Leu	Ser	Pro	Ser	Gln	Pro	Trp	Gln	Arg	Leu	Leu	
	125					130					135					
ctc	cg	ttc	aaa	atc	ctt	cg	agc	ctc	cag	gcc	ttt	gtg	gct	gta	gcc	528
Leu	Arg	Phe	Lys	Ile	Leu	Arg	Ser	Leu	Gln	Ala	Phe	Val	Ala	Val	Ala	
140					145					150					155	
gcc	cg	gtc	ttt	gcc	cat	gga	gca	gca	acc	ctg	agt	ccc	taa			570
Ala	Arg	Val	Phe	Ala	His	Gly	Ala	Ala	Thr	Leu	Ser	Pro				
				160					165							

<210> 4

<211> 189

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5 <400> 4

Met	Leu	Gly	Ser	Arg	Ala	Val	Met	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Pro	Trp	Thr	
	-20					-15						-10				
Ala	Gln	Gly	Arg	Ala	Val	Pro	Gly	Gly	Ser	Ser	Pro	Ala	Trp	Thr	Gln	
-5				-1	1				5					10		
Cys	Gln	Gln	Leu	Ser	Gln	Lys	Leu	Cys	Thr	Leu	Ala	Trp	Ser	Ala	His	
			15					20					25			
Pro	Leu	Val	Gly	His	Met	Asp	Leu	Arg	Glu	Glu	Gly	Asp	Glu	Glu	Thr	
		30					35					40				
Thr	Asn	Asp	Val	Pro	His	Ile	Gln	Cys	Gly	Asp	Gly	Cys	Asp	Pro	Gln	
	45					50					55					



# ES 2 367 302 T3

Gly	Leu	Arg	Asp	Asn	Ser	Gln	Phe	Cys	Leu	Gln	Arg	Ile	His	Gln	Gly
60					65					70					75
Leu	Ile	Phe	Tyr	Glu	Lys	Leu	Leu	Gly	Ser	Asp	Ile	Phe	Thr	Gly	Glu
				80					85					90	
Pro	Ser	Leu	Leu	Pro	Asp	Ser	Pro	Val	Ala	Gln	Leu	His	Ala	Ser	Leu
			95					100					105		
Leu	Gly	Leu	Ser	Gln	Leu	Leu	Gln	Pro	Glu	Gly	His	His	Trp	Glu	Thr
		110					115						120		
Gln	Gln	Ile	Pro	Ser	Leu	Ser	Pro	Ser	Gln	Pro	Trp	Gln	Arg	Leu	Leu
	125					130					135				
Leu	Arg	Phe	Lys	Ile	Leu	Arg	Ser	Leu	Gln	Ala	Phe	Val	Ala	Val	Ala
140					145					150					155
Ala	Arg	Val	Phe	Ala	His	Gly	Ala	Ala	Thr	Leu	Ser	Pro			
				160					165						

<210> 5

<211> 1610

<212> ADN

<213> Mus musculus

5 <220>

<221> CDS

<222> (7)..(1599)

<223>

<400> 5

agatct	atg	tct	gca	ctt	ctg	atc	cta	gct	ctt	gtt	gga	gct	gca	gtt		48
	Met	Ser	Ala	Leu	Leu	Ile	Leu	Ala	Leu	Val	Gly	Ala	Ala	Val		
	1				5					10						
gct	gac	tac	aaa	gac	gat	gac	gac	aag	ctt	atg	tgg	gag	ctg	gag	aaa	96
Ala	Asp	Tyr	Lys	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys	Leu	Met	Trp	Glu	Leu	Glu	Lys	
15				20						25					30	
gac	gtt	tat	gtt	gta	gag	gtg	gac	tgg	act	ccc	gat	gcc	cct	gga	gaa	144
Asp	Val	Tyr	Val	Val	Glu	Val	Asp	Trp	Thr	Pro	Asp	Ala	Pro	Gly	Glu	
				35					40					45		
aca	gtg	aac	ctc	acc	tgt	gac	acg	cct	gaa	gaa	gat	gac	atc	acc	tgg	192
Thr	Val	Asn	Leu	Thr	Cys	Asp	Thr	Pro	Glu	Glu	Asp	Asp	Ile	Thr	Trp	
			50					55					60			
acc	tca	gac	cag	aga	cat	gga	gtc	ata	ggc	tct	gga	aag	acc	ctg	acc	240
Thr	Ser	Asp	Gln	Arg	His	Gly	Val	Ile	Gly	Ser	Gly	Lys	Thr	Leu	Thr	
		65					70					75				
atc	act	gtc	aaa	gag	ttt	ctr	gat	gct	ggc	cag	tac	acc	tgc	cac	aaa	288
Ile	Thr	Val	Lys	Glu	Phe	Xaa	Asp	Ala	Gly	Gln	Tyr	Thr	Cys	His	Lys	
	80					85					90					
gga	ggc	gag	act	ctg	agc	cac	tca	cat	ctg	ctg	ctc	cac	aag	aag	gaa	336
Gly	Gly	Glu	Thr	Leu	Ser	His	Ser	His	Leu	Leu	Leu	His	Lys	Lys	Glu	
95					100						105				110	

ES 2 367 302 T3

aat	gga	att	tgg	tcc	act	gaa	att	tta	aaa	aat	ttc	aaa	aac	aag	act	384
Asn	Gly	Ile	Trp	Ser	Thr	Glu	Ile	Leu	Lys	Asn	Phe	Lys	Asn	Lys	Thr	
				115					120					125		
ttc	ctg	aag	tgt	gaa	gca	cca	aat	tac	tcc	gga	cgg	ttc	acg	tgc	tca	432
Phe	Leu	Lys	Cys	Glu	Ala	Pro	Asn	Tyr	Ser	Gly	Arg	Phe	Thr	Cys	Ser	
			130					135					140			
tgg	ctg	gtg	caa	aga	aac	atg	gac	ttg	aag	ttc	aac	atc	aag	agc	agt	480
Trp	Leu	Val	Gln	Arg	Asn	Met	Asp	Leu	Lys	Phe	Asn	Ile	Lys	Ser	Ser	
		145					150					155				
agc	agt	tcc	cct	gac	tct	cgg	gca	gtg	aca	tgt	gga	atg	gcg	tct	ctg	528
Ser	Ser	Ser	Pro	Asp	Ser	Arg	Ala	Val	Thr	Cys	Gly	Met	Ala	Ser	Leu	
	160					165					170					
tct	gca	gag	aag	gtc	aca	ctg	gac	caa	agg	gac	tat	gag	aag	tat	tca	576
Ser	Ala	Glu	Lys	Val	Thr	Leu	Asp	Gln	Arg	Asp	Tyr	Glu	Lys	Tyr	Ser	
175				180						186					190	
gtg	tcc	tgc	cag	gag	gat	gtc	acc	tgc	cca	act	gct	gag	gag	acc	ctg	624
Val	Ser	Cys	Gln	Glu	Asp	Val	Thr	Cys	Pro	Thr	Ala	Glu	Glu	Thr	Leu	
			195					200						205		
ccc	att	gaa	ctg	gcg	ttg	gaa	gca	cgg	cag	cag	aat	aaa	tat	gag	aac	672
Pro	Ile	Glu	Leu	Ala	Leu	Glu	Ala	Arg	Gln	Gln	Asn	Lys	Tyr	Glu	Asn	
			210					215					220			
tac	agc	acc	agc	ttc	ttc	atc	agg	gac	atc	atc	aaa	cca	gac	ccg	ccc	720
Tyr	Ser	Thr	Ser	Phe	Phe	Ile	Arg	Asp	Ile	Ile	Lys	Pro	Asp	Pro	Pro	
		225					230					235				
aag	aac	ttg	cag	atg	aag	cct	ttg	aag	aac	tca	cag	gtg	gag	gtc	agc	768
Lys	Asn	Leu	Gln	Met	Lys	Pro	Leu	Lys	Asn	Ser	Gln	Val	Glu	Val	Ser	
	240					245					250					
tgg	gag	tac	cct	gac	tcc	tgg	agc	act	ccc	cat	tcc	tac	ttc	tcc	ctc	816
Trp	Glu	Tyr	Pro	Asp	Ser	Trp	Ser	Thr	Pro	His	Ser	Tyr	Phe	Ser	Leu	
255					260					265					270	
aag	ttc	ttt	gtt	cga	atc	cag	cgc	aag	aaa	gaa	aag	atg	aag	gag	aca	864
Lys	Phe	Phe	Val	Arg	Ile	Gln	Arg	Lys	Lys	Glu	Lys	Met	Lys	Glu	Thr	
			275					280						285		
gag	gag	ggg	tgt	aac	cag	aaa	ggt	gcg	ttc	ctc	gta	gag	aag	aca	tct	912
Glu	Glu	Gly	Cys	Asn	Gln	Lys	Gly	Ala	Phe	Leu	Val	Glu	Lys	Thr	Ser	
			290				295						300			
acc	gaa	gtc	caa	tgc	aaa	ggc	ggg	aat	gtc	tgc	gtg	caa	gct	cag	gat	960
Thr	Glu	Val	Gln	Cys	Lys	Gly	Gly	Asn	Val	Cys	Val	Gln	Ala	Gln	Asp	
		305					310					315				
cgc	tat	tce	aat	tcc	tcr	tgc	agc	aag	tgg	gca	tgt	gtt	ccc	tgc	agg	1008
Arg	Tyr	Tyr	Asn	Ser	Xaa	Cys	Ser	Lys	Trp	Ala	Cys	Val	Pro	Cys	Arg	
	320					325					330					
gtc	cga	tcc	tct	aga	ggt	gga	tca	ggc	tcc	gga	ggt	agt	gga	ggt	ggg	1056
Val	Arg	Ser	Ser	Arg	Gly	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	
335				340						345					350	
gga	tct	aag	ctt	ctg	gct	gtg	cct	agg	agt	agc	agt	cct	gac	tgg	gct	1104
Gly	Ser	Lys	Leu	Leu	Ala	Val	Pro	Arg	Ser	Ser	Ser	Pro	Asp	Trp	Ala	
			355					360						365		
cag	tgc	cag	cag	ctc	tct	egg	aat	ctc	tgc	atg	cta	gcc	tgg	aac	gca	1152
Gln	Cys	Gln	Gln	Leu	ser	Arg	Asn	Leu	Cys	Met	Leu	Ala	Trp	Asn	Ala	
			370					375					380			

ES 2 367 302 T3

cat	gca	cca	gcg	gga	cat	atg	aat	cta	cta	aga	gaa	gaa	gag	gat	gaa	1200
His	Ala	Pro	Ala	Gly	His	Met	Asn	Leu	Leu	Arg	Glu	Glu	Glu	Asp	Glu	
		385					390					395				
gag	act	aaa	aat	aat	gtg	ccc	cgt	atc	cag	tgt	gaa	gat	ggg	tgt	gac	1248
Glu	Thr	Lys	Asn	Asn	Val	Pro	Arg	Ile	Gln	Cys	Glu	Asp	Gly	Cys	Asp	
	400					405					410					
cca	caa	gga	ctc	aag	gac	aac	agc	cag	ttc	tgc	ttg	caa	agg	atc	cgc	1296
Pro	Gln	Gly	Leu	Lys	Asp	Asn	Ser	Gln	Phe	Cys	Leu	Gln	Arg	Ile	Arg	
415					420					425					430	
caa	ggg	ctg	gtt	ttt	tat	aag	cac	ctg	ctt	gac	tct	gac	atc	ttc	aaa	1344
Gln	Gly	Leu	Val	Phe	Tyr	Lys	His	Leu	Leu	Asp	Ser	Asp	Ile	Phe	Lys	
			435					440						445		
ggg	gag	cct	gct	cta	ctc	cct	gat	agc	ccc	atg	gag	caa	ctt	cac	acc	1392
Gly	Glu	Pro	Ala	Leu	Leu	Pro	Asp	Ser	Pro	Met	Glu	Gln	Leu	His	Thr	
			450					455					460			
tcc	cta	cta	gga	ctc	agc	caa	ctc	ctc	cag	cca	gag	gat	cac	ccc	cgg	1440
Ser	Leu	Leu	Gly	Leu	Ser	Gln	Leu	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	His	Pro	Arg	
		465					470					475				
gag	acc	caa	cag	atg	ccc	agc	ctg	agt	tct	agt	cag	cag	tgg	cag	cgc	1488
Glu	Thr	Gln	Gln	Met	Pro	Ser	Leu	Ser	Ser	Ser	Gln	Gln	Trp	Gln	Arg	
	480					485					490					
ccc	ctt	ctc	cgt	tcc	aag	atc	ctt	cga	agc	ctc	cag	gcc	ttt	ttg	gcc	1536
Pro	Leu	Leu	Arg	Ser	Lys	Ile	Leu	Arg	Ser	Leu	Gln	Ala	Phe	Leu	Ala	
495					500					505					510	
ata	gct	gcc	cgg	gtc	ttt	gcc	cac	gga	gca	gca	act	ctg	act	gag	ccc	1584
Ile	Ala	Ala	Arg	Val	Phe	Ala	His	Gly	Ala	Ala	Thr	Leu	Thr	Glu	Pro	
				515					520					525		
tta	gtg	cca	aca	gct	taagcggccg			c								1610
Leu	Val	Pro	Thr	Ala												
			530													

<210> 6

<211> 531

<212> PRT

<213> Mus musculus

5 <220>

<221> característica\_misc

<222> (85)..(85)

<223> La "Xaa" en la ubicación 85 representa Leu.

<220>

10 <221> característica\_misc

<222> (324)..(324)

<223> La "Xaa" en la ubicación 324 representa Ser.

<400> 6

Met	Ser	Ala	Leu	Leu	Ile	Leu	Ala	Leu	Val	Gly	Ala	Ala	Val	Ala	Asp
1				5					10					15	

# ES 2 367 302 T3

Tyr	Lys	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys	Leu	Met	Trp	Glu	Leu	Glu	Lys	Asp	Val
			20					25					30		
Tyr	Val	Val	Glu	Val	Asp	Trp	Thr	Pro	Asp	Ala	Pro	Gly	Glu	Thr	Val
		35					40					45			
Asn	Leu	Thr	Cys	Asp	Thr	Pro	Glu	Glu	Asp	Asp	Ile	Thr	Trp	Thr	Ser
	50					55					60				
Asp	Gln	Arg	His	Gly	Val	Ile	Gly	Ser	Gly	Lys	Thr	Leu	Thr	Ile	Thr
65					70					75					80
Val	Lys	Glu	Phe	Xaa	Asp	Ala	Gly	Gln	Tyr	Thr	Cys	His	Lys	Gly	Gly
				85					90					95	
Glu	Thr	Leu	Ser	His	Ser	His	Leu	Leu	Leu	His	Lys	Lys	Glu	Asn	Gly
			100					105					110		
Ile	Trp	Ser	Thr	Glu	Ile	Leu	Lys	Asn	Phe	Lys	Asn	Lys	Thr	Phe	Leu
		115					120					125			
Lys	Cys	Glu	Ala	Pro	Asn	Tyr	Ser	Gly	Arg	Phe	Thr	Cys	Ser	Trp	Leu
	130					135					140				
Val	Gln	Arg	Asn	Met	Asp	Leu	Lys	Phe	Asn	Ile	Lys	Ser	Ser	Ser	Ser
145					150					155					160
Ser	Pro	Asp	Ser	Arg	Ala	Val	Thr	Cys	Gly	Met	Ala	Ser	Leu	Ser	Ala
				165					170					175	
Glu	Lys	Val	Thr	Leu	Asp	Gln	Arg	Asp	Tyr	Glu	Lys	Tyr	Ser	Val	Ser
			180					185					190		
Cys	Gln	Glu	Asp	Val	Thr	Cys	Pro	Thr	Ala	Glu	Glu	Thr	Leu	Pro	Ile
		195					200					205			
Glu	Leu	Ala	Leu	Glu	Ala	Arg	Gln	Gln	Asn	Lys	Tyr	Glu	Asn	Tyr	Ser
	210					215					220				
Thr	Ser	Phe	Phe	Ile	Arg	Asp	Ile	Ile	Lys	Pro	Asp	Pro	Pro	Lys	Asn
225					230					235					240
Leu	Gln	Met	Lys	Pro	Leu	Lys	Asn	Ser	Gln	Val	Glu	Val	Ser	Trp	Glu
				245					250					255	
Tyr	Pro	Asp	Ser	Trp	Ser	Thr	Pro	His	Ser	Tyr	Phe	Ser	Leu	Lys	Phe
			260					265					270		
Phe	Val	Arg	Ile	Gln	Arg	Lys	Lys	Glu	Lys	Met	Lys	Glu	Thr	Glu	Glu
		275					280					285			
Gly	Lys	Asn	Gln	Lys	Gly	Ala	Phe	Leu	Val	Glu	Lys	Thr	Ser	Thr	Glu
	290					295					300				
Val	Gln	Cys	Lys	Gly	Gly	Asn	Val	Cys	Val	Gln	Ala	Gln	Asp	Arg	Tyr
305				310						315					320
Tyr	Asn	Ser	Xaa	Cys	Ser	Lys	Trp	Ala	Cys	Val	Pro	Cys	Arg	Val	Arg
			325						330					335	
Ser	Ser	Arg	Gly	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
			340					345					350		
Lys	Leu	Leu	Ala	Val	Pro	Arg	Ser	Ser	Ser	Pro	Asp	Trp	Ala	Gln	Cys
		355					360					365			
Gln	Gln	Leu	Ser	Arg	Asn	Leu	Cys	Met	Leu	Ala	Trp	Asn	Ala	His	Ala
	370					375					380				

# ES 2 367 302 T3

Pro 385	Ala	Gly	His	Met	Asn 390	Leu	Leu	Arg	Glu	Glu 395	Glu	Asp	Glu	Glu	Thr 400
Lys	Asn	Asn	Val	Pro	Arg	Ile	Gln	Cys	Glu 410	Asp	Gly	Cys	Asp	Pro	Gln 415
Gly	Leu	Lys	Asp 420	Asn	Ser	Gln	Phe	Cys 425	Leu	Gln	Arg	Ile	Arg 430	Gln	Gly
Leu	Val	Phe 435	Tyr	Lys	His	Leu	Leu 440	Asp	Ser	Asp	Ile	Phe 445	Lys	Gly	Glu
Pro	Ala 450	Leu	Leu	Pro	Asp	Ser 455	Pro	Met	Glu	Gln	Leu	His	Thr	Ser	Leu
Leu 465	Gly	Leu	Ser	Gln	Leu	Leu 470	Gln	Pro	Glu	Asp 475	His	Pro	Arg	Glu	Thr 480
Gln	Gln	Met	Pro	Ser 485	Leu	Ser	Ser	Ser	Gln 490	Gln	Trp	Gln	Arg	Pro	Leu 495
Leu	Arg	Ser	Lys 500	Ile	Leu	Arg	Ser	Leu 505	Gln	Ala	Phe	Leu	Ala 510	Ile	Ala
Ala	Arg	Val 515	Phe	Ala	His	Gly	Ala 520	Ala	Thr	Leu	Thr	Glu 525	Pro	Leu	Val
Pro	Thr 530	Ala													

<210> 7

<211> 1580

<212> ADN

<213> Homo sapiens

5 <220>

<221> CDS

<222> (7)..(1569)

<223>

<400> 7

agatct	atg	tct	gca	ctt	ctg	atc	cta	gct	ctt	gtt	gga	gct	gca	ggt	48	
	Met	Ser	Ala	Leu	Leu	Ile	Leu	Ala	Leu	Val	Gly	Ala	Ala	Val		
	1				5					10						
gct	gac	tac	aaa	gac	gat	gac	gac	aag	ctt	ata	tgg	gaa	ctg	aag	aaa	96
Ala	Asp	Tyr	Lys	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys	Leu	Ile	Trp	Glu	Leu	Lys	Lys	
15				20						25					30	
gat	gtt	tat	gtc	gta	gaa	ttg	gat	tgg	tat	ccg	gat	gcc	cct	gga	gaa	144
Asp	Val	Tyr	Val	Val	Glu	Leu	Asp	Trp	Tyr	Pro	Asp	Ala	Pro	Gly	Glu	
			35						40					45		
atg	gtg	gtc	ctc	acc	tgt	gac	acc	cct	gaa	gaa	gat	ggt	atc	acc	tgg	192
Met	Val	Val	Leu	Thr	Cys	Asp	Thr	Pro	Glu	Glu	Asp	Gly	Ile	Thr	Trp	
			50					55					60			
acc	ttg	gac	cag	agc	agt	gag	gtc	tta	ggc	tct	ggc	aaa	acc	ctg	acc	240
Thr	Leu	Asp	Gln	Ser	Ser	Glu	Val	Leu	Gly	Ser	Gly	Lys	Thr	Leu	Thr	
		65					70					75				

ES 2 367 302 T3

atc	caa	gtc	aaa	gag	ttt	gga	gat	gct	ggc	cag	tac	acc	tgt	cac	aaa	288
Ile	Gln	Val	Lys	Glu	Phe	Gly	Asp	Ala	Gly	Gln	Tyr	Thr	Cys	His	Lys	
	80					85					90					
gga	ggc	gag	gtt	cta	agc	cat	tcg	ctc	ctg	ctg	ctt	cac	aaa	aag	gaa	336
Gly	Gly	Glu	Val	Leu	Ser	His	Ser	Leu	Leu	Leu	Leu	His	Lys	Lys	Glu	
95					100					105					110	
gat	gga	att	tgg	tcc	act	gat	att	tta	aag	gac	cag	aaa	gaa	ccc	aaa	384
Asp	Gly	Ile	Trp	Ser	Thr	Asp	Ile	Leu	Lys	Asp	Gln	Lys	Glu	Pro	Lys	
				115					120					125		
aat	aag	acc	ttt	cta	aga	tgc	gag	gcc	aag	aat	tat	tct	gga	cgt	ttc	432
Asn	Lys	Thr	Phe	Leu	Arg	Cys	Glu	Ala	Lys	Asn	Tyr	Ser	Gly	Arg	Phe	
			130					135					140			
acc	tgc	tgg	tgg	ctg	acg	aca	atc	agt	act	gat	ttg	aca	ttc	agt	gtc	480
Thr	Cys	Trp	Trp	Leu	Thr	Thr	Ile	Ser	Thr	Asp	Leu	Thr	Phe	Ser	Val	
		145					150						155			
aaa	agc	agc	aga	ggc	tct	tct	gac	ccc	caa	ggg	gtg	acg	tgc	gga	gct	528
Lys	Ser	Ser	Arg	Gly	Ser	Ser	Asp	Pro	Gln	Gly	Val	Thr	Cys	Gly	Ala	
	160					165					170					
gct	aca	atc	tct	gca	gag	aga	gtc	aga	ggg	gac	aac	aag	gag	tat	gag	576
Ala	Thr	Leu	Ser	Ala	Glu	Arg	Val	Arg	Gly	Asp	Asn	Lys	Glu	Tyr	Glu	
175				180						185					190	
tac	tca	gtg	gag	tgc	cag	gag	gac	agt	gcc	tgc	cca	gct	gct	gag	gag	624
Tyr	Ser	Val	Glu	Cys	Gln	Glu	Asp	Ser	Ala	Cys	Pro	Ala	Ala	Glu	Glu	
				195					200					205		
agt	ctg	ccc	att	gag	gtc	atg	gtg	gat	gcc	ggt	cac	aag	ctc	aag	tat	672
Ser	Leu	Pro	Ile	Glu	val	Met	Val	Asp	Ala	Val	His	Lys	Leu	Lys	Tyr	
			210					215					220			
gaa	aac	tac	acc	agc	agc	ttc	ttc	atc	agg	gac	atc	atc	aaa	cct	gac	720
Glu	Asn	Tyr	Thr	Ser	Ser	Phe	Phe	Ile	Arg	Asp	Ile	Ile	Lys	Pro	Asp	
		225					230					235				
cca	ccc	aac	aac	ttg	cag	ctg	aag	cca	tta	aag	aat	tct	cgg	cag	gtg	768
Pro	Pro	Asn	Asn	Leu	Gln	Leu	Lys	Pro	Leu	Lys	Asn	ser	Arg	Gln	Val	
	240					245					250					
gag	gtc	agc	tgg	gag	tac	cct	gac	acc	tgg	agt	act	cca	cat	tcc	tac	816
Glu	Val	Ser	Trp	Glu	Tyr	Pro	Asp	Thr	Trp	Ser	Thr	Pro	His	Ser	Tyr	
255					260					265					270	
ttc	tcc	ctg	aca	ttc	tgc	gtt	cag	gtc	cag	ggc	aag	agc	aag	aga	gaa	864
Phe	Ser	Leu	Thr	Phe	Cys	Val	Gln	Val	Gln	Gly	Lys	Ser	Lys	Arg	Glu	
			275						280					285		
aag	aaa	gat	aga	gtc	ttc	acc	gac	aag	acc	tca	gcc	acg	gtc	atc	tgc	912
Lys	Lys	Asp	Arg	Val	Phe	Thr	Asp	Lys	Thr	Ser	Ala	Thr	Val	Ile	Cys	
			290				295						300			
cgc	aaa	aat	gcc	agc	att	agc	gtg	cgg	gcc	cag	gac	cgc	tac	tat	agc	960
Arg	Lys	Asn	Ala	Ser	Ile	Ser	Val	Arg	Ala	Gln	Asp	Arg	Tyr	Tyr	Ser	
		305					310						315			
tca	tct	tgg	agc	gaa	tgg	gca	tct	gtg	ccc	tgc	agt	ggt	agc	ggc	tct	1008
Ser	Ser	Trp	Ser	Glu	Trp	Ala	Ser	Val	Pro	Cys	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	
	320					325					330					
tct	aga	ggt	gga	tca	ggc	tcc	gga	ggt	agt	gga	ggt	ggg	gga	tct	aag	1056
Ser	Arg	Gly	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Lys	
335					340					345					350	

ES 2 367 302 T3

ctt	aga	gct	gtg	cct	ggg	ggc	agc	agc	cct	gcc	tgg	act	cag	tgc	cag	1104
Leu	Arg	Ala	Val	Pro	Gly	Gly	Ser	Ser	Pro	Ala	Trp	Thr	Gln	Cys	Gln	
				355					360					365		
cag	ctt	tca	cag	aag	ctc	tgc	aca	ctg	gcc	tgg	agt	gca	cat	cca	cta	1152
Gln	Leu	Ser	Gln	Lys	Leu	Cys	Thr	Leu	Ala	Trp	Ser	Ala	His	Pro	Leu	
			370					375					380			
gtg	gga	cac	atg	gat	cta	aga	gaa	gag	gga	gat	gaa	gag	act	aca	aat	1200
Val	Gly	His	Met	Asp	Leu	Arg	Glu	Glu	Gly	Asp	Glu	Glu	Thr	Thr	Asn	
		385					390					395				
gat	ggt	ccc	cat	atc	cag	tgt	gga	gat	ggc	tgt	gac	ccc	caa	gga	ctc	1248
Asp	Val	Pro	His	Ile	Gln	Cys	Gly	Asp	Gly	Cys	Asp	Pro	Gln	Gly	Leu	
	400					405					410					
agg	gac	aac	agt	cag	ttc	tgc	ttg	caa	agg	atc	cac	cag	ggg	ctg	att	1296
Arg	Asp	Asn	Ser	Gln	Phe	Cys	Leu	Gln	Arg	Ile	His	Gln	Gly	Leu	Ile	
415					420					425					430	
ttt	tat	gag	aag	ctg	cta	gga	tcg	gat	att	ttc	aca	ggg	gag	cct	tct	1344
Phe	Tyr	Glu	Lys	Leu	Leu	Gly	Ser	Asp	Ile	Phe	Thr	Gly	Glu	Pro	ser	
			435					440					445			
ctg	ctc	cct	gat	agc	cct	gtg	gcg	cag	ctt	cat	gcc	tcc	cta	ctg	ggc	1392
Leu	Leu	Pro	Asp	ser	Pro	Val	Ala	Gln	Leu	His	Ala	Ser	Leu	Leu	Gly	
			450					455					460			
ctc	agc	caa	ctc	ctg	cag	cct	gag	ggg	cac	cac	tgg	gag	act	cag	cag	1440
Leu	Ser	Gln	Leu	Leu	Gln	Pro	Glu	Gly	His	His	Trp	Glu	Thr	Gln	Gln	
		465					470					475				
att	cca	agc	ctc	agt	ccc	agc	cag	cca	tgg	cag	cgt	ctc	ctt	ctc	cgc	1488
Ile	Pro	Ser	Leu	Ser	Pro	Ser	Gln	Pro	Trp	Gln	Arg	Leu	Leu	Leu	Arg	
	480					485					490					
ttc	aaa	atc	ctt	cgc	agc	ctc	cag	gcc	ttt	gtg	gct	gta	gcc	gcc	cgg	1536
Phe	Lys	Ile	Leu	Arg	Ser	Leu	Gln	Ala	Phe	Val	Ala	Val	Ala	Ala	Arg	
495					500					505					510	
gtc	ttt	gcc	cat	gga	gca	gca	acc	ctg	agt	ccc	taagcggccg		c			1580
Val	Phe	Ala	His	Gly	Ala	Ala	Thr	Leu	Ser	Pro						
				515					520							

<210> 8

<211> 521

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5

<400> 8

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

ES 2 367 302 T3

Val	Lys	Glu	Phe	Gly	Asp	Ala	Gly	Gln	Tyr	Thr	Cys	His	Lys	Gly	Gly
				85					90					95	
Glu	Val	Leu	Ser	His	Ser	Leu	Leu	Leu	Leu	His	Lys	Lys	Glu	Asp	Gly
			100					105					110		
Ile	Trp	Ser	Thr	Asp	Ile	Leu	Lys	Asp	Gln	Lys	Glu	Pro	Lys	Asn	Lys
		115					120					125			
Thr	Phe	Leu	Arg	Cys	Glu	Ala	Lys	Asn	Tyr	Ser	Gly	Arg	Phe	Thr	Cys
	130					135					140				
Trp	Trp	Leu	Thr	Thr	Ile	Ser	Thr	Asp	Leu	Thr	Phe	Ser	Val	Lys	Ser
145					150					155					160
Ser	Arg	Gly	Ser	Ser	Asp	Pro	Gln	Gly	Val	Thr	Cys	Gly	Ala	Ala	Thr
				165					170					175	
Leu	Ser	Ala	Glu	Arg	Val	Arg	Gly	Asp	Asn	Lys	Glu	Tyr	Glu	Tyr	Ser
			180					185					190		
Val	Glu	Cys	Gln	Glu	Asp	Ser	Ala	Cys	Pro	Ala	Ala	Glu	Glu	Ser	Leu
		195					200					205			
Pro	Ile	Glu	Val	Met	Val	Asp	Ala	Val	His	Lys	Leu	Lys	Tyr	Glu	Asn
	210					215					220				
Tyr	Thr	Ser	Ser	Phe	Phe	Ile	Arg	Asp	Ile	Ile	Lys	Pro	Asp	Pro	Pro
225					230					235					240
Asn	Asn	Leu	Gln	Leu	Lys	Pro	Leu	Lys	Asn	Ser	Arg	Gln	Val	Glu	Val
				245					250					255	
Ser	Trp	Glu	Tyr	Pro	Asp	Thr	Trp	Ser	Thr	Pro	His	Ser	Tyr	Phe	Ser
			260					265					270		
Leu	Thr	Phe	Cys	Val	Gln	Val	Gln	Gly	Lys	Ser	Lys	Arg	Glu	Lys	Lys
		275					280					285			
Asp	Arg	Val	Phe	Thr	Asp	Lys	Thr	Ser	Ala	Thr	Val	Ile	Cys	Arg	Lys
	290					295					300				
Asn	Ala	Ser	Ile	Ser	Val	Arg	Ala	Gln	Asp	Arg	Tyr	Tyr	Ser	Ser	Ser
305					310					315					320
Trp	Ser	Glu	Trp	Ala	Ser	Val	Pro	Cys	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Ser	Arg
				325					330					335	
Gly	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Lys	Leu	Arg
			340					345					350		
Ala	Val	Pro	Gly	Gly	Ser	Ser	Pro	Ala	Trp	Thr	Gln	Cys	Gln	Gln	Leu
		355					360					365			
Ser	Gln	Lys	Leu	Cys	Thr	Leu	Ala	Trp	Ser	Ala	His	Pro	Leu	Val	Gly
	370					375					380				
His	Met	Asp	Leu	Arg	Glu	Glu	Gly	Asp	Glu	Glu	Thr	Thr	Asn	Asp	Val
385					390					395					400
Pro	His	Ile	Gln	Cys	Gly	Asp	Gly	Cys	Asp	Pro	Gln	Gly	Leu	Arg	Asp
				405					410					415	
Asn	Ser	Gln	Phe	Cys	Leu	Gln	Arg	Ile	His	Gln	Gly	Leu	Ile	Phe	Tyr
			420					425					430		
Glu	Lys	Leu	Leu	Gly	Ser	Asp	Ile	Phe	Thr	Gly	Glu	Pro	Ser	Leu	Leu
		435					440					445			



ES 2 367 302 T3

Pro	Asp	Ser	Pro	Val	Ala	Gln	Leu	His	Ala	Ser	Leu	Leu	Gly	Leu	Ser
	450					455					460				
Gln	Leu	Leu	Gln	Pro	Glu	Gly	His	His	Trp	Glu	Thr	Gln	Gln	Ile	Pro
465					470					475					480
Ser	Leu	Ser	Pro	Ser	Gln	Pro	Trp	Gln	Arg	Leu	Leu	Leu	Arg	Phe	Lys
				485					490					495	
Ile	Leu	Arg	Ser	Leu	Gln	Ala	Phe	Val	Ala	Val	Ala	Ala	Arg	Val	Phe
			500					505					510		
Ala	His	Gly	Ala	Ala	Thr	Leu	Ser	Pro							
		515					520								

<210> 9

<211> 711

<212> ADN

<213> Mus musculus

5 <400> 9

atgaccatgc	tctcactagc	tcctctcctc	agccttcttc	tcctctgtgt	ctctgattct	60
agggcagaaa	caactgtgac	ccagtctcca	gcacccctgt	ccgtggctac	aggagaaaaa	120
gtcactatca	gatgcataac	cagcactgat	attgatgatg	atatgatctg	gtaccagcag	180
aagccagggg	aacctcctaa	gctccttatt	tcagaaggca	atactcttcg	tcctggagtc	240
ccatcccgt	tctccagcag	tggctatggc	acagattttg	tttttacaat	tgaaaacacg	300
ctctcagaag	atgttgcaga	ttactactgt	ttgcaaagtg	ataacatgcc	tctcagttc	360
ggtgctggga	ccaaggtgga	gctgaaacgg	gctgatgctg	caccaactgt	atccatcttc	420
ccaccatcca	tggaacagtt	aacatctgga	ggtgccacag	tcgtgtgctt	cgtgaacaac	480
ttctatccca	gagacatcag	tgtcaagtgg	aagattgatg	gcagtgaaca	acgagatggt	540
gtcctggaca	gtgttactga	tcaggacagc	aaagacagca	cgtacagcat	gagcagcacc	600
ctctcgttga	ccaaggttga	atatgaaagg	cataacctct	atacctgtga	ggttgttcat	660
aagacatcat	cctcaccgt	cgtcaagagc	ttcaacagga	atgagtgtta	g	711

<210> 10

<211> 236

<212> PRT

<213> Mus musculus

10 <400> 10

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

# ES 2 367 302 T3

Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Ser	Ser	Gly	Tyr	Gly	Thr	Asp	Phe	Val	Phe	Thr
				85					90					95	
Ile	Glu	Asn	Thr	Leu	Ser	Glu	Asp	Val	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln
			100					105					110		
Ser	Asp	Asn	Met	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Leu
		115					120					125			
Lys	Arg	Ala	Asp	Ala	Ala	Pro	Thr	Val	Ser	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Met
	130					135					140				
Glu	Gln	Leu	Thr	Ser	Gly	Gly	Ala	Thr	Val	Val	Cys	Phe	Val	Asn	Asn
145					150					155					160
Phe	Tyr	Pro	Arg	Asp	Ile	Ser	Val	Lys	Trp	Lys	Ile	Asp	Gly	Ser	Glu
				165					170					175	
Gln	Arg	Asp	Gly	Val	Leu	Asp	Ser	Val	Thr	Asp	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp
			180					185					190		
Ser	Thr	Tyr	Ser	Met	Ser	Ser	Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Lys	Val	Glu	Tyr
		195					200					205			
Glu	Arg	His	Asn	Leu	Tyr	Thr	Cys	Glu	Val	Val	His	Lys	Thr	Ser	Ser
	210					215					220				
Ser	Pro	Val	Val	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Asn	Glu	Cys				
225					230					235					

<210> 11

<211> 1406

<212> ADN

<213> Mus musculus

5 <400> 11

atgggatgga	gctgtatcat	cctcttcttg	gtagcaacag	ctacaggtgt	ccaactcccag	60
gtccaactgc	agcagcctgg	ggctgagctg	gtgaggcctg	gggcttcagg	gaagctgtcc	120
tgcaaggctt	ctggctacac	cttcaccagc	tactggatga	actgggtgaa	gcagaggcct	180
ggacaaggcc	ttgaatggat	tggtatgatt	gatcctttag	acagtgaaac	tcactataat	240
caaatgttca	aggacaaggc	cacattgact	gtagacaaat	cctccagcac	agcctacatg	300
cagctcagca	gcctgacatc	tgaggactat	gcggtctatt	actgtgcaag	aggggataac	360
tactatgcta	tggactactg	gggtcaagga	acctcagtca	ccgtctcctc	agccaaaacg	420
acacccccat	ctgtctatcc	actggcccct	ggatctgctg	cccaaaactaa	ctccatggtg	480
accctgggat	gcctgggtcaa	gggctatttc	cctgagccag	tgacagtgac	ctggaactct	540
ggatccctgt	ccagcggtgt	gcacaccttc	ccagctgtcc	tgcagtctga	cctctacact	600
ctgagcagct	cagtgaactgt	cccctccagc	acctggccca	gcgagaccgt	cacctgcaac	660
gttgcccacc	cggccagcag	caccaagggtg	gacaagaaaa	ttgtgcccag	ggattgtggt	720
tgtaagcott	gcatatgtac	agtcccagaa	gtatcatctg	tcttcatctt	cccccaaaag	780
cccaaggatg	tgctcaccat	tactctgact	cctaagggtca	cgtgtgttgt	ggtagacatc	840
agcaaggatg	atcccagggt	ccagttcagc	tggtttgtag	atgatgtgga	gggtgcacaca	900
gctcagacgc	aacccccgga	ggagcagttc	aacagcactt	tccgctcagt	cagtgaactt	960
cccacatgac	accaggactg	gctcaatggc	aaggagttca	aatgcagggt	caacagtgca	1020

# ES 2 367 302 T3

```

gctttccctg      ccccatcgga      gaaaaccatc      tccaaaacca      aaggcagacc      gaaggetcca      1080
caggtgtaca      ccattccacc      tccaaggag      cagatggcca      aggataaagt      cagtctgacc      1140
tgcataataa      cagacttctt      ccctgaagac      attactgtgg      agtggcagtg      gaatgggcag      1200
ccagcggaga      actacaagaa      cactcagccc      atcatggact      cagatggctc      ttacttcgctc      1260
tacagcaagc      tcaatgtgca      gaagagcaac      tgggaggcag      gaaatacttt      cacctgctct      1320
gtgttacatg      agggcctgca      caaccacat      actgagaaga      gcctctccca      ctctcctggt      1380
aaatgatccc      agagtccagt      ggcccc

```

<210> 12

<211> 467

<212> PRT

<213> Mus musculus

5 <400> 12

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

# ES 2 367 302 T3

Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Val	Leu	Thr	Ile	Thr	Leu	Thr	Pro	Lys
			260					265					270		
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Ile	Ser	Lys	Asp	Asp	Pro	Glu	Val	Gln
		275					280					285			
Phe	Ser	Trp	Phe	Val	Asp	Asp	Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	Gln
	290					295					300				
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Ser	Val	Ser	Glu	Leu
305					310					315					320
Pro	Ile	Met	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Phe	Lys	Cys	Arg
				325					330					335	
Val	Asn	Ser	Ala	Ala	Phe	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
			340					345					350		
Thr	Lys	Gly	Arg	Pro	Lys	Ala	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Ile	Pro	Pro	Pro
		355					360					365			
Lys	Glu	Gln	Met	Ala	Lys	Asp	Lys	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Met	Ile	Thr
	370					375					380				
Asp	Phe	Phe	Pro	Glu	Asp	Ile	Thr	Val	Glu	Trp	Gln	Trp	Asn	Gly	Gln
385					390					395					400
Pro	Ala	Glu	Asn	Tyr	Lys	Asn	Thr	Gln	Pro	Ile	Met	Asp	Ser	Asp	Gly
				405					410					415	
Ser	Tyr	Phe	Val	Tyr	Ser	Lys	Leu	Asn	Val	Gln	Lys	Ser	Asn	Trp	Glu
			420					425					430		
Ala	Gly	Asn	Thr	Phe	Thr	Cys	Ser	Val	Leu	His	Glu	Gly	Leu	His	Asn
		435					440					445			
His	His	Thr	Glu	Lys	Ser	Leu	Ser	His	Ser	Pro	Gly	Lys	Ser	Gln	Ser
	450					455					460				
Pro	Val	Ala													
465															

**REIVINDICACIONES**

1. El uso de un agonista de la IL-23 en la preparación de un medicamento para tratar una herida o para mejorar la cicatrización de heridas, en el que el agonista comprende:
  - a. IL-23
  - 5 b. una proteína de fusión de IL-23; o
  - c. un anticuerpo o composición de unión que comprende la ubicación de unión al antígeno de un anticuerpo que se une específicamente a la IL-23 o al IL-23R.
2. El uso de la Reivindicación 1(a), en el que la IL-23 comprende un complejo de:
  - 10 a. un polipéptido que comprende p19, o una variante de la misma modificada de forma conservadora; y
  - b. un polipéptido que comprende p40, o una variante de la misma modificada de forma conservadora.
3. El uso de la Reivindicación 1(b), en el que la proteína de fusión de IL-23 comprende:
  - a. p19, o una variante de la misma modificada de forma conservadora; y
  - b. p40, o una variante de la misma modificada de forma conservadora.
- 15 4. El uso de un ácido nucleico que codifica un agonista de la IL-23 en la preparación de un medicamento para tratar una herida o mejorar la cicatrización de heridas, en el que el agonista comprende:
  - a. IL-23;
  - b. una proteína de fusión de IL-23; o
  - 20 c. un anticuerpo o composición de unión que comprende la ubicación de unión al antígeno de un anticuerpo que se une específicamente a la IL-23 o al IL-23R.
5. El uso de la Reivindicación 4, en el que el ácido nucleico comprende, además, un vector de expresión.
6. El uso de la Reivindicación 1, en el que la herida es:
  - a. una herida cutánea o de la piel;
  - b. una úlcera o un injerto.
- 25 7. El uso de la Reivindicación 1, en el que el tratamiento de una herida o la mejora de la cicatrización de la herida comprende una mayor:
  - a. angiogénesis; o
  - b. vigilancia inmunitaria.
- 30 8. El uso de un agonista de la IL-23 en la preparación de un medicamento para aumentar la angiogénesis, en el que el agonista comprende:
  - a. IL-23;
  - b. una proteína de fusión de IL-23; o
  - 35 c. un anticuerpo o composición de unión que comprende la ubicación de unión al antígeno de un anticuerpo que se une específicamente a la IL-23 o al IL-23R.
9. El uso de la Reivindicación 8(a), en el que la IL-23 comprende un complejo de:
  - a. un polipéptido que comprende p19, o una variante de la misma modificada de forma conservadora; y
  - b. un polipéptido que comprende p40, o una variante de la misma modificada de forma conservadora.
- 40 10. El uso de la Reivindicación 8(b), en el que la proteína de fusión de IL-23 comprende:

- a. p19, o una variante de la misma modificada de forma conservadora; y
  - b. p40, o una variante de la misma modificada de forma conservadora.
- 5      **11.** El uso de un ácido nucleico que codifica un agonista de la IL-23 en la preparación de un medicamento para aumentar la angiogénesis, en el que el agonista comprende:
- a. IL-23;
  - b. una proteína de fusión de IL-23; o
  - c. un anticuerpo o composición de unión que comprende la ubicación de unión al antígeno de un anticuerpo que se une específicamente a la IL-23 o al IL-23R.
- 12.** El uso de la Reivindicación 11, en el que el ácido nucleico comprende, además, un vector de expresión.
- 10      **13.** Un agonista de la IL-23 para ser utilizado en el tratamiento de una herida, en el que el agonista comprende:
- a. IL-23;
  - b. una proteína de fusión de IL-23; o
  - c. un anticuerpo o composición de unión que comprende la ubicación de unión al antígeno de un anticuerpo que se une específicamente a la IL-23 o al IL-23R.
- 15      **14.** El agonista a utilizar de la Reivindicación 13(a), que comprende un complejo de:
- a. un polipéptido que comprende p19, o una variante de la misma modificada de forma conservadora; y
  - b. un polipéptido que comprende p40, o una variante de la misma modificada de forma conservadora.
- 15.** El agonista a utilizar de la Reivindicación 13(b), que comprende una proteína de fusión que comprende:
- 20      a. p19, o una variante de la misma modificada de forma conservadora; y
- b. p40, o una variante de la misma modificada de forma conservadora.
- 16.** Un ácido nucleico que codifica un agonista de la IL-23 para ser utilizado en el tratamiento de una herida, en el que el agonista comprende:
- 25      a. IL-23;
- b. una proteína de fusión de IL-23; o
- c. un anticuerpo o composición de unión que comprende la ubicación de unión al antígeno de un anticuerpo que se une específicamente a la IL-23 o al IL-23R.
- 17.** El ácido nucleico a utilizar de la Reivindicación 16, que comprende, además, un vector de expresión.
- 18.** El agonista a utilizar de la Reivindicación 13, en el que la herida es:
- 30      a. una herida cutánea o de la piel;
- b. una úlcera o un injerto.
- 19.** Un agonista de la IL-23 para un uso *in vivo* para aumentar la angiogénesis, en el que el agonista comprende:
- a. IL-23;
  - b. una proteína de fusión de IL-23; o
  - c. un anticuerpo o composición de unión que comprende la ubicación de unión al antígeno de un anticuerpo que se une específicamente a la IL-23 o al IL-23R.
- 35      **20.** El agonista a utilizar de la Reivindicación 19 (a), que comprende un complejo de:
- a. un polipéptido que comprende p19, o una variante de la misma modificada de forma conservadora; y
  - b. un polipéptido que comprende p40, o una variante de la misma modificada de forma conservadora.
- 40

21. El agonista a utilizar de la Reivindicación 19(b), que comprende una proteína de fusión que comprende:
- a. p19, o una variante de la misma modificada de forma conservadora; y
  - b. residuos de p40, o una variante de la misma modificada de forma conservadora.
- 5 22. Un ácido nucleico que codifica un agonista de la IL-23 para un uso *in vivo* para aumentar la angiogénesis, en el que el agonista comprende:
- a. IL-23;
  - b. una proteína de fusión de IL-23; o
  - c. un anticuerpo o composición de unión que comprende la ubicación de unión al antígeno de un anticuerpo que se une específicamente a la IL-23 o al IL-23R.
- 10 23. El ácido nucleico a utilizar de la Reivindicación 22, que comprende, además, un vector de expresión.