

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 374 429**

51 Int. Cl.:
C12N 15/24 (2006.01)
C07K 14/54 (2006.01)
A61K 38/20 (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07014088 .4**
96 Fecha de presentación: **10.01.2000**
97 Número de publicación de la solicitud: **1895006**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **05.03.2008**

54 Título: **CITOQUINAS DE MAMÍFERO RELACIONADAS CON INTERLEUQUINA 17. POLINUCLEÓTIDOS QUE LAS CODIFICAN. USOS.**

30 Prioridad:
11.01.1999 US 228822

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.02.2012

73 Titular/es:
**SCHERING CORPORATION
2000 GALLOPING HILL ROAD
KENILWORTH, NJ 07033-0530, US**

72 Inventor/es:
**Gorman, Daniel, M.;
Bazan, J., Fernando;
Kastelein, Robert, A. y
Zurawski, Gerard**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 374 429 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

Citoquinas de mamífero relacionadas con interleuquina 17. Polinucleótidos que las codifican. Usos

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a composiciones relacionadas con proteínas que funcionan en el control de la fisiología, desarrollo y diferenciación de células de mamífero, por ejemplo células del sistema inmunológico de un mamífero. En particular, proporciona anticuerpos que regulan la fisiología, desarrollo, diferenciación celular o la función de varios tipos de células, incluidas las células hematopoyéticas.

Antecedentes de la invención

10 El sistema inmunológico de los vertebrados consiste en una serie de órganos y varios tipos de células diferentes. Dos tipos de células principales incluyen los linajes mieloide y linfoide. Entre las de linaje de células linfoides están las células B, que inicialmente se caracterizaron como que se diferenciaban en el hígado fetal o la médula ósea de adultos, y las células T, que inicialmente se caracterizaron como que se diferenciaban en el timo. Véase, por ejemplo, Paul (ed. 1998) Fundamental Immunology (4ª ed.) Raven Press, New York.

15 En muchos aspectos del desarrollo de una respuesta inmunitaria o diferenciación celular, las proteínas solubles conocidas como citoquinas desempeñan un papel crucial en la regulación de las interacciones celulares. Aparentemente, estas citoquinas median en las actividades celulares de muchos modos. En muchos casos se ha demostrado que modulan la proliferación, el crecimiento y la diferenciación de las células madre hematopoyéticas en el gran número de progenitores que componen los linajes responsables de una respuesta inmunitaria.

20 No obstante, las moléculas celulares que se expresan en diferentes estadios de las células de estas vías de maduración siguen sin estar completamente identificadas. Además, los papeles y mecanismos de acción de las moléculas de señalización que inducen, sostienen o modular los diversos estados fisiológicos, del desarrollo o proliferativos de estas células no se entienden del todo. Claramente, el sistema inmunológico y su respuesta a varias tensiones ha sido relevante para la medicina, por ejemplo enfermedades infecciosas, respuestas y tratamiento relacionados con el cáncer, respuestas alérgicas y de rechazo a transplantes. Véase, por ejemplo, Thorn, y col. Harrison's Principles of Internal Medicine McGraw/Hill, New York.

25 La ciencia médica depende, en gran medida, del reclutamiento o supresión adecuados del sistema inmunológico al efectuar curas para respuestas fisiológicas insuficientes o inadecuadas a factores ambientales. No obstante, la falta de conocimientos sobre cómo se regula o se diferencia el sistema inmunológico ha bloqueado la capacidad para modular de forma ventajosa los mecanismos de defensa normales a los retos biológicos. Por tanto, las afecciones médicas que se caracterizan por una regulación anormal o inadecuada del desarrollo de la fisiología de células relevantes siguen sin poder tratarse. El descubrimiento y caracterización de citoquinas específicas contribuirán al desarrollo de terapias para una amplia gama de afecciones degenerativas o de otro tipo que afectan al sistema inmunológico, las células hematopoyéticas, así como otros tipos de células. La presente invención proporciona soluciones a algunos de estos problemas y a muchos otros.

Sumario de la invención

35 La presente invención se basa, en parte, en el descubrimiento de clones de ADNc que codifican varias proteínas de tipo citoquina que exhiben una similitud de secuencia significativa con la citoquina denominada CTLA-8.

La invención abarca anticuerpos. También se proporcionan varios usos de estas composiciones proteicas.

40 En ciertos aspectos de ácido nucleico, un polinucleótido aislado o recombinante que comprende la secuencia de una IL-174 de mamífero, que: codifica al menos 8 aminoácidos contiguos de SEC ID N° 14; codifica al menos dos segmentos distintos de al menos 5 aminoácidos contiguos de SEC ID N° 14; o comprende uno o más segmentos de al menos 21 nucleótidos contiguos de SEC ID N° 14. Ciertos aspectos incluirán

45 (IL -174) que: codifica al menos 16 residuos aminoácidos contiguos de SEC ID N° 14; codifica al menos dos segmentos distintos de al menos 10 y 13 residuos aminoácidos contiguos de SEC ID N° 14; o comprende al menos 33 nucleótidos contiguos de SEC ID N° 13; o comprende toda la porción de codificación madura de SEC ID N° 13.

Se describen varios procedimientos, por ejemplo fabricando: a) un polipéptido que comprende expresar el vector de expresión descrito, de modo que se produce el polipéptido; b) un ácido nucleico dúplex que comprende poner en contacto un polinucleótido descrito con un ácido nucleico complementario, de modo que da lugar a la producción del ácido nucleico dúplex; o c) un polinucleótido descrito que comprende amplificar usando un procedimiento de PCR.

50 Como alternativa, un polinucleótido aislado o recombinante se describe en el presente documento, que hibrida en condiciones de lavado rigurosas de al menos 55 °C y menos de 400 mM de la sal con el polinucleótido (IL-174) descrito que consiste en la porción de codificación de SEC ID N° 13.

Otros aspectos incluyen dicho polinucleótido descrito: a) en el que las condiciones de lavado son al menos 65 °C y

menos de 300 mM de sal; o b) que comprende al menos 50 nucleótidos contiguos de la porción de codificación de SEC ID N° 13 (IL-174)

5 En el presente documento se describen ciertos kit que, por ejemplo, comprenden un polinucleótido descrito, y: a) instrucciones de uso del polinucleótido para detección; b) instrucciones para la eliminación del polinucleótido u otros reactivos del kit; o c) a y b.

En el presente documento también se describen varias células, por ejemplo una célula que contiene el vector de expresión, en la que la célula es: una células procariota; una célula eucariota; una célula bacteriana; una célula de levadura; una célula de insecto; una célula de mamífero; células de ratón; una célula de primate; o una célula humana.

10 Los aspectos polipeptídicos incluye, por ejemplo, un polipéptido antigénico recombinante o aislado (IL-174) que comprende al menos: 1) un segmento de 8 residuos aminoácidos contiguos de SEC ID N° 14 o ii) dos segmentos distintos de al menos 5 aminoácidos contiguos de SEC ID N° 14.

15 Otros aspectos incluyen dicho polipéptido descrito, en el que: a) el segmento de 8 aminoácidos contiguos idénticos es de al menos 14 aminoácidos contiguos; o b) uno de los segmentos de al menos 5 aminoácidos contiguos comprende al menos 7 aminoácidos contiguos. Otros aspectos incluyen un polipéptido descrito, en el que (IL-174), el polipéptido: a) comprende la SEC ID N° 14 madura; b) se une con selectividad a un anticuerpo policlonal generado contra un inmunógeno de la SEC ID N° 14; c) comprende una pluralidad de distintos segmentos polipeptídicos de 10 aminoácidos contiguos de SEC ID N° 14; d) tiene una longitud de al menos 30 aminoácidos; o e) exhibe al menos dos epítomos no solapantes que son selectivos de la SEC ID N° 14 madura.

20 Otros varios aspectos incluyen dicho polipéptido descrito, que: a) está en una composición estéril; b) no está glicosilado; c) está desnaturalizado; d) es un polipéptido sintético; e) está unido a un sustrato sólido; f) es una proteína de fusión con un marcador de detección o purificación; g) es una sustitución 5 veces o menor de una secuencia natural; o h) es una variante de delección o inserción de una secuencia natural.

25 También se divulgan procedimientos de uso de los polipéptidos descritos, por ejemplo: a) para marcar el polipéptido, que comprenden marcar el polipéptido con un marcador radioactivo; b) para separar el polipéptido de otro polipéptido en una mezcla, que comprende pasar la mezcla en una matriz cromatográfica de modo que se separan los polipéptidos; c) para identificar un compuesto que se une de forma selectiva al polipéptido, que comprende incubar el compuesto con el polipéptido en condiciones adecuadas; de modo que el compuesto se une al polipéptido; o d) para conjugar el polipéptido a una matriz, que comprende derivar el polipéptido con un reactivo reactivo y conjugar el polipéptido a la matriz.

30 También se proporcionan anticuerpos, incluido un compuesto de unión que comprende una porción de unión a antígeno de un anticuerpo que se une con selectividad a dicho polipéptido descrito, en el que el polipéptido (IL-174) comprende la SEC ID N° 14.

35 Ciertas realizaciones abarcan dicho un compuesto de unión, en el que el anticuerpo es un anticuerpo policlonal que se produce contra el polipéptido de (IL-174) de la SEC ID N 14.

Otros aspectos incluyen dicho compuesto de unión descrito, en el que: a) anticuerpo: i) se inmunoselecciona; ii) se une a una proteína desnaturalizada; o iii) exhibe una kd al polipéptido de al menos 30 Mm; o b) compuesto de unión: i) está fijado a un sustrato sólido, incluido una perla o membrana de plástico; ii) es una composición estéril; o iii) está marcado de forma detectable, incluido un marcador radioactivo o fluorescente.

40 Se describen procedimientos que, por ejemplo, producen un complejo antígeno-anticuerpo, que comprenden poner en contacto un polipéptido que comprende la secuencia de la SEC ID N° 14 con un compuesto de unión descrito, en condiciones que permiten la formación del complejo. Preferentemente, el compuesto de unión es un anticuerpo y el polipéptido es una muestra biológica.

Se proporcionan kit que, por ejemplo, comprenden un compuesto de unión descrito, y:

45 a) un polipéptido de la SEC ID N° 14;
b) instrucciones de uso del compuesto de unión para detección; o c) instrucciones para la eliminación del compuesto de unión u otros reactivos del kit.

50 Y se describe un procedimiento de evaluar la selectividad de la unión de un anticuerpo a una proteína de la SEC ID N° 14 que comprende poner en contacto un anticuerpo descrito con la proteína y otra citoquina; y comparar la unión del anticuerpo a la proteína y a la citoquina.

Descripción detallada de las formas de realización preferidas

I. General.

En el presente documento se describen secuencias de ADN que codifican varias proteínas de mamífero que exhiben rasgos característicos estructurales de citoquinas, en particular relacionadas con la citoquina denominada CTLA-8 (también denominada IL-17). Se han descrito formas de rata, ratón, ser humano y un homólogo viral de la CTLA-8 y sus secuencias disponibles de GenBank. Véase Rouvier y col. (1993) *J. Immunol.* 150:5445-5456; Yao, y col. (1995) *Immunity* 3:811-821; Yao, y col. (1995) *J. Immunol.* 155:5483-5486; y Kennedy y col. (1996) *J. Interferon and Cytokine Res.* 16:611-617. La CTLA-8 tiene actividades implicadas en la artritis, el rechazo de injerto de riñón, la tumorigenicidad, las interacciones virus-huésped y la inmunidad innata; y parece exhibir ciertas funciones reguladores similares a la IL-6. Véase PubMed (búsqueda por IL-17); Chabaud, y col. (1998) *J. Immunol.* 63:139-148; Amin, y col. (1998) *Curr. Opin. Rheumatol.* 10:263-268; Van Kooten, y col. (1998) *J. Am. Soc. Nephrol.* 9:1526-1534; Fossiez, y col. (1998) *Int. Rev. Immunol.* 16:541-551; Knappe, y col. (1998) *J. Virol.* 72:5797-5801; Seow (1998) *Vet. Immuno. Immunopathol.* 63:139-48; y Teunissen, y col. (1998) *J. Invest. Dermatol.* 111:645-649. Un informe sobre la señalización a través del factor de transcripción NFκB implica una vía de señal que se usa en la inmunidad innata. Shalom-Barak, y col. (1998) *J. Biol. Chem.* 273:27467-27473.

En el presente documento, las secuencias de ADNc presentadas exhiben varios rasgos característicos de los ARNm que codifican citoquinas, factores de crecimiento y oncogenes. Dado que la IL-17 es el primer miembro de esta recién reconocida familia de citoquinas relacionada con el TGF-β, los solicitantes han designado la familia IL-170, con los miembros nuevos IL-172, IL-173, IL-174, IL-176, IL-177; and IL-171 and IL-175. Se ha predicho que el plegamiento para esta familia es en de la familia de citoquinas del TGF-β. La familia de citoquinas del TGF-β y la familia de la IL-170 comparten la característica común de un motivo en nudo de cistina, que se caracteriza por un espaciado particular de los residuos de cisteína. Véase, por ejemplo, Sun y Davies (1995) *Ann. Rev. Biophys. Biomolec. Struct.* 24: 269-291; McDonald, y col. (1993) *Cell* 73:421-424; y Isaacs (1995) *Curr. Op. Struct. Biol.* 5:391-395. En particular, las estructuras sugieren un número conservado de cisteínas que corresponden y están numeradas a la IL-172 humana (SEC ID N° 2), las cisteínas en 101, 103, 143, 156, y 158. La primera cisteína corresponde a la posición en la Tabla 7 de la IL-172 humana (SEC ID N° 2) val19. La cuarta cisteína corresponde a la de la IL-172 de ratón (SEC ID N° 4) cys141; a la de la IL-173 humana (SEC ID N° 6) cys119; a la de la IL-174 de ratón (SEC ID N° 16) cys104; a la de la IL-171 humana (SEC ID N°: 21) cys50. Los puentes disulfuro deberían ser cisteínas 2 con 5, y 3 con 6, y 1 con 4. El significado funcional de la similitud del plegamiento sugiere la formación de dímeros para la familia de la IL-170. Como consecuencia, los dímeros de la IL-170 acercarían dos receptores de la superficie celular a través de los cuales se producirá la transducción de señal.

Estas nuevas proteínas se designan relacionadas con CTLA-8 o, en general, proteínas IL-170- Las proteínas naturales deberían ser capaces de mediar en varias respuestas fisiológicas, lo que conduciría a las respuestas biológicas o fisiológicas en las células diana, por ejemplo las respuestas características de la señalización de citoquinas. Los estudios iniciales habían localizado el mensaje que codifica esta proteína a varias líneas celulares de células hematopoyéticas. Los genes que codifican el antígeno de CTLA-8 (IL-17) original se han mapeado en el cromosoma 1A de ratón y el cromosoma 2q31 humano. La CTLA-8 murina fue originalmente clonada por Rouvier y col. (1993) *J. Immunol.* 150:5445-5456. La IL-173 humana se ha mapeado en el cromosoma 13q11. También deberían estar disponibles secuencias similares para proteínas en otras especies de mamífero.

La CTLA-8 purificada, cuando se cultiva con sinoviocitos, es capaz de inducir la secreción de IL-6 a partir de estas células. Esta inducción se invierte con la adición de un anticuerpo neutralizante producido contra la CTLA-8 humana. Las células endoteliales, epiteliales fibroblastos y de carcinoma también exhiben respuestas al tratamiento con CTLA-8. Este dato sugiere que la CTLA-8 puede estar implicada en la fibrosis inflamatoria, por ejemplo psoriasis, esclerodermia, fibrosis pulmonar o cirrosis. La CTLA-8 puede también producir proliferación de carcinomas u otras células en cuando a que la IL-6 a menudo actúa como factor de crecimiento para dichas células. Como tal, es probable que los otros recién descubiertos miembros de la familia relacionados tengan actividades biológicas similares o relacionadas.

Las siguientes descripciones están dirigidas, a modo de ejemplo, anticuerpos frente a la IL-174 murina o humana, pero asimismo son aplicables a realizaciones relacionadas de otras especies.

II. Ácidos nucleicos

Las Tabla 1-6 divulgan las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de varias secuencias de nuevos miembros de la familia de la IL-170. Las secuencias de nucleótidos descritas y los reactivos relacionados son útiles en la construcción de clones de ADN útiles para extender los clones en ambas direcciones para la determinación de la secuencia de longitud completa o flanqueante, expresar polipéptidos de IL-170 o, por ejemplo, aislar un gen homólogo de otra fuente natural. Normalmente, las secuencias serán útiles en el aislamiento de otros genes, por ejemplo variantes alélicas, de ratón, y se aplicarán procedimientos similares para aislar genes de otras especies, por ejemplo animales de sangre caliente, tales como aves y mamíferos. La hibridación cruzada permitirá el aislamiento de genes de otras especies. Deberá estar disponible una serie de estrategias diferentes para aislar con éxito un clon de ácido nucleico adecuado de otras fuentes.

Tabla 1: Secuencia de nucleótidos que codifican un polipéptido IL-172 de primate, por ejemplo de ser humano, y la secuencia de aminoácidos prevista. También se pueden usar secuencias de ácido nucleico complementarias para muchos fines. Se indica el sitio de escisión de la señal predicha, pero puede haber unos pocos residuos en ambos

ES 2 374 429 T3

lados; sitio de glicosilación supuesto en los residuos 55-57. SEC ID N° 1 y 2.

ATG	GAC	TGG	CCT	CAC	AAC	CTG	CTG	TTT	CTT	CTT	ACC	ATT	TCC	ATC	TTC	48
Met	Asp	Trp	Pro	His	Asn	Leu	Leu	Phe	Leu	Leu	Thr	Ile	Ser	Ile	Phe	
-20					-15					-10					-5	
CTG	GGG	CTG	GGC	CAG	CCC	AGG	AGC	CCC	AAA	AGC	AAG	AGG	AAG	GGG	CAA	96
Leu	Gly	Leu	Gly	Gln	Pro	Arg	Ser	Pro	Lys	Ser	Lys	Arg	Lys	Gly	Gln	
				1				5					10			
GGG	CGG	CCT	GGG	CCC	CTG	GTC	CCT	GGC	CCT	CAC	CAG	GTG	CCA	CTG	GAC	144
Gly	Arg	Pro	Gly	Pro	Leu	Val	Pro	Gly	Pro	His	Gln	Val	Pro	Leu	Asp	
		15					20					25				
CTG	GTG	TCA	CGG	ATG	AAA	CCG	TAT	GCC	CGC	ATG	GAG	GAG	TAT	GAG	AGG	192
Leu	Val	Ser	Arg	Met	Lys	Pro	Tyr	Ala	Arg	Met	Glu	Glu	Tyr	Glu	Arg	
	30					35					40					
AAC	ATC	GAG	GAG	ATG	GTG	GCC	CAG	CTG	AGG	AAC	AGC	TCA	GAG	CTG	GCC	240
Asn	Ile	Glu	Glu	Met	Val	Ala	Gln	Leu	Arg	Asn	Ser	Ser	Glu	Leu	Ala	
45					50					55					60	
CAG	AGA	AAG	TGT	GAG	GTC	AAC	TTG	CAG	CTG	TGG	ATG	TCC	AAC	AAG	AGG	288
Gln	Arg	Lys	Cys	Glu	Val	Asn	Leu	Gln	Leu	Trp	Met	Ser	Asn	Lys	Arg	
				65					70					75		
AGC	CTG	TCT	CCC	TGG	GGC	TAC	AGC	ATC	AAC	CAC	GAC	CCC	AGC	CGT	ATC	336
Ser	Leu	Ser	Pro	Trp	Gly	Tyr	Ser	Ile	Asn	His	Asp	Pro	Ser	Arg	Ile	
			80					85					90			
CCC	GTG	GAC	CTG	CCG	GAG	GCA	CGG	TGC	CTG	TGT	CTG	GGC	TGT	GTG	AAC	384
Pro	Val	Asp	Leu	Pro	Glu	Ala	Arg	Cys	Leu	Cys	Leu	Gly	Cys	Val	Asn	
		95					100					105				
CCC	TTC	ACC	ATG	CAG	GAG	GAC	CGC	AGC	ATG	GTG	AGC	GTG	CCG	GTG	TTC	432
Pro	Phe	Thr	Met	Gln	Glu	Asp	Arg	Ser	Met	Val	Ser	Val	Pro	Val	Phe	
	110					115					120					
AGC	CAG	GTT	CCT	GTG	CGC	CGC	CGC	CTC	TGC	CCG	CCA	CCG	CCC	CGC	ACA	480
Ser	Gln	Val	Pro	Val	Arg	Arg	Arg	Leu	Cys	Pro	Pro	Pro	Pro	Arg	Thr	
125					130					135					140	
GGG	CCT	TGC	CGC	CAG	CGC	GCA	GTC	ATG	GAG	ACC	ATC	GCT	GTG	GGC	TGC	528
Gly	Pro	Cys	Arg	Gln	Arg	Ala	Val	Met	Glu	Thr	Ile	Ala	Val	Gly	Cys	
				145					150					155		
ACC	TGC	ATC	TTC	TGA												543
Thr	Cys	Ile	Phe													
			160													

MDWPHNLLFLLTISIFLGLG QPRSPKSKRKQGGRPGPLVPGPHQVPLDLVSRMKPYARMEEYERN
 IEEMVAQLRNSSELAQRKCEVNLQLWMSNKRSLSPWGY SINHDPSRIPVDLPEARCLCLGCVNPFT
 MQEDRSMSVSPVFSQVFPVRRRLCPPPPRTGPCRQRAVMETIAVGCTCIF

5 Segmentos particularmente interesantes incluyen, por ejemplo los que comienzan o terminan con gln1; va119; pro20; pro22; lys34; pro35; leu78; ser79; glu98; ala99; phe110; thr111; cys143; o arg144.

Secuencia de nucleótidos que codifican un polipéptido IL-172 de roedor, por ejemplo de ratón, y la secuencia de aminoácidos prevista. También se pueden usar secuencias de ácido nucleico complementarias para muchos fines. Se indica el sitio de escisión de la señal predicha, pero puede haber unos pocos residuos en ambos lados; sitio de glicosilación supuesto en los residuos 53-55. SEC ID N° 3 y 4.

ATG GAC TGG CCG CAC AGC CTG CTC TTC CTC CTG GCC ATC TCC ATC TTC	48
Met Asp Trp Pro His Ser Leu Leu Phe Leu Leu Ala Ile Ser Ile Phe	
-22 -20 -15 -10	
CTG GCG CCA AGC CAC CCC CGG AAC ACC AAA GGC AAA AGA AAA GGG CAA	96
Leu Ala Pro Ser His Pro Arg Asn Thr Lys Gly Lys Arg Lys Gly Gln	
-5 1 5 10	
GGG AGG CCC AGT CCC TTG GCC CCT GGG CCT CAT CAG GTG CCG CTG GAC	144
Gly Arg Pro Ser Pro Leu Ala Pro Gly Pro His Gln Val Pro Leu Asp	
15 20 25	
CTG GTG TCT CGA GTA AAG CCC TAC GCT CGA ATG GAA GAG TAT GAG CGG	192
Leu Val Ser Arg Val Lys Pro Tyr Ala Arg Met Glu Glu Tyr Glu Arg	
30 35 40	
AAC CTT GGG GAG ATG GTG GCC CAG CTG AGG AAC AGC TCC GAG CCA GCC	240
Asn Leu Gly Glu Met Val Ala Gln Leu Arg Asn Ser Ser Glu Pro Ala	
45 50 55	
AAG AAG AAA TGT GAA GTC AAT CTA CAG CTG TGG TTG TCC AAC AAG AGG	288
Lys Lys Lys Cys Glu Val Asn Leu Gln Leu Trp Leu Ser Asn Lys Arg	
60 65 70	
AGC CTG TCC CCA TGG GGC TAC AGC ATC AAC CAC GAC CCC AGC CGC ATC	336
Ser Leu Ser Pro Trp Gly Tyr Ser Ile Asn His Asp Pro Ser Arg Ile	
75 80 85 90	
CCT GCG GAC TTG CCC GAG GCG CGG TGC CTA TGT TTG GGT TGC GTG AAT	384
Pro Ala Asp Leu Pro Glu Ala Arg Cys Leu Cys Leu Gly Cys Val Asn	
95 100 105	
CCC TTC ACC ATG CAG GAG GAC CGT AGC ATG GTG AGC GTG CCA GTG TTC	432
Pro Phe Thr Met Gln Glu Asp Arg Ser Met Val Ser Val Pro Val Phe	
110 115 120	
AGC CAG GTG CCG GTG CGC CGC CGC CTC TGT CCT CAA CCT CCT CGC CCT	480
Ser Gln Val Pro Val Arg Arg Arg Leu Cys Pro Gln Pro Pro Arg Pro	
125 130 135	
GGG CCC TGC CGC CAG CGT GTC GTC ATG GAG ACC ATC GCT GTG GGT TGC	528
Gly Pro Cys Arg Gln Arg Val Val Met Glu Thr Ile Ala Val Gly Cys	
140 145 150	
ACC TGC ATC TTC TGA	543
Thr Cys Ile Phe	
155	

MDWPHSLFLFLAISIFLAPSHP RNTKGKRKGQGRPSPLAPGPHQVPLDLVSRVKPYARMEEYERN
 LGEMVAQLRNSSEPAKKKCEVNLQLWLSNKRSLSPWGYSINHDPISRI PADLPEARCLCLGCVNPF
 T MQEDRSMSVSPVFSQVPVRRRLCPQPPRPGPCRQRVVMETIavgctCIF

Segmentos particularmente interesantes incluyen, por ejemplo los que comienzan o terminan con arg1; ala17; pro18; pro20; his21; lys32; pro33; leu76; ser77; glu96; ala97; phe108; thr109; cys141; o arg142.

5 Tabla 2: Secuencia de nucleótidos que codifican un polipéptido IL-173 de primate, por ejemplo de ser humano, y la secuencia de aminoácidos prevista. También se pueden usar secuencias de ácido nucleico complementarias para muchos fines. SEC ID N° 5 y 6.

ES 2 374 429 T3

TGC	GCG	GAC	CGG	CCG	GAG	GAG	CTA	CTG	GAG	CAG	CTG	TAC	GGG	CGC	CTG	48
Cys	Ala	Asp	Arg	Pro	Glu	Glu	Leu	Leu	Glu	Gln	Leu	Tyr	Gly	Arg	Leu	
1				5					10					15		
GCG	GCC	GGC	GTG	CTC	AGT	GCC	TTC	CAC	CAC	ACG	CTG	CAG	CTG	GGG	CCG	96
Ala	Ala	Gly	Val	Leu	Ser	Ala	Phe	His	His	Thr	Leu	Gln	Leu	Gly	Pro	
		20						25					30			
CGT	GAG	CAG	GCG	CGC	AAC	GCG	AGC	TGC	CCG	GCA	GGG	GGC	AGG	CCC	GCC	144
Arg	Glu	Gln	Ala	Arg	Asn	Ala	Ser	Cys	Pro	Ala	Gly	Gly	Arg	Pro	Ala	
		35					40					45				
GAC	CGC	CGC	TTC	CGG	ACG	CCC	ACC	AAC	CTG	CGC	AGC	GTG	TCG	CCC	TGG	192
Asp	Arg	Arg	Phe	Arg	Thr	Pro	Thr	Asn	Leu	Arg	Ser	Val	Ser	Pro	Trp	
	50					55					60					
GCC	TAC	AGA	ATC	TCC	TAC	GAC	CCG	GCG	AGG	TAC	CCC	AGG	TAC	CTG	CCT	240
Ala	Tyr	Arg	Ile	Ser	Tyr	Asp	Pro	Ala	Arg	Tyr	Pro	Arg	Tyr	Leu	Pro	
65					70					75					80	

GAA	GCC	TAC	TGC	CTG	TGC	CGG	GGC	TGC	CTG	ACC	GGG	CTG	TTC	GGC	GAG	288
Glu	Ala	Tyr	Cys	Leu	Cys	Arg	Gly	Cys	Leu	Thr	Gly	Leu	Phe	Gly	Glu	
				85					90					95		
GAG	GAC	GTG	CGC	TTC	CGC	AGC	GCC	CCT	GTC	TAC	ATG	CCC	ACC	GTC	GTC	336
Glu	Asp	Val	Arg	Phe	Arg	Ser	Ala	Pro	Val	Tyr	Met	Pro	Thr	Val	Val	
			100					105					110			
CTG	CGC	CGC	ACC	CCC	GCC	TGC	GCC	GGC	GGC	CGT	TCC	GTC	TAC	ACC	GAG	384
Leu	Arg	Arg	Thr	Pro	Ala	Cys	Ala	Gly	Gly	Arg	Ser	Val	Tyr	Thr	Glu	
		115				120						125				
GCC	TAC	GTC	ACC	ATC	CCC	GTG	GGC	TGC	ACC	TGC	GTC	CCC	GAG	CCG	GAG	432
Ala	Tyr	Val	Thr	Ile	Pro	Val	Gly	Cys	Thr	Cys	Val	Pro	Glu	Pro	Glu	
	130					135					140					
AAG	GAC	GCA	GAC	AGC	ATC	AAC	T									454
Lys	Asp	Ala	Asp	Ser	Ile	Asn										
145					150											

CADRPEELLEQLYGRLAAGVLSAFHHTLQLGPREQARNASC PAGGRPADRRFRTPTNLRS
VSPWAYRISYDPARYPRYLPEAYCLCRGCLTGLFGEEDVRFRSAPVYMPTVVLRRTPACA
GGRSVYTEAYVTIPVGCTCVPEPEKDADSIN

5

Secuencia de nucleótidos suplementaria que codifican un polipéptido IL-173 de primate, por ejemplo de ser humano, y la secuencia de aminoácidos prevista. También se pueden usar secuencias de ácido nucleico complementarias para muchos fines. SEC ID N° 7 y 8.

ES 2 374 429 T3

gcccgggacag	gtggcgacct	cgctcagtcg	gcttctcggg	ccaagtcgcc	gggtctgg	58
atg ctg gta gcc ggc ttc ctg ctg gcg ctg ccg ccg agc tgg gcc gcg	106					
Met Leu Val Ala Gly Phe Leu Leu Ala Leu Pro Pro Ser Trp Ala Ala						
-15 -10 -5						
ggc gcc ccg agc ggc ggc agg cgc ccc gcg cgg ccg cgg ggc tgc gcg	154					
Gly Ala Pro Arg Ala Gly Arg Arg Pro Ala Arg Pro Arg Gly Cys Ala						
-1 1 5 10 15						
gac cgg ccg gag gag cta ctg gag cag ctg tac ggg cgc ctg gcg gcc	202					
Asp Arg Pro Glu Glu Leu Leu Glu Gln Leu Tyr Gly Arg Leu Ala Ala						
20 25 30						
ggc gtg ctc agt gcc ttc cac cac acg ctg cag ctg ggg ccg cgt gag	250					
Gly Val Leu Ser Ala Phe His His Thr Leu Gln Leu Gly Pro Arg Glu						
35 40 45						
cag gcg cgc aac gcg agc tgc ccg gca ggg ggc agg ccc gcc gac cgc	298					
Gln Ala Arg Asn Ala Ser Cys Pro Ala Gly Gly Arg Pro Ala Asp Arg						
50 55 60						
cgc ttc cgg ccg ccc acc aac ctg cgc agc gtg tcg ccc tgg gcc tac	346					
Arg Phe Arg Pro Pro Thr Asn Leu Arg Ser Val Ser Pro Trp Ala Tyr						
65 70 75						
aga atc tcc tac gac ccg gcg agg tac ccc agg tac ctg cct gaa gcc	394					
Arg Ile Ser Tyr Asp Pro Ala Arg Tyr Pro Arg Tyr Leu Pro Glu Ala						
80 85 90 95						
tac tgc ctg tgc cgg ggc tgc ctg acc ggg ctg ttc ggc gag gag gac	442					
Tyr Cys Leu Cys Arg Gly Cys Leu Thr Gly Leu Phe Gly Glu Glu Asp						
100 105 110						
gtg cgc ttc cgc agc gcc cct gtc tac atg ccc acc gtc gtc ctg cgc	490					
Val Arg Phe Arg Ser Ala Pro Val Tyr Met Pro Thr Val Val Leu Arg						
115 120 125						

```

cgc acc ccc gcc tgc gcc ggc ggc cgt tcc gtc tac acc gag gcc tac 538
Arg Thr Pro Ala Cys Ala Gly Gly Arg Ser Val Tyr Thr Glu Ala Tyr
      130                      135                      140

gtc acc atc ccc gtg ggc tgc acc tgc gtc ccc gag ccg gag aag gac 586
Val Thr Ile Pro Val Gly Cys Thr Cys Val Pro Glu Pro Glu Lys Asp
      145                      150                      155

gca gac agc atc aac tcc agc atc gac aaa cag ggc gcc aag ctc ctg 634
Ala Asp Ser Ile Asn Ser Ser Ile Asp Lys Gln Gly Ala Lys Leu Leu
      160                      165                      170                      175

ctg ggc ccc aac gac gcg ccc gct ggc ccc tgaggccggt cctgccccgg 684
Leu Gly Pro Asn Asp Ala Pro Ala Gly Pro
                      180                      185

gaggtctccc cggcccgcac cccgaggcgc ccaagctgga gccgcctgga gggctcggtc 744

ggcgacctct gaagagagtg caccgagcaa accaagtgcc ggagcaccag cgccgccttt 804

ccatggagac tcgtaagcag cttcatctga cacgggcac cctggcttgc ttttagctac 864

aagcaagcag cgtggctgga agctgatggg aaacgaccgc gcacgggcat cctgtgtgcg 924

gcccgcatgg agggtttgga aaagtccacg gaggtccctt gaggagcctc tcagatcggc 984

tgctgcgggg gcagggcgtg actcaccgct gggtgcttgc caaagagata gggacgcata 1044

tgctttttta agcaatctaa aaataataat aagtatagcg actatatacc tacttttaaa 1104

atcaactggt ttgaatagag gcagagctat tttatattat caaatgagag ctactctggt 1164

acatttctta acatataaac atcgtttttt acttcttctg gtagaatttt ttaaagcata 1224

attggaatcc ttggataaat tttgtagctg gtacactctg gcctgggtct ctgaattcag 1284

cctgtcaccg atggctgact gatgaaatgg acacgtctca tctgaccac tcttccttcc 1344

actgaaggtc ttcacgggccc tccaggcctc gtgccgaatt c 1385

MLVAGFLLALPPSWAAGAPRAGRRPARPRGCADRPEELLEQLYGRLLAAGVLSAFHHTLQLGPREQARNA
SCPAGGRPADRRFRPPTNLRVSPWAYRISYDPARYPRYLPEAYCLCRGCLTGLFGEDVFRFRSAPVYM
PTVVLRRTPACAGGRSVYTEAYVTIPVGCTCVPEPEKDADSINSSIDKQAKLLLGPNDAFAGP
    
```

Motivos predichos importantes incluyen, por ejemplo AMPc PK en 50-53, 66-69, 72-75 y 113-116; Ca Fos en 82-84 y 66-168; sitios de miristoilo en 57-61 y 164-166; sitios de fosforilación en 50, 53, 72, 75, 80, 82, 113 y 116.

- 5 Secuencia de nucleótidos que codifican un polipéptido IL-173 de roedor, por ejemplo de rata, y la secuencia de aminoácidos prevista. También se pueden usar secuencias de ácido nucleico complementarias para muchos fines. SEC ID N° 9 y 10.

```

TTT CCG AGA TAC CTG CCC GAA GCC TAC TGC CTG TGC CGA GGC TGT CTG 48
Phe Pro Arg Tyr Leu Pro Glu Ala Tyr Cys Leu Cys Arg Gly Cys Leu
      1                      5                      10                      15

ACC GGG CTC TAC GGT GAG GAG GAC TTC CGC TTT CGC AGC GCA CCC GTC 96
Thr Gly Leu Tyr Gly Glu Glu Asp Phe Arg Phe Arg Ser Ala Pro Val
                      20                      25                      30

TTC TCT CCG GCG GTG GTG CTG CGG CGC ACG GCG GCC T 133
Phe Ser Pro Ala Val Val Leu Arg Arg Thr Ala Ala
      35                      40

FPRYLPEAYCLCRGCLTGLYGEEDFRFRSAPVFSAPVVLRRATA
    
```

ES 2 374 429 T3

Secuencia de nucleótidos suplementaria que codifican un polipéptido IL-173 de roedor, por ejemplo de ratón, y la secuencia de aminoácidos prevista. También se pueden usar secuencias de ácido nucleico complementarias para muchos fines. SEC ID N° 11 y 12.

atg ttg ggg aca ctg gtc tgg atg ctc ctc gtc ggc ttc ctg ctg gca	48
Met Leu Gly Thr Leu Val Trp Met Leu Leu Val Gly Phe Leu Leu Ala	
-20 -15 -10	
ctg gcg ccg ggc cgc gcg gcg ggc gcg ctg agg acc ggg agg cgc ccg	96
Leu Ala Pro Gly Arg Ala Ala Gly Ala Leu Arg Thr Gly Arg Arg Pro	
-5 -1 1 5	
gcg cgg ccg cgg gac tgc gcg gac cgg cca gag gag ctc ctg gag cag	144
Ala Arg Pro Arg Asp Cys Ala Asp Arg Pro Glu Glu Leu Leu Glu Gln	
10 15 20	
ctg tac ggg cgg ctg gcg gcc ggc gtg ctc agc gcc ttc cac cac acg	192
Leu Tyr Gly Arg Leu Ala Ala Gly Val Leu Ser Ala Phe His His Thr	
25 30 35 40	
ctg cag ctc ggg ccg cgc gag cag gcg cgc aat gcc agc tgc ccg gcc	240
Leu Gln Leu Gly Pro Arg Glu Gln Ala Arg Asn Ala Ser Cys Pro Ala	
45 50 55	
ggg ggc agg gcc gcc gac cgc cgc ttc cgg cca ccc acc aac ctg cgc	288
Gly Gly Arg Ala Ala Asp Arg Arg Phe Arg Pro Pro Thr Asn Leu Arg	
60 65 70	
agc gtg tgc ccc tgg gcg tac agg att tcc tac gac cct gct cgc ttt	336
Ser Val Ser Pro Trp Ala Tyr Arg Ile Ser Tyr Asp Pro Ala Arg Phe	
75 80 85	
ccg agg tac ctg ccc gaa gcc tac tgc ctg tgc cga ggc tgc ctg acc	384
Pro Arg Tyr Leu Pro Glu Ala Tyr Cys Leu Cys Arg Gly Cys Leu Thr	
90 95 100	
ggg ctc tac ggg gag gag gac ttc cgc ttt cgc agc aca ccc gtc ttc	432
Gly Leu Tyr Gly Glu Glu Asp Phe Arg Phe Arg Ser Thr Pro Val Phe	
105 110 115 120	
tct cca gcc gtg gtg ctg cgg cgc aca gcg gcc tgc gcg ggc ggc cgc	480
Ser Pro Ala Val Val Leu Arg Arg Thr Ala Ala Cys Ala Gly Gly Arg	
125 130 135	
tct gtg tac gcc gaa cac tac atc acc atc ccg gtg ggc tgc acc tgc	528
Ser Val Tyr Ala Glu His Tyr Ile Thr Ile Pro Val Gly Cys Thr Cys	
140 145 150	
gtg ccc gag ccg gac aag tcc gcg gac agt gcg aac tcc agc atg gac	576
Val Pro Glu Pro Asp Lys Ser Ala Asp Ser Ala Asn Ser Ser Met Asp	
155 160 165	
aag ctg ctg ctg ggg ccc gcc gac agg cct cgc ggg cgc tgatgccggg	625
Lys Leu Leu Leu Gly Pro Ala Asp Arg Pro Ala Gly Arg	
170 175 180	
gactgcccgc catgcccag cttctgcat gcatcaggtc ccctggccct gacaaaacc 685	
accccatgat ccctggccgc tgcctaattt ttccaaaagg acagctacat aagctttaa 745	
tatatttttc aaagtagaca ctacatatct acaactattt tgaatagtgg cagaaactat 805	
tttcatatta gtaatttaga gcaagcatgt tgtttttaa cttctttgat atacaagcac 865	
atcacacaca tcccgttttc ctctagtagg attcttgagt gcataattgt agtgctcaga 925	
tgaacttctt tctgctgcac tgtgccctgt ccctgagtct ctctgtggc ccaagcttac 985	
taagggtgata atgagtgctc cggatctggg cacctaaggt ctccaggtcc ctggagaggg 1045	

agggatgtgg gggggctagg aaccaagcgc ccctttgttc tttagcttat ggatggctctt 1105
 aactttataa agattaaagt ttttggtggt attccttc 1143

MLGTLVWMLLVGFLALAPGRAAGALRTGRRPARPRDCADRPEELLEQLYGRLAAGVLSAFHHTLQLGPRE
 QARNASC PAGGRAADRRFRPPTNLRVSPWAYRISYDPAFPYRLPEAYCLCRGCLTGLYGEEDFRFRSTP
 VFS PAVLRRRTAACAGGRSVYAEHYITI PVGCTCVPEPKSADSANS SMDKLLLG PADRPAGR.

Motivos predichos importantes incluyen, por ejemplo sitios de AMPc PK en 50-53, 66-69, 72-75 y 113-116; sitios de fosforilación de Ca en 82-84 159-161 y 166-168; sitios de miristoílo en 57-61 y 101-105; sitios de N-glicosilo en 51-53 y 164-166; sitios de fosforilación en 50, 53, 72, 75, 80, 82, 113 y 116; y sitios de fosforilación PKC en 4-6.

5 Tabla 3: Secuencia de nucleótidos que codifican un polipéptido IL-174 de primate, por ejemplo de ser humano, y la secuencia de aminoácidos prevista. También se pueden usar secuencias de ácido nucleico complementarias para muchos fines. SEC ID N° 13 y 14.

tgagtgtgca	gtgccagc	atg	tac	cag	gtg	ggt	gca	ttc	ttg	gca	atg	gtc	51			
		Met	Tyr	Gln	Val	Val	Ala	Phe	Leu	Ala	Met	Val				
			-15					-10								
atg	gga	acc	cac	acc	tac	agc	cac	tgg	ccc	agc	tgc	tgc	ccc	agc	aaa	99
Met	Gly	Thr	His	Thr	Tyr	Ser	His	Trp	Pro	Ser	Cys	Cys	Pro	Ser	Lys	
-5				-1	1				5					10		
ggg	cag	gac	acc	tct	gag	gag	ctg	ctg	agg	tgg	agc	act	gtg	cct	gtg	147
Gly	Gln	Asp	Thr	Ser	Glu	Glu	Leu	Leu	Arg	Trp	Ser	Thr	Val	Pro	Val	
			15				20						25			
cct	ccc	cta	gag	cct	gct	agg	ccc	aac	cgc	cac	cca	gag	tcc	tgt	agg	195
Pro	Pro	Leu	Glu	Pro	Ala	Arg	Pro	Asn	Arg	His	Pro	Glu	Ser	Cys	Arg	
		30					35					40				
gcc	agt	gaa	gat	gga	ccc	ctc	aac	agc	agg	gcc	atc	tcc	ccc	tgg	aga	243
Ala	Ser	Glu	Asp	Gly	Pro	Leu	Asn	Ser	Arg	Ala	Ile	Ser	Pro	Trp	Arg	
	45					50					55					
tat	gag	ttg	gac	aga	gac	ttg	aac	cgg	ctc	ccc	cag	gac	ctg	tac	cac	291
Tyr	Glu	Leu	Asp	Arg	Asp	Leu	Asn	Arg	Leu	Pro	Gln	Asp	Leu	Tyr	His	
60					65					70				75		
gcc	cgt	tgc	ctg	tgc	ccg	cac	tgc	gtc	agc	cta	cag	aca	ggc	tcc	cac	339
Ala	Arg	Cys	Leu	Cys	Pro	His	Cys	Val	Ser	Leu	Gln	Thr	Gly	Ser	His	
				80					85					90		
atg	gac	ccc	cgg	ggc	aac	tcg	gag	ctg	ctc	tac	cac	aac	cag	act	gtc	387
Met	Asp	Pro	Arg	Gly	Asn	Ser	Glu	Leu	Leu	Tyr	His	Asn	Gln	Thr	Val	
			95					100					105			
ttc	tac	cgg	cgg	cca	tgc	cat	ggc	gag	aag	ggc	acc	cac	aag	ggc	tac	435
Phe	Tyr	Arg	Arg	Pro	Cys	His	Gly	Glu	Lys	Gly	Thr	His	Lys	Gly	Tyr	
		110					115					120				
tgc	ctg	gag	cgc	agg	ctg	tac	cgt	ggt	tcc	tta	gct	tgt	gtg	tgt	gtg	483
Cys	Leu	Glu	Arg	Arg	Leu	Tyr	Arg	Val	Ser	Leu	Ala	Cys	Val	Cys	Val	
	125					130					135					
cgg	ccc	cgt	gtg	atg	ggc	tag										504
Arg	Pro	Arg	Val	Met	Gly											
140					145											

MYQVVAFLAMVMGTHTYSHWPSCCPSKGQDTSEELLRWSTVPVPPLEPARPNRHPESCRASEDGPL
 NSRAISPWRYELDRDLNRLPQDLYHARCLCPHCVSLQTGSHMDPRGNSELLYHNQTVFYRRPCHGE
 KGTHKGYCLERRLYRVSLACVVRPRVMG

Motivos predichos importantes incluyen, por ejemplo sitios de AMPc PK en 21-24, 53-56 y 95-98; sitios de

fosforilación de Ca en 15-17, 16-18 y 45-47; sitios de miristoilo en 12-16, 115-119 y 118-122; sitios de N-glicosilo en 104-107; sitios de fosforilación en 21, 23, 43, 53, 56, 95, 98 y 131; y sitios de fosforilación PKC en 41-43 y 119-121, y sitios de tirosina quinasa en 95-102.

5 Secuencia de nucleótidos que codifican un polipéptido IL-174 de roedor, por ejemplo de ratón, y la secuencia de aminoácidos prevista. También se pueden usar secuencias de ácido nucleico complementarias para muchos fines. SEC ID N° 15 y 16.

CGG	CAC	AGG	CGG	CAC	AAA	GCC	CGG	AGA	GTG	GCT	GAA	GTG	GAG	CTC	TGC	48
Arg	His	Arg	Arg	His	Lys	Ala	Arg	Arg	Val	Ala	Glu	Val	Glu	Leu	Cys	
1				5					10					15		
ATC	TGT	ATC	CCC	CCC	AGA	GCC	TCT	GAG	CCA	CAC	CCA	CCA	CGC	AGA	ATC	96
Ile	Cys	Ile	Pro	Pro	Arg	Ala	Sér	Glu	Pro	His	Pro	Pro	Arg	Arg	Ile	
			20					25					30			
CTG	CAG	GGC	CAG	CAA	GGA	TGG	CCT	CTC	AAC	AGC	AGG	GCC	ATC	TCT	CCT	144
Leu	Gln	Gly	Gln	Gln	Gly	Trp	Pro	Leu	Asn	Ser	Arg	Ala	Ile	Ser	Pro	
		35					40					45				
TGG	AGC	TAT	GAG	TTG	GAC	AGG	GAC	TTG	AAT	CGG	GTC	CCC	CAG	GAC	TGG	192
Trp	Ser	Tyr	Glu	Leu	Asp	Arg	Asp	Leu	Asn	Arg	Val	Pro	Gln	Asp	Trp	
	50					55					60					
TAC	CAC	GCT	CGA	TGC	CTG	TGC	CCA	CAC	TGC	GTC	ACG	CTA	CAG	ACA	GGC	240
Tyr	His	Ala	Arg	Cys	Leu	Cys	Pro	His	Cys	Val	Thr	Leu	Gln	Thr	Gly	
65					70					75					80	
TCC	CAC	ATG	GAC	CCG	CTG	GGC	AAC	TCC	GTC	CCA	CTT	TAC	CAC	AAC	CAG	288
Ser	His	Met	Asp	Pro	Leu	Gly	Asn	Ser	Val	Pro	Leu	Tyr	His	Asn	Gln	
				85					90					95		
ACG	GTC	TTC	TAC	CGG	CGG	CCA	TGC	ATG	GCG	AGG	AAG	GTA	CCC	ATC	GCC	336
Thr	Val	Phe	Tyr	Arg	Arg	Pro	Cys	Met	Ala	Arg	Lys	Val	Pro	Ile	Ala	
			100					105					110			
GCT	ACT	GCT	TGG	AGC	GCA	GGT	CTA	CCG	AGT	CTC	CTT	GGC	TTG	TGT	GTG	384
Ala	Thr	Ala	Trp	Ser	Ala	Gly	Leu	Pro	Ser	Leu	Leu	Gly	Leu	Cys	Val	
		115					120					125				
TGT	GCG	GCC	CCG	GGT	CAT	GGC	TTA	GTC	ATG	CTC	ACC	ATC	TGC	CTG	AGG	432
Cys	Ala	Ala	Pro	Gly	His	Gly	Leu	Val	Met	Leu	Thr	Ile	Cys	Leu	Arg	
	130					135					140					
TGAATGCCGG	GTGGGAGAGA	GGGCCAGGTG	TACATCACCT	GCCAATGCCGG	GCCGGGTTC											492
AGCCTGCAAA	GCCTACCTGA	AGCAGCAGGT	CCCGGGACAG	GATGGAGACT	TGGGGAGAAA											552
TCTGACTTTT	GCACTTTTGT	GAGCATTTTG	GGAAGAGCAG	GTTGCTTGT	GCTGTAGAGA											612
TGCTGTTG																620
RHRRHKARRVAEVELCICIPPRASEPHPPRRILQGQGWPLNSRAISPWSYELDRDLNRVPQDWYHARC	LCPHCVTLOTGSHMDPLGNSVPLYHNQTVFYRRPCMARKVPIAATAWSAGLPSLLGLCVCAAPGHGLVM	LTICLR														

10 Secuencia de nucleótidos suplementaria que codifican un polipéptido IL-174 de roedor, por ejemplo de ratón, y la secuencia de aminoácidos prevista. También se pueden usar secuencias de ácido nucleico complementarias para muchos fines. SEC ID N° 17 y 18.

ES 2 374 429 T3

```

atg tac cag gct gtt gca ttc ttg gca atg atc gtg gga acc cac acc 48
Met Tyr Gln Ala Val Ala Phe Leu Ala Met Ile Val Gly Thr His Thr
-15 -10 -5 -1

gtc agc ttg cgg atc cag gag ggc tgc agt cac ttg ccc agc tgc tgc 96
Val Ser Leu Arg Ile Gln Glu Gly Cys Ser His Leu Pro Ser Cys Cys
1 5 10 15

ccc agc aaa gag caa gaa ccc ccg gag gag tgg ctg aag tgg agc tct 144
Pro Ser Lys Glu Gln Glu Pro Pro Glu Glu Trp Leu Lys Trp Ser Ser
20 25 30

gca tct gtg tcc ccc cca gag cct ctg agc cac acc cac cac gca gaa 192
Ala Ser Val Ser Pro Pro Glu Pro Leu Ser His Thr His His Ala Glu
35 40 45

tcc tgc agg gcc agc aag gat ggc ccc ctc aac agc agg gcc atc tct 240
Ser Cys Arg Ala Ser Lys Asp Gly Pro Leu Asn Ser Arg Ala Ile Ser
50 55 60

cct tgg agc tat gag ttg gac agg gac ttg aat cgg gtc ccc cag gac 288
Pro Trp Ser Tyr Glu Leu Asp Arg Asp Leu Asn Arg Val Pro Gln Asp
65 70 75 80

ctg tac cac gct cga tgc ctg tgc cca cac tgc gtc agc cta cag aca 336
Leu Tyr His Ala Arg Cys Leu Cys Pro His Cys Val Ser Leu Gln Thr
85 90 95

ggc tcc cac atg gac ccg ctg ggc aac tcc gtc cca ctt tac cac aac 384
Gly Ser His Met Asp Pro Leu Gly Asn Ser Val Pro Leu Tyr His Asn
100 105 110

cag acg gtc ttc tac cgg cgg cca tgc cat ggt gag gaa ggt acc cat 432
Gln Thr Val Phe Tyr Arg Arg Pro Cys His Gly Glu Glu Gly Thr His
115 120 125

cgc cgc tac tgc ttg gag cgc agg ctc tac cga gtc tcc ttg gct tgt 480
Arg Arg Tyr Cys Leu Glu Arg Arg Leu Tyr Arg Val Ser Leu Ala Cys
130 135 140

gtg tgt gtg cgg ccc cgg gtc atg gct tagtcatgct caccacctgc 527
Val Cys Val Arg Pro Val Met Ala
145 150

ctgaggctga tgcccggttg ggagagaggg ccagggtgtac aatcaccttg ccaatgcggg 587
ccgggttcaa gccctccaaa gccctacctg aagcagcagg ctcccgggac aagatggagg 647
acttggggag aaactctgac ttttgactt tttggaagca cttttgggaa ggagcaggtt 707
ccgcttggtg tgctagagga tgctgtgtg gcatttctac tcaggaacgg actccaaagg 767
cctgctgacc ctggaagcca tactcctggc tccttcccc tgaatcccc aactcctggc 827
acaggcactt tctccacctc tcccccttg cttttgttg tgtttgttg tgcattgcaa 887
ctctgcgtgc agccagggtg aattgccttg aaggatggtt ctgaggtgaa agctgttatc 947
gaaagtgaag agatttatcc aaataaacat ctgtgttt 985

MYQAVAFLAMIVGTHTVSLRIQEGCSHLPSCCPSKEQEPPEEWLKWSSASVSPPEPLSHTHHAESCRAS
KDGPLNSRAISPWSYELDRDLNRVPQDLYHARCLCPHCVSLQTGSHMDPLGNSVPLYHNQTVFYRRPCH
GEEGTHRRYCLERRLYRVSLACVCVRPRVMA

```

Motivos predichos importantes incluyen, por ejemplo sitios de AMPc PK en 29-32 y 61-64; sitios de fosforilación de Ca en 18-20, 3-55 y 67-69; sitios de miristoílo en 123-127; sitios de N-glicosilo en 112-114; sitios de fosforilación en 29, 31, 51, 3, 61, 64, 139 y 141; y sitios de fosforilación PKC en 2-4, 49-51 y 127-129.

5

Tabla 4: Secuencia de nucleótidos que codifican un polipéptido IL-171 de primate, por ejemplo de ser humano, según el código de la IUPAC. También se pueden usar secuencias de ácido nucleico complementarias para muchos fines. SEC ID N° 19:

GACACGGATG AGGACCGCTA TCCACAGAAG CTGGCCTTCG CCGAGTGCCT GTGCAGAGGC	60
TGTATCGATG CACGGACGGG CCGCGAGACA GCTGCGCTCA ACTCCGTGCG GCTGCTCCAG	120
AGCCTGCTGG TGCTGCGCCG CCGGCCCTGC TCCC GCGACG GCTCGGGGCT CCCACACCT	180
GGGGCCTTTG CCTTCCACAC CGAGTTCATC CACGTCCCCG TCGGCTGCAC CTGCGTGTG	240
CCCCGTTCAA GTGTGACCGC CAAGGCCGTG GGGCCCTTAG NTGACACCGT GTGCTCCCCA	300
GAGGGACCCC TATTTATGGG AATTATGGTA TTATATGCTT CCCACATACT TGGGGCTGGC	360
ATCCCGNGCT GAGACAGCCC CCTGTTCTAT TCAGCTATAT GGGGAGAAGA GTAGACTTTC	420
AGCTAAGTGA AAAGTGNAAC GTGCTGACTG TCTGCTGTCG TNCTACTNAT GCTAGCCCCGA	480
GTGTTCACTC TGAGCCTGTT AAATATAGGC GGTATGTAC C	521

5 Las SEC ID N° 20 y 21 son secuencias traducibles de ADNc y de polipéptidos PATENTIN.

GAC ACG GAT GAG GAC CGC TAT CCA CAG AAG CTG GCC TTC GCC GAG TGC	48
Asp Thr Asp Glu Asp Arg Tyr Pro Gln Lys Leu Ala Phe Ala Glu Cys	
1 5 10 15	
CTG TGC AGA GGC TGT ATC GAT GCA CGG ACG GGC CGC GAG ACA GCT GCG	96
Leu Cys Arg Gly Cys Ile Asp Ala Arg Thr Gly Arg Glu Thr Ala Ala	
20 25 30	
CTC AAC TCC GTG CGG CTG CTC CAG AGC CTG CTG GTG CTG CGC CGC CGG	144
Leu Asn Ser Val Arg Leu Leu Gln Ser Leu Leu Val Leu Arg Arg Arg	
35 40 45	
CCC TGC TCC CGC GAC GGC TCG GGG CTC CCC ACA CCT GGG GCC TTT GCC	192
Pro Cys Ser Arg Asp Gly Ser Gly Leu Pro Thr Pro Gly Ala Phe Ala	
50 55 60	
TTC CAC ACC GAG TTC ATC CAC GTC CCC GTC GGC TGC ACC TGC GTG CTG	240
Phe His Thr Glu Phe Ile His Val Pro Val Gly Cys Thr Cys Val Leu	
65 70 75 80	
CCC CGT TCA AGT GTG ACC GCC AAG GCC GTG GGG CCC TTA Gnt GAC ACC	288
Pro Arg Ser Ser Val Thr Ala Lys Ala Val Gly Pro Leu Xaa Asp Thr	
85 90 95	
GTG TGC TCC CCA GAG GGA CCC CTA TTT ATG GGA ATT ATG GTA TTA TAT	336
Val Cys Ser Pro Glu Gly Pro Leu Phe Met Gly Ile Met Val Leu Tyr	
100 105 110	
GCT TCC CAC ATA CTT GGG GCT GGC ATC CCG nGC TGAGACAGCC CCCTGTTCTA	389
Ala Ser His Ile Leu Gly Ala Gly Ile Pro Xaa	
115 120	
TTCAGCTATA TGGGGAGAAG AGTAGACTTT CAGCTAAGTG AAAAGTGCAA CGTGTGACT	449
GTCTGCTGTC GTCCTACTCA TGCTAGCCCC AGTGTTCACT CTGAGCCTGT TAAATATAGG	509
CGGTTATGTA CC	521
DTDED RY P Q K L A F A E C L R G C I D A R T G R E T A A L N S V R L L Q S L L V L R R R P C S R D G S G L P T P G A F A F H T E F I	
H V P V G C T C V L P R S S V T A K A V G P L X D T V C S P E G P L F M G I M V L Y A S H I L G A G I P X	

Secuencia de nucleótidos suplementaria que codifican un polipéptido IL-171 de primate, por ejemplo de ser humano.

ES 2 374 429 T3

También se pueden usar secuencias de ácido nucleico complementarias para muchos fines. Las SEC ID N° 22 y 23:

```

gtgtggcctc aggtataaga gcggtgctg ccaggtgcat ggccaggtgc acctgtggga 60
ttgccgccag gtgtgcaggc cgctccaage ccagcctgcc ccgctgcccgc cacc atg 117
Met
acg ctc ctc ccc ggc ctc ctg ttt ctg acc tgg ctg cac aca tgc ctg 165
Thr Leu Leu Pro Gly Leu Leu Phe Leu Thr Trp Leu His Thr Cys Leu
-15 -10 -5 -1
gcc cac cat gac ccc tcc ctc agg ggg cac ccc cac agt cac ggt acc 213
Ala His His Asp Pro Ser Leu Arg Gly His Pro His Ser His Gly Thr
1 5 10 15
cca cac tgc tac tcg gct gag gaa ctg ccc ctc ggc cag gcc ccc cca 261
Pro His Cys Tyr Ser Ala Glu Glu Leu Pro Leu Gly Gln Ala Pro Pro
20 25 30
cac ctg ctg gct cga ggt gcc aag tgg ggg cag gct ttg cct gta gcc 309
His Leu Leu Ala Arg Gly Ala Lys Trp Gly Gln Ala Leu Pro Val Ala
35 40 45
ctg gtg tcc agc ctg gag gca gca agc cac agg ggg agg cac gag agg 357
Leu Val Ser Ser Leu Glu Ala Ala Ser His Arg Gly Arg His Glu Arg
50 55 60
ccc tca gct acg acc cag tgc ccg gtg ctg cgg ccg gag gag gtg ttg 405
Pro Ser Ala Thr Thr Gln Cys Pro Val Leu Arg Pro Glu Glu Val Leu
65 70 75 80
gag gca gac acc cac cag cgc tcc atc tca ccc tgg aga tac cgt gtg 453
Glu Ala Asp Thr His Gln Arg Ser Ile Ser Pro Trp Arg Tyr Arg Val
85 90 95
gac acg gat gag gac cgc tat cca cag aag ctg gcc ttc gcc gag tgc 501
Asp Thr Asp Glu Asp Arg Tyr Pro Gln Lys Leu Ala Phe Ala Glu Cys
100 105 110
ctg tgc aga ggc tgt atc gat gca cgg acg ggc cgc gag aca gct gcg 549
Leu Cys Arg Gly Cys Ile Asp Ala Arg Thr Gly Arg Glu Thr Ala Ala
115 120 125
ctc aac tcc gtg cgg ctg ctc cag agc ctg ctg gtg ctg cgc cgc cgg 597
Leu Asn Ser Val Arg Leu Leu Gln Ser Leu Leu Val Leu Arg Arg Arg
130 135 140
ccc tgc tcc cgc gac ggc tcg ggg ctc ccc aca cct ggg gcc ttt gcc 645
Pro Cys Ser Arg Asp Gly Ser Gly Leu Pro Thr Pro Gly Ala Phe Ala
145 150 155 160
ttc cac acc gag ttc atc cac gtc ccc gtc ggc tgc acc tgc gtg ctg 693
Phe His Thr Glu Phe Ile His Val Pro Val Gly Cys Thr Cys Val Leu
165 170 175
ccc cgt tca gtg tgaccgccga ggccgtgggg ccctagact ggacacgtgt 745
Pro Arg Ser Val
180

```

```

gctccccaga gggcaccccc tatttatgtg tatttattgg tatttatatg cctcccccaa 805
cactaccctt ggggtctggg cattccccgt gtctggagga cagcccccca ctgttctcct 865
catctccagc ctcagtagtt ggggtagaaa ggagctcagc acctcttcca gcccttaaag 925
ctgcagaaaa ggtgtcacac ggctgcctgt accttggtc cctgtcctgc tcccggttc 985
ccttaccta tcactggcct caggcccccg caggctgcct cttcccaacc tccttgggaag 1045
taccctgtt tcttaacaa ttatttaagt gtacgtgat tattaaactg atgaacacat 1105
cc 1107

```

MTLLPGLLFLTWLHTCLAHHDPSLRGHPHSHGTPHCYSAEELPLGQAPPHELLARGAKWGQALPVALVSS
LEAASHRGRHERPSATTQC PVL RPEEVLEADTHORSISPWR YRVDTDED RYPQKLAF AECLCRGCIDAR
TGRETAALNSVRLQLSLLVLR RRPCSRDGSGLPTPGAF AFHTEFIHVPVGCTCVLPRSV

Tabla 5: Secuencia de nucleótidos que codifican una secuencia de IL-175 de primate, por ejemplo de ser humano, según el código de la IUPAC. También se pueden usar secuencias de ácido nucleico complementarias para muchos fines. Las SEC ID N° 24:

```

GAGAAAGAGC TTCTGCACA AAGTAAGCCA CCAGCGCAAC ATGACAGTGA AGACCCTGCA 60
TGGCCAGCC ATGGTCAAGT ACTTGCTGCT GTCGATATTG GGGCTTGCCT TTCTGAGTGA 120
GGCGGCAGCT CGGAAAATCC CCAAAGTAGG ACATACTTTT TTCCAAAAGC CTGAGAGTTG 180
CCCGCTGTG CCAGGAGGTA GTATGAAGCT TGACATTGGC ATCATCAATG AAAACCAGCG 240
CGTTCCATG TCACGTAACA TCGAGAGCCG CTCCACCTCC CCCTGGAATT AACTGTCCAC 300
TTGGGACCCC AACCGGTACC CCTCGAAGTT GTACAGGCC AAGGTAGGA ACTTGGGCTG 360
TATCAATGCT CAAGGAAAGG AAGACATCTN CATGAATTCC GTC 403

```

5

Las SEC ID N° 25 y 26 son secuencias traducibles de ADNc y de polipéptido PATENTIN. Se indica el sitio de escisión de la señal predicha, pero puede haber unos pocos residuos en ambos lados; sitio de glicosilación supuesto en los residuos 53-55.

GAGAAAGAGC TTCCTGCACA AAGTAAGCCA CCAGCGCAAC ATGACAGTGA AGACCCTGCA	60
TGGCCCAGCC ATG GTC AAG TAC TTG CTG CTG TCG ATA TTG GGG CTT GCC	109
Met Val Lys Tyr Leu Leu Leu Ser Ile Leu Gly Leu Ala	
-20 -15 -10	
TMT CTG AGT GAG GCG GCA GCT CGG AAA ATC CCC AAA GTA GGA CAT ACT	157
Phe Leu Ser Glu Ala Ala Ala Arg Lys Ile Pro Lys Val Gly His Thr	
-5 1 5	
TMT TTC CAA AAG CCT GAG AGT TGC CCG CCT GTG CCA GGA GGT AGT ATG	205
Phe Phe Gln Lys Pro Glu Ser Cys Pro Pro Val Pro Gly Gly Ser Met	
10 15 20 25	
AAG CTT GAC ATT GGC ATC ATC AAT GAA AAC CAG CGC GTT TCC ATG TCA	253
Lys Leu Asp Ile Gly Ile Ile Asn Glu Asn Gln Arg Val Ser Met Ser	
30 35 40	
CGT AAC ATC GAG AGC CGC TCC ACC TCC CCC TGG AAT TAC ACT GTC ACT	301
Arg Asn Ile Glu Ser Arg Ser Thr Ser Pro Trp Asn Tyr Thr Val Thr	
45 50 55	
TGG GAC CCC AAC CGG TAC CCC TCG AAG TTG TAC AGG CCC AAG TGT AGG	349
Trp Asp Pro Asn Arg Tyr Pro Ser Lys Leu Tyr Arg Pro Lys Cys Arg	
60 65 70	
AAC TTG GGC TGT ATC AAT GCT CAA GGA AAG GAA GAC ATC TCC ATG AAT	397
Asn Leu Gly Cys Ile Asn Ala Gln Gly Lys Glu Asp Ile Ser Met Asn	
75 80 85	
TCC GTC	403
Ser Val	
90	
MVKYLLLSILGLAFLSEAAARKIPKVGHTFFQKPESCPPVPGGSMKLDIGIINENQRVMSRNIESRST	
SPWNYTVTWDPNRYPSKLYRPKCRNLGCINAQ GKEDIXMNSV	

Segmentos particularmente interesantes incluyen, por ejemplo los que comienzan o terminan con: cys17; pro18, pro19; va120; thr49; ser50; arg69; pro70; y el final de la secuencia disponible.

5 Tabla 6: Secuencia de nucleótidos suplementaria que codifican IL-176 de primate, por ejemplo de ser humano. También se pueden usar secuencias de ácido nucleico complementarias para muchos fines. Las SEC ID N° 27 y 28:

ES 2 374 429 T3

```

tc gtg ccg tat ctt ttt aaa aaa att att ctt cac ttt ttt gcc tcc 47
  Val Pro Tyr Leu Phe Lys Lys Ile Ile Leu His Phe Phe Ala Ser
  1          5          10          15

tat tac ttg tta ggg aga ccc aat ggt agt ttt att cct tgg gga tac 95
Tyr Tyr Leu Leu Gly Arg Pro Asn Gly Ser Phe Ile Pro Trp Gly Tyr
          20          25

ata gta aat act tca tta aag tcg agt aca gaa ttt gat gaa aag tgt 143
Ile Val Asn Thr Ser Leu Lys Ser Ser Thr Glu Phe Asp Glu Lys Cys
          35          40          45

gga tgt gtg gga tgt act gcc gcc ttc aga agt cca cac act gcc tgg 191
Gly Cys Val Gly Cys Thr Ala Ala Phe Arg Ser Pro His Thr Ala Trp
          50          55          60

agg gag aga act gct gtt tat tca ctg att aag cat ttg ctg tgt acc 239
Arg Glu Arg Thr Ala Val Tyr Ser Leu Ile Lys His Leu Leu Cys Thr
          65          70          75

aac tac ttt tca tgt ctt atc tta att ctc ata aca gtc att 281
Asn Tyr Phe Ser Cys Leu Ile Leu Ile Leu Ile Thr Val Ile
          80          85          90

tgatatttta aaaaacccca gaaatctgag aaagagataa agtgggttgc tcaaggttat 341
agaacagact accatgtggt gtatttcaga ttttaattca tgtttgtctg attttaagtt 401
ttgttcgctt gccagggtac cccacaaaaa tgccaggcag ggcattttca tgatgcactt 461
gagatacctg aaatgacagg gtagcatcac acctgagagg ggtaaaggat gggaacctac 521
cttccatggc cgctgcttgg cagtctcttg ctgcatgcta gcagagccac tgtatatgtg 581
ccgaggctct gagaattaac tgcttaaaga actgccttct ggagggagaa gagcacaaga 641
tcacaattaa ccatatacac atcttactgt gcgagggtcat tgagcaatac aggagggatt 701
ttatacattt tagcaactat cttcaaaacc tgagctatag ttgtattctg cccccttct 761
ctgggcaaaa gtgtaaaagt ttg 784

VPYLFKKIILHFFASYLLGRPNGSFI PWGYIVNTSLKSSTEFDEKCGCVGCTAAFRSPHTAWRER
TAVYSLIKHLICTNYFSLILILITVI

```

Secuencia de nucleótidos suplementaria que codifican IL-177 de primate, por ejemplo de ser humano. También se pueden usar secuencias de ácido nucleico complementarias para muchos fines. Las SEC ID N° 29 y 30:

```

gtg act gta ttg tgg gga cag gaa gca caa att ccc atg tgg atc act 48
Val Thr Val Leu Trp Gly Gln Glu Ala Gln Ile Pro Met Trp Ile Thr
1 5 10 15

agg aga gat aat aag tgg ggt cat ttc acc cct tgg tcc cct gct tcc 96
Arg Arg Asp Asn Lys Trp Gly His Phe Thr Pro Trp Ser Pro Ala Ser
20 25 30

aga ccc aaa gag gcc tac atg gca ttg tgc ttc ctt ctt agt tgt agg 144
Arg Pro Lys Glu Ala Tyr Met Ala Leu Cys Phe Leu Leu Ser Cys Arg
35 40 45

agg tgt gag ata caa tca ttt gcc tct gac ttt gag ggt tgg tcc 189
Arg Cys Glu Ile Gln Ser Phe Ala Ser Asp Phe Glu Gly Trp Ser
50 55 60

tagcatgccc ctgaccagta gcccttaaa tacttcattg atatggaagg tctctgaatc 249
ttcgtgggct taatctacca ctctctgaag ttcttatgtc tttcaaaggc ctctaaaatc 309
tctgccatgt ctgtctcacc cagttgtag catgatgtca ttgatacagt ggactttgga 369
atctaagtgg ggagacactg gtaagtgacc aattacttca cctgtggtgt gcaagccaga 429
tcaggaagcc tctacctgca cgacaacaca t 460

VTVLWGQEAQIPMWITRRDNKKGHFTWPSPASRPKEAYMALCFLLSRRCEIQSFASDFEGWS
    
```

20

5 Tabla 7 Alineación de varios miembros de la familia CTLA-8/IL-170. La secuencia de la CTLA-8 de rata es la SEC ID N° 31 (véase el documento GB L13839; 293329/30; la secuencia de la CTLA-8 de ratón es la SEC ID N° 32 (véase el documento GB 1469917/8); la secuencia de la CTLA-8 humana es la SEC ID N° 33 (véase el documento GB U32659; 115222/3); y el ORF13 del virus del herpes saimiri es la SEC ID N° 34 (véase el documento GB Y13183; 2370235). CLUSTAL X (1,64 b) alineación de múltiples secuencias

```

IL-74_Mu -----MYQAVAFLAMIVGTHTVSLRI-----QEGCSHLPSCCPSKEQEPPEEWLKWS
IL-74_Hu -----MYQVVAFLAMVMGTHTY-----S-----HWPSCCPSKGGQDTSEELLRWS
IL-72_Hu -----MDWPHNLLFLLTISIFLGLGQPRSPKSKRKGQGRPGPLVPGPHQVPLDLVSRMK
IL-72_Mu -----MDWPHSLLFLLAISIFLAPSHPRNTKGRKKGQGRPSPLAPGPHQVPLDLVSRVK
IL-73_Mu --MLGTLVWMLLVGFLLALAPGRAAGALRT--GRRP--ARPRDCADRPEELLEQLYGRLA
IL-73_Hu -----MLVAGFLLALPPSWAAGAPRA--GRRP--ARPRGCADRPEELLEQLYGRLA
IL-17_Hu --MTPGKTSLVSLLLLLSLEAIVKAGITIP-----RNPGC PNSEDKNF PRTVMVNL
IL-17_Hs --MTPFRKTSLV-LLLLLSIDCIVKSEITSA-----QTPRCLAANN-SFPRSVMTL
IL-17_Rt -----MCLMLLLLLNLEATVKA AVLIP-----QSSVCPNAEANNFLQNVKVNL
IL-17_Mu -----MLLLLLSLAATVKA AAIIP-----QSSACPNTEAKDFLQNVKVNL
IL-75_Hu -----MVKYLLLSILGLAFLSEAAARKIPKVGH TFFQKPESCPVPVGGSMKLDIGIIN
IL-71_Hu MTL L PGLLFLT WLHTCLAHHP SLR GHPHSHGT PHCYSAEELPLGQAP PHL LARGAKWGO

IL-74_Mu S-----ASVSPP-EPLSHTHAES---CRASKD-GPLNSRAISPWSYELDRDLNRV
IL-74_Hu T-----VPVPL-EPARNRHPES---CRASED-GPLNSRAISPWRYELDRDLNRL
IL-72_Hu P-YARMEEYERNIEEMVAQLRNSSELAQ-RKCEVNLQLWMSNKRSLSPWGY SINHDP SRI
IL-72_Mu P-YARMEEYERNLGE MVAQLRNSSEPAK-KKCEVNLQLWLSNKRSLSPWGY SINHDP SRI
IL-73_Mu AGVLSAFHHTLQLGPR-EQARNASCPAGGRAADRRFR-PPTNLR SVSPWAYRISYDPARF
IL-73_Hu AGVLSAFHHTLQLGPR-EQARNASCPAGGRPADRRFR-PPTNLR SVSPWAYRISYDPARY
IL-17_Hu N-----IHNRTNTN-----P-KRSSDY YNRSTSPWNLHRNEDPERY
IL-17_Hs S-----IRNWNTSS-----KRASDY YNRSTSPWTLHRNEDQDRY
IL-17_Rt K-----VINSLSKA-----SSRRPSDY LNRSTSPWTL SRNEDPDRY
IL-17_Mu K-----VFNSLGAKV-----SSRRPSDY LNRSTSPWTL HRNEDPDRY
IL-75_Hu E-----N--QRV SMS-----R--NIESRSTSPWNYTVTWDPNRY
IL-71_Hu ALPVALVSSLEAASHRGRHERPSATTQC PVL RPEEVLEADTHQRSISPWRYRVDTDEDRY
* * * * *
    
```

```

IL-74_Mu P Q D L Y H A R C L C P H C V S L Q T G S H M D P L G N S V P L Y H N Q T V F Y R R -- P C H G E E G T H R R Y C L E R
IL-74_Hu P Q D L Y H A R C L C P H C V S L Q T G S H M D P R G N S E L L Y H N Q T V F Y R R -- P C H G E K G T H K G Y C L E R
IL-72_Hu F V D L P E A R C L C L G C V N P F T M - Q E D R S M V S V P V F S - Q V P V R R R -- L C P P P P -- R T G P C R Q R
IL-72_Mu P A D L P E A R C L C L G C V N P F T M - Q E D R S M V S V P V F S - Q V P V R R R -- L C P Q P P -- R P G P C R Q R
IL-73_Mu P R Y L P E A Y C L C R G C L T G L Y G - E E D F R F R S T P V F S - P A V V L R R T A A C A G ----- G R S V Y A
IL-73_Hu P R Y L P E A Y C L C R G C L T G L F G - E E D V R F R S A P V Y M - P T V V L R R T P A C A G ----- G R S V Y T
IL-17_Hu P S V I W E A K C R H L G C I N A D G N -- V D Y H M N S V P I Q Q E I L V L R R E P P H C P N ----- S F R
IL-17_Hs P S V I W E A K C R Y L G C V N A D G N -- V D Y H M N S V P I Q Q E I L V V R K G H Q P C P N ----- S F R
IL-17_Rt P S V I W E A Q C R H Q R C V N A E G K -- L D H H M N S V L I Q Q E I L V L K R E P E K C P F ----- T F R
IL-17_Mu P S V I W E A Q C R H Q R C V N A E G K -- L D H H M N S V L I Q Q E I L V L K R E P E S C P F ----- T F R
IL-75_Hu P S E V V Q A Q C R N L G C I N A Q G K -- E D I S M N S V P I Q Q E T L V V R R K H Q G C S V ----- S F Q
IL-71_Hu P Q K L A F A E C L C R G C I D A R T G - R E T A A L N S V R L L Q S L L V L R R R P C S R D G S G L P T F G A F A H
* : * * * * * : * :

```

```

IL-74_Mu R L Y R - V S L A C V C V R P R V M A -----
IL-74_Hu R L Y R - V S L A C V C V R P R V M G -----
IL-72_Hu A V M E T I A V G C T C I F -----
IL-72_Mu V V M E T I A V G C T C I F -----
IL-73_Mu E H Y I T I P V G C T C V P E P D K S A D S A N S S M D K ---- L L L G P A D R P A G R
IL-73_Hu E A Y V T I P V G C T C V P E P E K D A D S I N S S I D K Q G A K L L L G P N D A P A G P
IL-17_Hu L E K I L V S V G C T C V T P I V H H V A -----
IL-17_Hs L E K M L V T V G C T C V T P I V H N V D -----
IL-17_Rt V E K M L V G V G C T C V S S I V R H A S -----
IL-17_Mu V E K M L V G V G C T C V A S I V R Q A A -----
IL-75_Hu L E K V L V T V G C T C V T P V I H H V Q -----
IL-71_Hu T E F I H P V G C T C V L P R S V -----
: : . * . * :

```

Segmentos particularmente interesantes incluyen, por ejemplo los correspondientes a los segmentos de IL-172 o IL-175, indicados anteriormente, con los otros miembros de la familia.

5 Los polipéptidos o proteína purificados son útiles para generar los anticuerpos mediante procedimientos estándar, como se ha descrito anteriormente. Los péptidos sintéticos o la proteína purificada se pueden presentar a un sistema inmunológico para generar una composición de unión específica, por ejemplo anticuerpos monoclonales o policlonales. Véase, por ejemplo, Coligan (1991) Current Protocols in Immunology Wiley/Greene; y Harlow y Lane (1989) Antibodies: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Press.

10 Por ejemplo, la composición de unión específica podría usarse para la detección selectiva de una biblioteca de expresión hecha de una línea celular que expresa una proteína IL-174. La detección selectiva puede ser tinción estándar de la proteína expresada en la superficie o mediante *panning*. La detección selectiva de la expresión intracelular también se puede realizar mediante varios procedimientos de tinción o inmunofluorescencia. Las composiciones de unión podrían usarse para purificar por afinidad o clasificar células que expresan la proteína.

15 En el presente documento se describe el uso de ADN aislado o de fragmentos para codificar una correspondiente proteína o polipéptido de IL-174 biológicamente activa. Además, describe ADN aislado o recombinante que codifica una proteína o polipéptido biológicamente activa y que es capaz de hibridar en las condiciones adecuadas con las secuencias de ADN de IL-174 descritas en el presente documento. Dicha proteína o polipéptido biológicamente activa puede ser un antígeno intacto, o fragmento, y tiene una secuencia de aminoácidos tal como se divulga en la Tabla 3. Además, describe el uso de ADN recombinante o aislado, o fragmentos del mismo, que codifican proteínas que son homólogas a una proteína de IL-174 o que se aislaron usando ADNc que codifica una proteína de IL-174 como sonda. El ADN aislado puede tener las respectivas secuencias reguladoras en los lados de 5' y 3', por ejemplo promotores, potenciadores, señales de adición de poli-A y otros.

25 Un ácido nucleico "aislado" es un ácido nucleico, por ejemplo un ARN, ADN. O un polímero mixto, que está sustancialmente separado de otros componentes que acompañan de forma natural a la secuencia nativa, por ejemplo ribosomas, polimerasas y secuencias genómicas flanqueantes procedentes de las especies originales. El término abarca una secuencia de ácido nucleico que se ha retirado de su ambiente natural e incluye aislamientos de ADN recombinante o clonado y análogos químicamente sintetizados o análogos biológicamente sintetizados mediante sistemas heterólogos. Una molécula sustancialmente pura incluye formas aisladas de la molécula. Como alternativa, una especie purificada se puede separar de los componentes del huésped de un sistema de expresión recombinante. El tamaño de la homología de dicho ácido nucleico normalmente será menor que los vectores grandes, por ejemplo menor que decenas de kB, normalmente menor que varios kB y, preferentemente, en el intervalo de 2-6 kB.

35 Generalmente, un ácido nucleico aislado será una composición homogénea de moléculas pero, en algunas realizaciones, contendrá una heterogeneidad menor. Habitualmente, esta heterogeneidad se encuentra en los extremos del polímero o porciones no cruciales para una función o actividad biológica deseada.

Un ácido nucleico "recombinante" se define por su procedimiento de producción o por su estructura. En referencia a su procedimiento de producción, por ejemplo un producto fabricado mediante un procedimiento, el procedimiento es el uso de técnicas de ácido nucleico recombinante que implican, por ejemplo, intervención humana en la secuencia

de nucleótidos, normalmente selección o producción. Como alternativa, puede ser un ácido nucleico fabricado generando una secuencia que comprende la fusión de dos fragmentos que no son contiguos entre sí de forma natural, pero se excluirán los productos de la naturaleza, por ejemplo mutantes naturales. Por tanto, por ejemplo, se abarca los productos fabricados transformando células con cualquier vector no natural, como también los ácidos nucleicos que comprenden la secuencia derivada usando cualquier procedimiento de oligonucleótido sintético. Esto se realiza a menudo para sustituir un codón con un codón redundante que codifica el mismo aminoácido o un aminoácido conservador, al tiempo que normalmente introduce o elimina un sitio de reconocimiento de secuencia. Como alternativa, se realiza la unión de segmentos de ácido nucleico de funciones deseadas, para generar una única entidad genética que comprende una combinación deseada de funciones no encontradas en las formas naturales disponibles habitualmente. A menudo, los sitios de reconocimiento para enzimas de restricción son la diana de dichas manipulaciones artificiales, pero por diseño se pueden incorporar otras dianas específicas de sitio, por ejemplo promotores, ADN, sitios de replicación, secuencias de regulación, secuencias control u otras características útiles. Un concepto similar se pretende para un polipéptido recombinante, por ejemplo de fusión. Específicamente se incluyen ácidos nucleicos sintéticos que, por redundancia del código genético, codifican polipéptidos similares a los fragmentos de estos antígenos, y fusiones de secuencias de varias variantes de especies diferentes.

Un "fragmento" significativo en un contexto de ácido nucleico es un segmento contiguo de al menos aproximadamente 17 nucleótidos, generalmente al menos 20 nucleótidos, más generalmente al menos 23 nucleótidos, habitualmente al menos 26 nucleótidos, más habitualmente al menos 29 nucleótidos, a menudo al menos 32 nucleótidos, más a menudo al menos 25 nucleótidos, habitualmente al menos 38 nucleótidos, más habitualmente al menos 41 nucleótidos, normalmente al menos 44 nucleótidos, más normalmente al menos 47 nucleótidos, preferentemente al menos 50 nucleótidos, más preferentemente al menos 53 nucleótidos y, en realizaciones particularmente preferidas, serán al menos 56 o más nucleótidos. Dichos fragmentos pueden tener extremos en cualquier localización, pero, especialmente, en los límites entre los dominios estructurales.

En otros aspectos, divulga polinucleótidos (o polipéptidos) que comprenden una pluralidad de distintos segmentos, por ejemplo, no solapantes, de la longitud especificada. Normalmente, la pluralidad ser al menos dos, más normalmente al menos tres y, preferentemente, 5, 7 o incluso más. Aunque se proporcionan las longitudes mínimas, longitudes mayores, de varios tamaños, pueden ser adecuadas, por ejemplo uno de longitud 7 y dos de longitud 12-

Un ADN que codifica una proteína IL-174 será particularmente útil para identificar genes, especies de ARNm y ADN que codifican proteínas relacionadas u homólogas, así como ADN que codifican proteínas homólogas de diferentes especies. Probablemente son homólogos en otras especies, incluidos primates. Varias proteínas de CTLA-8 deberían ser homólogas y están dentro del presente documento. No obstante, incluso las proteínas que tienen una relación de evolución más distante con el antígeno pueden aislarse más fácilmente en las condiciones adecuadas usando estas secuencias si son suficientemente homólogas. Las proteínas de proteína CTLA-8 de primate son de particular interés.

En el presente documento también se describen moléculas de ADN recombinante y fragmentos que tienen una secuencia de ADN idéntica o altamente homóloga con los ADN de IL-174 aislados expuestos en el presente documento. En particular, las secuencias a menudo estarán operablemente unidas a segmentos de ADN que controlan la transcripción, traducción y replicación de ADN. Como alternativa, los clones recombinantes derivados de las secuencias genómicas, por ejemplo que contienen intrones, serán útiles para estudios transgénicos, incluidos, por ejemplo, células y organismos transgénicos, y para terapia génica. Véase, por ejemplo, Goodnow (1992) "Transgenic Animals" en Roitt (ed.) Encyclopedia of Immunology Academic Press, San Diego, pp. 1502-1504; Travis (1992) Science 256:1392-1394; Kuhn, y col. (1991) Science 254:707-710; Capecchi (1989) Science 244:1288; Robertson (ed. 1987) Teratocarcinomas and Embryonic Stem Cells: A Practical Approach IRL Press, Oxford; Rosenberg (1992) J. Clinical Oncology 10:180-199; y Cournoyer y Caskey (1993) Ann. Rev. Immunol. 11:297-329.

Las secuencias de ácidos nucleicos homólogos, cuando se comparan, exhibe una similitud significativa. Los patrones de homología en ácidos nucleicos son medidas de homología generalmente usadas en la técnica mediante comparación de secuencia o basadas en condiciones de hibridación. Las condiciones de hibridación se describen más detalladamente más adelante.

Homología sustancial en el contexto de comparación de secuencias de ácido nucleico significa que los segmentos, o sus hebras complementarias, cuando se comparan, son idénticos cuando están alineados óptimamente, con las inserciones o deleciones de nucleótidos adecuadas, en al menos aproximadamente el 50 % de los nucleótidos, en general al menos el 56 %, más generalmente al menos 50 %, habitualmente al menos 62 %, más habitualmente al menos 65 %, a menudo al menos 68 %, más a menudo al menos 71 %, normalmente al menos 74 %, más normalmente al menos 77 %, habitualmente al menos 80 %, más habitualmente al menos aproximadamente 85 %, preferentemente al menos aproximadamente 90 %, más preferentemente al menos aproximadamente 95 a 98 % o más, y, en realizaciones concretas, tan alta como de aproximadamente 99 % o más de los nucleótidos. Como alternativa, existe una homología sustancial cuando los segmentos hibridarán en condiciones de hibridación selectiva, con una hebra, o su complementaria, usando normalmente una secuencia derivada de la Tabla 2, 3 o 6. Normalmente se producirá hibridación selectiva cuando hay una homología de al menos aproximadamente 55 % en una extensión de al menos aproximadamente 14 nucleótidos, preferentemente al menos aproximadamente 65 %,

más preferentemente al menos aproximadamente 75 % y, más preferentemente, al menos aproximadamente 90 %. Véase, Kanehisa (1984) *Nuc. Acids Res.* 12:203-213. La longitud de la comparación de la homología, como se ha descrito, puede estar sobre tiras largas y, en ciertas realizaciones, estará sobre una tira de al menos aproximadamente 17 nucleótidos, normalmente al menos aproximadamente 20 nucleótidos, más normalmente al menos aproximadamente 24 nucleótidos, normalmente al menos aproximadamente 28 nucleótidos, más normalmente al menos aproximadamente 40 nucleótidos, preferentemente, al menos aproximadamente 50 nucleótidos y, más preferentemente, al menos aproximadamente 75 a 100 o más nucleótidos.

Condiciones rigurosas, en cuanto a la homología en el contexto de hibridación, serán condiciones rigurosas combinadas de sal, temperatura, disolventes orgánicos y otros parámetros, normalmente los controlados en las reacciones de hibridación. Condiciones de temperatura rigurosas normalmente incluirán temperaturas superiores a aproximadamente 30 °C, más normalmente superiores a aproximadamente 37 °C, normalmente superiores a aproximadamente 45 °C, más normalmente superiores a aproximadamente 55 °C, preferentemente superiores a aproximadamente 65 °C y, más preferentemente, superiores a aproximadamente 70 °C. Las condiciones rigurosas de sales serán, normalmente, inferiores a aproximadamente 1000 mM, normalmente, inferiores a aproximadamente 500 mM, más normalmente, inferiores a aproximadamente 400 mM, habitualmente inferiores a aproximadamente 300 mM, preferentemente inferiores a aproximadamente 200 mM y, más preferentemente inferiores a aproximadamente 150 mM. No obstante, la combinación de parámetros es mucho más importante que la medida de cualquier parámetro por separado. Véase, por ejemplo, Wetmur y Davidson (1968) *J. Mol. Biol.* 31:349-370. La hibridación en condiciones rigurosas deberá proporcionar un fondo de a menos 2 veces el fondo, preferentemente al menos 3-5 o más.

Como alternativa, para comparar secuencias, normalmente una secuencia actúa como secuencia de referencia con la que se comparan las secuencias problema. Cuando se usa un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias problema y de referencia se introducen en un ordenador, se designan las coordenadas de la subsecuencia, en caso necesario, y se designan los parámetros del programa del algoritmo de secuencias. A continuación, el algoritmo de comparación de secuencias calcula el porcentaje de identidad de secuencia para la(s) secuencia(s) problema con respecto a la secuencia de referencia, en base a los parámetros del programa designados.

La alineación óptima de secuencias para comparación se puede efectuar mediante, por ejemplo, el algoritmo de homología local de Smith y Waterman (1981) *Adv. Appl. Math.* 2:482, el algoritmo de alineación por homología de Needleman y Wunsch (1970) *J. Mol. Biol.* 48:443, mediante el procedimiento de búsqueda de similitudes de Pearson y Lipman (1988) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85:2444, mediante implementaciones computerizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el paquete de software Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), o mediante inspección visual (véase, en general, Ausubel y col., ant.).

Un ejemplo de un algoritmo útil es PILEUP. PILEUP crea una alineación de múltiples secuencias de un grupo de secuencias relacionadas usando alineaciones pareadas progresivas para mostrar la relación y el porcentaje de identidad de secuencia. También representa un árbol o dendrograma que muestra las relaciones de agrupamiento usadas para crear la alineación. PILEUP usa una simplificación del procedimiento de alineación progresiva de Feng y Doolittle (1987) *J. Mol. Evol.* 35:351-360. El procedimiento usado es similar al procedimiento descrito por Higgins y Sharp (1989) *CABIOS* 5:151-153. El programa puede alinear hasta 300 secuencias, cada una de una longitud máxima de 5.000 nucleótidos o aminoácidos. El procedimiento de alineación múltiples comienza con la alineación pareada de las dos secuencias más similares, produciendo un grupo de dos secuencias alineadas. Después, este grupo se alinea a la siguiente secuencia más relacionada, o grupo de secuencias alineadas. Dos grupos de secuencias se alinean mediante extensión simple de la alineación apareada de dos secuencias individuales. La alineación final se consigue mediante una serie de alineaciones pareadas progresivas. El programa se ejecuta diseñando secuencias específicas y sus coordenadas de aminoácidos o nucleótidos para regiones de comparación de secuencia y designando los parámetros del programa. Por ejemplo, una secuencia de referencia se puede comparar con otras secuencias problema para determinar la relación del porcentaje de identidad de secuencia usando los parámetros siguientes: Peso del hueco por defecto (3,00), peso de la longitud del hueco por defecto (0,10) y huecos terminales pesados.

Otro ejemplo de un algoritmo que es adecuado para determinar el porcentaje de identidad de secuencia y la similitud de secuencia es el algoritmo BLAST, que se describe en Altschul y col. (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410. El software para realizar análisis BLAST está disponible para el público a través del National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Este algoritmo implica identificar primero pares de secuencia de alta puntuación (HSP) identificando palabras cortas de longitud W en la secuencia problema que coinciden o satisfacen alguna puntuación T umbral de valor positivo cuando se alinea con una palabra de la misma longitud en una secuencia de la base de datos. T es el umbral de la puntuación de la palabra vecina (Altschul y col., anteriormente). Estas coincidencias de la palabra vecina inicial actúan como semillas para iniciar las búsquedas para encontrar los HSP que las contienen. Después, las coincidencias con la palabra se extienden en ambas direcciones a lo largo de cada secuencia todo lo que la puntuación de la alineación acumulada se pueda incrementar. La extensión para las coincidencias de la palabra en cada dirección se detienen cuando: La puntuación de la alineación acumulada se salga de la cantidad X a partir de su valor máximo alcanzado; la puntuación acumulada llega a cero o menor, debido

a la acumulación de una o más alineaciones de residuos que puntúan negativo; o se alcanza el final de cualquiera de las secuencias. Los parámetros del algoritmo BLAST W, T y X determinan la sensibilidad y la velocidad de la alineación. El programa BLAST usa como valores predeterminados una longitud de palabra (W) de 11, las alineaciones (B) de la matriz de puntuación BLOSUM62 de 50 (véase Henikoff and Henikoff (1989) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 89:10915), expectativa (E) de 10, M= 5, N= 4, y una comparación de ambas hebras.

Además de calcular el porcentaje de identidad de secuencia, el algoritmo BLAST realiza un análisis estadístico de la similitud entre dos secuencias (véase, p. ej., Karlin y Altschul (1993) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 90:5873-5787). Una medida de la similitud proporcionada por el algoritmo BLAST es la probabilidad de la suma más pequeña ((P(N)), que proporciona una indicación de la probabilidad de que se produzca al azar una coincidencia entre dos secuencias de nucleótidos o de aminoácidos. Por ejemplo, un ácido nucleico se considera similar a una secuencia de referencia si la probabilidad de suma más pequeña en una comparación del ácido nucleico problema con el ácido nucleico de referencia es inferior a aproximadamente 0,1, más preferentemente inferior a aproximadamente 0,01 y, lo más preferentemente, inferior a aproximadamente 0,001.

Una indicación adicional de que las dos secuencias de ácido nucleico de los polipéptidos son sustancialmente idénticas es que el polipéptido codificado por el primer ácido nucleico es inmunológicamente transreactivo con el polipéptido codificado por el segundo ácido nucleico, como se describe más adelante. Por tanto, normalmente, un polipéptido es sustancialmente idéntico a un segundo polipéptido cuando, por ejemplo, los dos péptidos difieren únicamente en las sustituciones conservadoras. Otra indicación de que las dos secuencias de ácido nucleico son sustancialmente idénticas es que las dos moléculas hibridan entre sí en condiciones rigurosas, como se describe más adelante.

Las proteínas CTL-A8 de otra especie de mamífero se pueden clonar y aislar mediante hibridación de especies cruzadas con especies estrechamente relacionadas, por ejemplo ser humano, como se divulga en las Tablas 1-7. La homología puede ser relativamente baja entre especies relacionadas de forma distante y, por tanto, se aconseja la hibridación de especies relativamente estrechamente relacionadas- Como alternativa, la preparación de una preparación de anticuerpos que exhibe menos especificidad de especie puede ser útil en los enfoques de clonación de expresión.

III. Proteína IL-174 purificada

La secuencia predicha del polipéptido de IL-173 de primate, por ejemplo de ser humano, y de roedor, por ejemplo de ratón, se muestra en la Tabla 2. De forma similar, en la Tabla 3 se proporciona la secuencia de IL-174 de primate, por ejemplo de ser humano, y se le ha asignado la SEC ID N° 14. En la Tabla 3 también se describe una IL-174 de roedor, por ejemplo murina. Las secuencias peptídicas permiten la preparación de péptidos para generar anticuerpos para reconocer dichos segmentos.

Como se usa en el presente documento, las expresiones "proteína IL-174 de primate" y "proteína IL-174 de roedor" abarcarán, cuando se usan en un contexto proteico, una proteína que tiene secuencias de aminoácido designadas mostradas en la Tabla 3, o un fragmento significativo de dicha proteína. También se refiere a un polipéptido derivado de primate o roedor que exhibe una función biológica similar o interacciona con los componentes de unión específicos de la proteína IL-174. Estos componentes de unión, por ejemplo anticuerpos, normalmente se unen a una proteína IL-174 con afinidad alta, por ejemplo al menos 100 nM, normalmente mejor que aproximadamente 30 nM, preferentemente mejor que aproximadamente 10 nM, y más preferentemente mejor que aproximadamente nM. Las proteínas homólogas se encontrarían en especies de mamífero, aparte de rata o seres humanos, por ejemplo ratón, primates y en el genoma del virus del herpes, por ejemplo ORF13. Las especies no mamíferas también deberían poseer genes y proteínas estructural o funcionalmente relacionados.

El término "polipéptido", como se usa en el presente documento, incluye un fragmento o segmento significativo, y abarca una tira de residuos de aminoácidos de al menos aproximadamente 8 aminoácidos, generalmente al menos 10 aminoácidos, más generalmente al menos 12 aminoácidos, a menudo al menos 14 aminoácidos, más a menudo al menos 16 aminoácidos, normalmente al menos 18 aminoácidos, más normalmente al menos 20 aminoácidos, normalmente al menos 22 aminoácidos, más normalmente al menos 24 aminoácidos, preferentemente al menos 26 aminoácidos, más preferentemente al menos 28 aminoácidos y, en realizaciones particularmente preferidas, al menos aproximadamente 30 o más aminoácidos. Los extremos específicos de tal segmento estarán en cualquier combinación en la proteína, abarcando preferentemente dominios estructurales.

La expresión "composición de unión" se refiere a moléculas que se unen con especificidad a la proteína IL-174, por ejemplo de un modo ligando-receptor, una interacción anticuerpo-antígeno o compuestos, por ejemplo, proteínas, que se asocian específicamente con la proteína IL-174, por ejemplo en una interacción proteína-proteína natural fisiológicamente relevante, bien covalente o no covalente. La molécula puede ser un polímero o un reactivo químico. No se representa ninguna implicación en cuanto a si la proteína IL-170 es el ligando o el receptor de una interacción ligando-receptor, aparte de que la interacción exhibe una especificidad similar, por ejemplo una afinidad específica. Un análogo funcional puede ser una proteína con modificaciones estructurales o puede ser una molécula completamente no relacionada, por ejemplo que tiene una forma molecular que interacciona con los determinantes de unión adecuados. Las proteínas pueden servir como agonistas o antagonistas de un receptor, véase, por

ejemplo, Goodman y col. (eds. 1990) Goodman & Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics (8ª ed.), Pergamon Press.

5 La solubilidad de un polipéptido o fragmento depende del entorno y del polipéptido. Muchos parámetros afectan a la solubilidad del polipéptido, incluidos la temperatura, el entorno de electrolitos, el tamaño y las características moleculares del polipéptido, y la naturaleza del disolvente. Normalmente, la temperatura a la cual se usa el polipéptido varía de aproximadamente 4 °C a aproximadamente 65 °C. Normalmente, la temperatura de uso es superior a aproximadamente 18 °C y más normalmente superior a aproximadamente 22 °C. Para fines diagnósticos, la temperatura será, normalmente, aproximadamente la temperatura ambiente o mayor, pero inferior a la temperatura de desnaturalización de los componentes del ensayo. Para fines terapéuticos, la temperatura será, normalmente, la temperatura corporal, normalmente aproximadamente 37 °C para seres humanos, aunque en ciertas situaciones la temperatura se puede elevar o disminuir in situ o in vitro.

Normalmente, los electrolitos se aproximarán a las condiciones fisiológicas in situ, pero se pueden modificar a una resistencia iónica mayor o menor cuando sea ventajoso. Los iones reales se pueden modificar para, por ejemplo, adaptarse a los tampones estándar usados en contextos fisiológicos o analíticos.

15 El tamaño y la estructura del polipéptido estarán, en general, en un estado sustancialmente estable y normalmente no estará en estado desnaturalizado. El polipéptido se puede asociar con otros polipéptidos en una estructura cuaternaria para, por ejemplo, conferir solubilidad, o se puede asociar con lípidos o detergentes de un modo que aproxime las interacciones de bicapa lipídica naturales.

20 Normalmente, el disolvente será un tampón biológicamente compatible de un tipo usado para la conservación de actividades biológicas y normalmente se aproximará al disolvente fisiológico. Normalmente, el disolvente tendrá un pH neutro, normalmente entre aproximadamente 5 y 10, y, preferentemente, aproximadamente 7,5. En ocasiones se añadirá un detergente, normalmente uno no desnaturalizado débil, por ejemplo CHS o CHAPS, o a una concentración suficientemente baja como para evitar una alteración significativa de las propiedades estructurales o fisiológicas del antígeno.

25 La solubilidad está reflejada por la sedimentación medida en unidades Svedberg, que constituyen una medida de la velocidad de sedimentación de una molécula en condiciones concretas. Tradicionalmente, la determinación de la velocidad de sedimentación se ha efectuado en una ultracentrífuga analítica, pero en la actualidad se realiza habitualmente en una ultracentrífuga estándar. Véase, Freifelder (1982) Physical Biochemistry (2d ed.), W.H. Freeman; y Cantor y Schimmel (1980) Biophysical Chemistry, partes 1-3, W.H. Freeman & Co., San Francisco.

30 Como determinación bruta, una muestra que contiene un supuesto polipéptido soluble se centrifuga en una ultracentrífuga estándar de tamaño completo a aproximadamente 50K rpm durante aproximadamente 10 minutos y las moléculas solubles permanecerán en el sobrenadante. Una partícula o polipéptido soluble será, normalmente, inferior a aproximadamente 30S, más normalmente inferior a aproximadamente 15S, habitualmente inferior a aproximadamente 10S, más habitualmente inferior a aproximadamente 6S y, en realizaciones concretas, preferentemente inferior a aproximadamente 4S y más preferentemente inferior a aproximadamente 3S.

IV. Fabricación de la proteína IL-174; Miméticos

El ADN que codifica la proteína IL-174 o fragmentos de la misma se pueden obtener mediante síntesis química, detección selectiva de bibliotecas de ADNc o mediante detección selectiva de bibliotecas genómicas preparadas a partir de una amplia variedad de líneas celulares o de muestras de tejido.

40 Este ADN se puede expresar en una amplia variedad de células huésped para la síntesis de una proteína de longitud completa o fragmentos que a su vez pueden usarse para, por ejemplo, generar anticuerpos policlonales o monoclonales; para estudios de unión; para construcción y expresión de moléculas modificadas; y para estudios de estructura/función. Cada antígeno o sus fragmentos se puede expresar en células huésped que se han transformado o transfectado con vectores de expresión adecuados. Estas moléculas se pueden purificar sustancialmente para que estén libres de proteínas o contaminantes celulares, aparte de los derivados del huésped recombinante y, por tanto, son particularmente útiles en composiciones farmacéuticas cuando se combinan con un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable. El antígeno, o porciones del mismo, se puede expresar como fusiones con otras proteínas.

50 Normalmente, los vectores de expresión sin construcciones de ADN o ARN autoreplicantes que contienen el gen del antígeno deseado o sus fragmentos, normalmente unido operablemente a elementos de control genético adecuados que son reconocidos en una célula huésped adecuada. Estos elementos de control pueden efectuar la expresión en un huésped adecuado. El tipo específico de elementos de control necesarios para efectuar la expresión depende de la eventual célula huésped usada. En general, los elementos de control genéticos pueden incluir un sistema de promotor procariótico o un sistema de control de la expresión promotor eucariótico y normalmente incluyen un promotor transcripcional, un operador opcional para controlar el inicio de la transcripción, potenciadores de la transcripción para elevar los niveles de expresión de ARNm, una secuencia que codifica un sitio de unión al ribosoma adecuado y secuencias que terminan la transcripción y la traducción. Asimismo, los vectores de expresión habitualmente contienen un origen de replicación que permite que el vector se replique de forma independiente de la

célula huésped. También se conocen los procedimientos para amplificar el número de copias del vector, véase, p. ej., Kaufman y col. (1985) *Molec. and Cell. Biol* 5:1750-1759.

Los vectores descritos en el presente documento contienen ADN que codifica una proteína de IL-174, o un fragmento de la misma, que normalmente codifica un polipéptido biológicamente activo. El ADN puede estar bajo el control de un promotor viral y puede codificar un marcador de selección. La presente invención contempla además el uso de dichos vectores de expresión que son capaces de expresar ADNc eucariótico que codifica una proteína IL-174 en un huésped procarionta o eucariota, en el que el vector es compatible con el huésped y en el que el ADNc eucariótico que codifica el antígeno se inserta en el vector de modo que el crecimiento del huésped que contiene el vector expresa el ADNc en cuestión. Normalmente, los vectores de expresión están diseñados para la replicación estable en sus células huésped o para amplificación para incrementar considerablemente el número total de copias del gen deseable por célula. No siempre es necesario requerir que un vector de expresión se replique en una célula huésped, por ejemplo es posible efectuar la expresión transitoria del antígeno, o sus fragmentos, en varios huéspedes usando vectores que no contienen un origen de replicación reconocido por la célula huésped. También es posible usar vectores que producen la integración de un gen de la proteína IL-174 o sus fragmentos en el ADN del huésped mediante recombinación o integrar un promotor que controle la expresión de un gen endógeno.

Los vectores, como se usan en el presente documento, comprenden plásmidos, virus, bacteriófagos, fragmentos de ADN integrables y otros vehículos que permiten la integración de fragmentos de ADN en el genoma del huésped. Los vectores de expresión son vectores especializados que contienen elementos de control genético que efectúan la expresión de genes operablemente unidos. Los plásmidos son la forma de vector más usada, pero todas las demás formas de vectores que sirven una función equivalente y que se conocen, o pasan a ser conocidos, en la técnica son adecuadas para usar en el presente documento. Véase, por ejemplo, Pouwels y col. (1985 y Suplementos) *Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, Elsevier, N.Y., y Rodríguez, y col. (eds. 1988) *Vectors: A Survey of Molecular Cloning Vectors and Their Uses*, Butterworth, Boston, MA.

Las células transformadas incluyen células, preferentemente de mamíferos, que se han transformado o transfectado con vectores que contienen un gen de IL-174, construidos normalmente usando técnicas de ADN recombinante. Las células huésped transformadas normalmente expresan el antígeno o sus fragmentos, pero para fines de clonación, amplificación y manipulación de su ADN, no necesitan expresar la proteína. En el presente documento también se describe el cultivo de células transformadas en un medio nutritivo, de modo que se permite que la proteína se acumule en el cultivo. La proteína se puede recuperar del cultivo o del medio de cultivo.

Para los fines descritos en el presente documento, las secuencias de ADN están operablemente unidas cuando están funcionalmente relacionadas entre sí. Por ejemplo, el ADN para una presecuencia o secuencia líder secretora está operablemente unido a un polipéptido si se expresa en forma de una preproteína o participa en la dirección del polipéptido a la membrana celular o en la secreción del polipéptido. Un promotor está operablemente unido a una secuencia de codificación si controla la transcripción del polipéptido, un sitio de unión al ribosoma está operablemente unido a una secuencia de codificación si está colocado para permitir la traducción. Normalmente, operablemente unido significa contiguo y en el marco de lectura, no obstante, ciertos elementos genéticos, como los genes represores, no están unidos de forma contigua pero se siguen uniendo a las secuencias del operador que, a su vez, controlan la expresión.

Las células huésped adecuadas incluyen células procariontas, eucariotas inferiores y eucariotas superiores. Los procariontas incluyen organismos gramnegativos y grampositivos, por ejemplo *E. coli* y *B. subtilis*. Los eucariotas inferiores incluyen levaduras, por ejemplo *S. cerevisiae* y *Pichia*, y especies del género *Dictyostelium*. Los eucariotas superiores incluyen líneas celulares de cultivo celular establecido de células animales, tanto de origen no mamífero, por ejemplo células de insecto, y aves, como de origen mamífero, por ejemplo ser humano, primates y roedores.

Los sistemas de vector-huésped procarionta incluyen una amplia variedad de vectores para muchas especies diferentes. Como se usa en el presente documento, *E. coli* y sus vectores se usarán genéricamente para incluir vectores equivalentes usados en otros procariontas. Un vector representativo para amplificar el ADN es pBR322 o muchos de sus derivados. Los vectores que se pueden usar para expresar las proteínas IL-174 o sus fragmentos incluyen, entre otros, vectores como los que contienen el promotor lac (serie pUC); el promotor trp (pBR322-trp); el promotor lpp (serie pIN); el promotor lambda-pP o los promotores pR (pOTS); o promotores híbridos tales como ptac (pDR540). Véase Brosius y col. (1988) "Expression Vectors Employing Lambda-, trp-, lac-, and lpp-derived Promoters", en Rodríguez y Denhardt (eds.) *Vectors: A Survey of Molecular Cloning Vectors and Their Uses*, Butterworth, Boston, Capítulo 10, pp. 205-236.

Los eucariotas inferiores, por ejemplo levaduras y *Dictyostelium*, se pueden transformar con vectores que codifican las proteínas IL-174. Para los fines de la presente invención, el huésped eucariota inferior más frecuente es la levadura de panadero, *Saccharomyces cerevisiae*. Se usará para representar genéricamente eucariotas inferiores, aunque también se dispone de un número de otras cepas y especies. Habitualmente, los vectores de levadura consisten en un origen de replicación (a menos que sea del tipo de integración), un gen de selección, un promotor, ADN que codifica la proteína deseada o sus fragmentos y las secuencias para la terminación de la traducción, poliadenilación y terminación de la transcripción. Vectores de expresión adecuados para levaduras incluyen dichos promotores constitutivos, tales como 3-fosfoglicerato quinasa y otros varios promotores de genes de enzimas

glicolíticas o promotores inducibles tales como el promotor de la alcohol deshidrogenasa 2 o el promotor de la metalotionina. Vectores adecuados incluyen derivados de los tipos siguientes: número de copias bajo de autoreplicantes (tal como la serie YRp), número de copias alto de autoreplicantes (tal como la serie YE_p); tipos de integración (tal como la serie YIp) o minicromosomas (tal como la serie YCp).

- 5 Células de cultivo tisular de eucariotas superiores son las células huésped preferidos para la expresión de la proteína IL-170 funcionalmente activa. En principio, se puede trabajar con muchas líneas celulares de cultivo tisular de eucariotas superiores, por ejemplo sistemas de expresión baculovirus de insecto, ya sea de una fuente invertebrada o vertebrada. No obstante, se prefieren las células de mamífero, en cuanto al procesamiento, tanto cotraduccionalmente como postraduccionalmente. La transformación o transfección y propagación de dichas células se ha convertido en un procedimiento de rutina. Ejemplos de líneas celulares útiles incluyen células HeLa, líneas celulares de ovario de hámster chino (CHO), líneas de células de riñón de rata neonata (BRK), líneas celulares de insecto, líneas celulares de ave y líneas celulares de mono (COS). Los vectores de expresión para dichas líneas celulares normalmente incluyen un origen de replicación, un promotor, un sitio de iniciación de la traducción, sitios de corte y empalme de ARN (si se usa ADN genómico), u sitio de poliadenilación y un sitio de terminación de la transcripción. Normalmente estos vectores contienen un gen de selección o un gen de amplificación. Los vectores de expresión adecuados pueden ser plásmidos, virus o retrovirus portadores de promotores derivados de, por ejemplo, fuentes tales como adenovirus, SV40, parvovirus, virus variolovacunal o citomegalovirus. Ejemplos representativos de vectores de expresión adecuados incluyen pCDNA1: pCD, véase Okayama, y col. (1985) Mol. Cell Biol. 5:1136-1142; pMCIneo Poly-A, véase Thomas, y col. (1987) Cell 51:503-512; y un vector baculovirus tal como pAC 373 o pAC 610, véase O'Reilly, y col. (1992) Baculovirus Expression Vectors: A Laboratory Manual Freeman and Co., CRC Press, Boca Raton, Fla.

- 25 A menudo se desea expresar un polipéptido de la proteína IL-174 en un sistema que proporciona un patrón de glicosilación específico o definido. En este caso, el patrón habitual será el proporcionado de forma natural por el sistema de expresión. No obstante, el patrón se podrá modificar mediante exposición del polipéptido, por ejemplo una forma no glicosilada, a proteínas de glicosilación adecuadas introducidas en un sistema de expresión heterólogo. Por ejemplo, el gen de la proteína IL-174 se puede co-transformar con uno o más genes que codifican enzimas de glicosilación de mamífero o de otros. Usando este enfoque, se conseguirán ciertos patrones de glicosilación de mamífero o se aproximarán en células procariotas o de otro tipo.

- 30 La proteína IL-174, o un fragmento de la misma, se puede someter a ingeniería para unirse mediante fosfatidilinositol (PI) a una membrana celular, pero se puede retirar de las membranas mediante tratamiento con una enzima de escisión del fosfatidil inositol, por ejemplo fosfatidil inositol fosfolipasa C. Esto libera el antígeno en una forma biológicamente activa y permite la purificación mediante procedimientos estándar de química proteica. Véase, por ejemplo, Low (1989) Biochim. Biophys. Acta 988:427-454; Tse, y col. (1985) Science 230:1003-1008; y Brunner, y col. (1991) J. Cell Biol. 114:1275-1283.

- 35 Una vez que se ha caracterizada la proteína IL-174, se pueden preparar fragmentos o derivados de la misma mediante procedimientos convencionales para sintetizar péptidos. Estos incluyen procedimientos como los descritos en Stewart y Young (1984) Solid Phase Peptide Synthesis, Pierce Chemical Co., Rockford, IL; Bodanszky y Bodanszky (1984) The Practice of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, New York; y Bodanszky (1984) The Principles of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, New York. Por ejemplo, un proceso con azida, un proceso con cloruro ácido, un proceso con anhídrido ácido, un proceso con anhídrido mixto, un proceso con éster activo (p. ej., éster de p-nitrofenilo, éster N-hidroxisuccinimida o éster de cianometilo), un proceso con carbodiimidazol, un proceso de oxidación-reducción, o un proceso con dicitohexilcarbodiimida (DCCD)/aditivo. Las síntesis de fase sólida y de fase en solución son ambas aplicables a los procesos anteriores.

- 45 La proteína IL-174, fragmentos o derivados se preparan adecuadamente de acuerdo con los procedimientos anteriores, como habitualmente se emplean en la síntesis peptídica, generalmente mediante un denominado procedimiento escalonado que comprende condensar un aminoácido con el aminoácido terminal, uno por uno en secuencia, o acoplado fragmentos peptídicos al aminoácido terminal. Los grupos amino que no se están usando en la reacción de acoplamiento normalmente están protegidos para evitar el acoplamiento en una localización incorrecta.

- 50 Si se adopta una síntesis de fase sólida, el aminoácido en el extremo C se une a un vehículo o soporte insoluble a través de su grupo carboxilo. El vehículo insoluble no está particularmente limitado, siempre que tenga capacidad de unión a un grupo carboxilo reactivo. Ejemplos de dichos vehículos insolubles incluyen resinas de halometilo, tales como la resina de clorometilo o resina de bromometilo, resinas de hidroximetilo, resinas de fenol, resinas terciarioalquilocarbonilhidrazidadas y similares.

- 55 Un aminoácido protegido por el grupo amino se une en secuencia mediante condensación de su grupo carboxilo activado y el grupo amino reactivo del péptido o cadena previamente formados, para sintetizar el péptido etapa por etapa. Después de sintetizar la secuencia completa, el péptido de suelta del vehículo insoluble para producir el péptido. Este enfoque en fase sólida se describe, en general, en Merrifield y col. (1963) in J. Am. Chem. Soc. 85:2149-2156.

La proteína preparada y fragmentos de la misma se puede aislar y purificar en la mezcla de reacción por medio de separación peptídica, por ejemplo mediante extracción, precipitación, electroforesis y varias formas de cromatografía y similares. Las proteínas IL-174 descritas en el presente documento se pueden obtener en varios grados de pureza en función de su uso deseado. La purificación se puede realizar mediante el uso de técnicas de purificación proteica divulgadas en el presente documento o mediante el uso de los anticuerpos descritos en el presente documento en cromatografía de afinidad inmunoabsorbente. Esta cromatografía de afinidad inmunoabsorbente se lleva a cabo uniendo primero los anticuerpos a un soporte sólido y, después, poniendo en contacto los anticuerpos unidos con lisados solubilizados de células fuente adecuadas, lisados de otras células que expresan la proteína o lisados o sobrenadantes de células productoras de la proteína IL-174 como resultado de las técnicas de ADN, véase más adelante.

V. Variantes físicas

Las proteínas o péptidos que tienen una homología sustancial de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de la proteína IL-174 también se describen en el presente documento. Las variantes incluyen especies o variantes alélicas.

La homología de la secuencia de aminoácidos, o identidad de secuencia, se determina optimizando los apareamientos de residuos, en caso necesario introduciendo huecos según se requiera. Esto cambia al considerar las sustituciones conservadoras como coincidencias. Normalmente, las sustituciones conservadoras incluyen sustituciones dentro de los grupos siguientes: glicina, alanina; valina, isoleucina, leucina; ácido aspártico, ácido glutámico; asparagina, glutamina; serina, treonina; lisina, arginina; y fenilalanina, tirosina. Normalmente, con las secuencias de aminoácidos homólogas se pretenden incluir variaciones naturales alélicas e interespecies en cada respectiva secuencia de proteínas. Las proteínas o péptidos homólogos típicos tendrán una homología del 25-100 % (si se pueden introducir huecos) a una homología del 50-100 % (si se incluyen sustituciones conservadoras) con la secuencia de aminoácidos de la proteína IL-174. Las medidas de homología serán, al menos, aproximadamente 35 %, generalmente al menos 40 %, más generalmente al menos 45 %, a menudo al menos 50 %, más a menudo al menos 55 %, normalmente al menos 60 %, más normalmente al menos 65 %, normalmente al menos 70 %, más normalmente al menos 75 %, preferentemente al menos 80 % y, más preferentemente, al menos 80 %, y, en realizaciones particularmente preferidas, al menos 85 % o más. Véase también Needleham y col. (1970) *J. Mol. Biol.* 48:443-453; Sankoff, y col. (1983) Capítulo uno en *Time Warps, String Edits, and Macromolecules: The Theory and Practice of Sequence Comparison* Addison-Wesley, Reading, MA; y paquetes de software de IntelliGenetics, Mountain View, CA; y la University of Wisconsin Genetics Computer Group, Madison, WI.

El ADN aislado que codifica una proteína IL-174 se puede modificar fácilmente mediante sustituciones de nucleótidos, deleciones de nucleótidos, inserciones de nucleótidos e inversiones de tiras de nucleótidos. Estas modificaciones tienen como resultado nuevas secuencias de ADN que codifican estos antígenos, sus derivados o proteínas que tienen actividad fisiológica, inmunogénica o antigénica. Estas secuencias modificadas se pueden usar para producir antígenos mutantes o para potenciar la expresión. La expresión potenciada puede implicar amplificación génica, incremento de la transcripción, incremento de la traducción y otros mecanismos. Dichos derivados de proteína IL-174 mutantes incluyen mutaciones predeterminadas o específicas de sitio de la respectiva proteína o sus fragmentos. "Proteína IL-174 mutante" abarca un polipéptido que, de otro modo, entra dentro de la definición de homología de la proteína IL-174 murina o IL-174 humana como se ha indicado anteriormente, pero que tiene una secuencia de aminoácidos que difiere de la de la proteína IL-174 que se encuentra en la naturaleza, por deleción, sustitución o inserción. En particular, "proteína IL-174 mutante específica de sitio" generalmente incluye proteínas que tienen una homología significativa con la correspondiente proteína que tiene secuencias de la Tabla 3 y que comparten varias actividades biológicas, por ejemplo antigénica o inmunogénica, con dichas secuencias y, en realizaciones preferidas, contienen la mayoría de las secuencias divulgadas. Conceptos similares se aplican a diferentes proteínas IL-174, particularmente las que se encuentran en varios animales de sangre caliente, por ejemplo mamíferos y aves. Como se ha indicado anteriormente, se subraya que, en general, con las descripciones se quiere abarcar todas las proteínas IL-174, no limitadas a la realización en ratón tratada específicamente.

Aunque los sitios de mutación específica de sitio están predeterminados, los mutantes no tienen que ser específicos de sitio. La mutagénesis de la proteína IL-174 se puede realizar efectuando inserciones o deleciones de aminoácidos. Se pueden generar sustituciones, deleciones, inserciones o cualquier combinación para llegar a una construcción final. Inserciones incluyen fusiones de amino o carboxi-terminales. Se puede realizar mutagénesis aleatoria en un codón diana y los mutantes expresados se pueden someter a detección selectiva para detectar la actividad deseada. Procedimientos para realizar mutaciones de sustitución en sitios predeterminados en el ADN que tienen una secuencia conocida son bien conocidos en la técnica, por ejemplo mediante técnicas de mutagénesis con cebador M13 o reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Véase también Sambrook y col. (1989) y Ausubel, y col. (1987 y Suplementos).

Normalmente, las mutaciones en el ADN no deberían colocar secuencias de codificación fuera del marco de lectura y, preferentemente, no crearán regiones complementarias que podrían hibridar para producir la estructura secundaria del ARNm, tales como bucles u horquillas.

En el presente documento también se describen proteínas recombinantes, por ejemplo proteínas de fusión

heterólogas usando segmentos de estas proteínas.

Una proteína de fusión heteróloga es una fusión de proteínas o segmentos que en la naturaleza no están fusionadas normalmente del mismo modo. Por tanto, el producto de fusión de una inmunoglobulina con un polipéptido de IL-174 es una molécula proteica continua que tiene secuencias fusionadas en un enlace peptídico típico, normalmente preparada como un producto de traducción único y que exhibe propiedades derivadas de cada péptido fuente. Un concepto similar se aplica a las secuencias de ácido nucleico heterólogas.

Además, se pueden fabricar nuevas construcciones a partir de combinar dominios funcionales similares de otras proteínas. Por ejemplo, la unión a antígeno u otros segmentos se pueden "barrer" entre diferentes polipéptidos o fragmentos de fusión nuevos Véase, por ejemplo, Cunningham y col. (1989) Science 243:1330-1336; y O'Dowd, y col. (1988) J. Biol. Chem. 263:15985-15992. Por tanto, nuevos polipéptidos quiméricos que exhiben nuevas combinaciones de especificidades serán el resultado del enlace funcional de dominios biológicamente relevantes y otros dominios funcionales.

El procedimiento de fosforoamidita descrito por Beaucage y Carruthers (1981) Tetra. Letts. 22:1859-1862, producirá fragmentos de ADN sintético adecuados. Un fragmento bicatenario a menudo se obtendrá mediante síntesis de la hebra complementaria y la hibridación de la hebra en las condiciones adecuadas o mediante adición de la hebra complementaria usando ADN polimerasa con una secuencia cebadora adecuada, por ejemplo técnicas de PCR.

VI. Variantes funcionales

El bloqueo de la respuesta fisiológica a las proteínas IL-174 puede ser el resultado de la inhibición de la unión del antígeno a su pareja de unión natural mediante, por ejemplo, inhibición competitiva. Por tanto, los ensayos in vitro de acuerdo con la presente invención a menudo usarán proteínas aisladas, membranas de células que expresan una proteína IL-174 recombinante asociada con la membrana, fragmentos solubles que comprenden los segmentos de unión a ligando o fragmentos unidos a sustratos de fase sólida. Estos ensayos también permitirán la determinación diagnóstica de los efectos de mutaciones y modificaciones de los segmentos de unión, o mutaciones y modificaciones de proteínas, por ejemplo análogos.

En el presente documento también se describe el uso de ensayos competitivos de detección selectiva de fármacos, por ejemplo en los que los anticuerpos neutralizantes frente a antígeno o fragmentos parejas de unión compiten con un compuesto de prueba para la unión a la proteína. De este modo, los anticuerpos se pueden usar para detectar la presencia de cualquier polipéptido que comparta uno o más sitios de unión antigénica de la proteína y también se pueden usar para ocupar sitios de unión en la proteína que, de otro modo, podrían interaccionar con una pareja de unión.

Adicionalmente, los anticuerpos neutralizantes frente la proteína IL-174 y fragmentos solubles del antígeno que contienen un sitio de unión al receptor de alta afinidad se pueden usar para inhibir la función antigénica en tejidos, por ejemplo tejidos que experimenta fisiología anormal.

"Derivados" de los antígenos de IL-174 incluyen mutantes de la secuencia de aminoácidos, variantes de glicosilación y conjugados covalentes o agregados con otros restos químicos. Derivados covalentes se pueden preparar mediante unión de funcionalidades a grupos que se encuentran en las cadenas laterales de aminoácidos de IL-174 o en los extremos N o C por medios que son bien conocidos en la técnica. Estos derivados pueden incluir, sin limitaciones, ésteres alifáticos o amidas del extremo carboxilo o de residuos que contienen cadenas laterales de carboxilo, derivados O-acilo de residuos que contienen grupos hidroxilo y derivados N-acilo del aminoácido amino-terminal o residuos que contienen grupos amino, por ejemplo lisina o arginina. Los grupos acilo se seleccionan del grupo de restos alquilo, incluido el alquilo normal de C3 a C18, de modo que se forman especies de alcanoilarioilo. La unión covalente a proteínas vehículo puede ser importante cuando los restos inmunogénicos son haptenos.

En particular se incluyen alteraciones de glicosilación hechas, por ejemplo, modificando los patrones de glicosilación de un polipéptido durante su síntesis y procesamiento, o en etapas de procesamiento adicionales. Medios particularmente preferidos para conseguir esto son mediante la exposición del polipéptido a enzimas de glicosilación derivadas de células que normalmente proporcionan dicho procesamiento, por ejemplo enzimas de glicosilación de mamífero. También se contemplan las enzimas de desglucosilación. También se abarcan versiones de la misma secuencia de aminoácidos primaria que tienen otras modificaciones menores, incluidos residuos de aminoácidos fosforilados, por ejemplo fosfotirosina, fosfoserina o fosfotreonina.

Un grupo mayoritario de derivados son conjugados covalentes de la proteína de IL-174 o fragmentos de la misma con otras proteínas o polipéptidos. Estos derivados se pueden sintetizar en cultivos recombinantes, tales como fusiones en N o C terminal, o mediante el uso de agentes conocidos en la técnica por su utilidad en las proteínas de reticulación a través de grupos laterales reactivos. Los sitios de derivación antigénica preferidos con agentes de reticulación están en los grupos amino libres, restos hidratos de carbono y residuos de cisteína.

Los polipéptidos de fusión entre las proteínas IL-174 y otras proteínas homólogas o heterólogas también se describen. Los polipéptidos homólogos pueden ser fusiones entre diferentes marcadores de superficie, lo que tiene como resultado, por ejemplo, una proteína híbrida que exhibe especificidad de unión al receptor. Asimismo, las

fusiones heterólogas se pueden construir de modo que exhiban una combinación de propiedades o actividades de las proteínas derivadas. Ejemplos típicos son fusiones de un polipéptido indicador, por ejemplo luciferasa, con un segmento o dominio de un antígeno, por ejemplo un segmento de unión al receptor, de modo que se puede determinar fácilmente la presencia o localización del antígeno fusionado. Véase, por ejemplo, Dull, y col., patente de EE.UU. nº 4.859.609. Otras parejas de fusión génica incluyen β -galactosidasa bacteriana, trpE, Proteína A, β -lactamasa, alfa amilasa, alcohol deshidrogenasa y factor de apareamiento alfa de levaduras. Véase, por ejemplo, Godowski y col. (1988) Science 241:812-816.

El procedimiento de fosforoamidita descrito por Beaucage y Carruthers (1981) Tetra. Letts. 22:1859-1862, producirá fragmentos de ADN sintético adecuados. Un fragmento bicatenario a menudo se obtendrá mediante síntesis de la hebra complementaria y la hibridación de la hebra en las condiciones adecuadas o mediante adición de la hebra complementaria usando ADN polimerasa con una secuencia cebadora adecuada.

Dichos polipéptidos pueden también tener residuos aminoácidos que se han modificado químicamente mediante fosforilación, sulfonación, biotilación o la adición o eliminación de otros restos, particularmente los que tienen formas moleculares similares a los grupos fosfato. En algunas realizaciones, las modificaciones serán reactivos de marcaje útiles o servirán como dianas de purificación, por ejemplo ligandos de afinidad.

Normalmente, las proteínas de fusión se pueden fabricar mediante procedimientos de ácido nucleico recombinante o mediante procedimientos de polipéptido sintéticos. Las técnicas para la manipulación y expresión de ácido nucleico se describen, en general, en, por ejemplo, Sambrook y col. (1989) Molecular Cloning; A Laboratory Manual (2ª ed.), Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory. Las técnicas para la síntesis de polipéptidos se describen en, por ejemplo, Merrifield (1963) J. Amer. Chem. Soc. 85:2149-2156; Merrifield (1986) Science 232: 341-347; y Atherton, y col. (1989) Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach, IRL Press, Oxford.

El uso de derivados de las proteínas IL-174 aparte de las variaciones en la secuencia de aminoácidos o glicosilación también se describen en el presente documento. Dichos derivados pueden implicar la asociación covalente o agregada con restos químicos. En general, estos derivados entran dentro de las tres clases: (1) sales, (2) modificaciones covalentes en residuos terminales y en la cadena lateral, y (3) complejos de adsorción, por ejemplo con membranas celulares. Dichos derivados covalentes o agregados son útiles como inmunógenos, como reactivos en inmunoensayos o en procedimientos de purificación, tal como para purificación por afinidad de antígenos u otras proteínas de unión. Por ejemplo, un antígeno de IL-754 se puede inmovilizar mediante unión covalente a un soporte sólido, tal como sefarsa activada por bromuro de cianógeno, mediante procedimientos que son bien conocidos en la técnica, o adsorberse sobre superficies de poliolefina, con o sin reticulación con glutaraldehído, para usar en el ensayo o purificación de anticuerpos proteicos anti-IL-174 o su receptor u otra pareja de unión. Los antígenos de IL-174 también se pueden marcar con un grupo detectable, por ejemplo radioyodado mediante el procedimiento de cloramina T, unirse de forma covalente a quelatos de tierras raras o conjugado con otro resto fluorescente para uso en ensayos diagnósticos. La purificación de la proteína IL-174 se puede efectuar mediante anticuerpos inmovilizados o parejas de unión.

Un antígeno de IL-174 solubilizado o fragmento descrito en el presente documento se puede usar como inmunógeno para la producción de antisueros o anticuerpos específicos de la proteína o fragmentos de los mismos. El antígeno purificado se puede usar para detectar anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión preparados mediante inmunización con varias formas de preparaciones impuras que contienen la proteína. En particular, el término "anticuerpos" también abarca fragmentos de unión a antígeno de anticuerpos naturales. Las proteínas IL-174 purificadas también se pueden usar como reactivo para detectar cualquier anticuerpo generado en respuesta a la presencia de niveles elevados de la proteína o fragmentos celulares que contienen el antígeno, ambos pueden ser diagnósticos de una enfermedad o afección fisiológica anormal o específica. Adicionalmente, los fragmentos de antígeno pueden servir como inmunógenos para producir los anticuerpos de la presente invención, como se describe inmediatamente más adelante. Por ejemplo, la presente invención contempla anticuerpos producidos contra secuencias de aminoácidos codificadas por secuencias de nucleótidos mostradas en la Tabla 3, o fragmentos de proteínas que las contienen. En particular, la presente invención contempla anticuerpos que tienen afinidad de unión o que se van a producir contra fragmentos específicos que se ha predicho que están fuera de la bicapa lipídica.

El aislamiento de variantes de especies estrechamente relacionadas adicionales también se describe en el presente documento. El análisis de transferencia southern estableció que existen entidades genéticas similares en otros mamíferos, por ejemplo ratas y seres humanos. Es probable que las proteínas IL-174 estén extendidas en las variantes de especies, por ejemplo roedores, lagomorfos, carnívoros, artiodáctilos, perisodáctilos y primates.

En el presente documento también se describen medios para aislar un grupo de antígenos relacionados que muestran diferencias y similitudes en la estructura, la expresión y la función. La elucidación de muchos de los efectos fisiológicos de los antígenos se acelerará considerablemente mediante el aislamiento y caracterización de distintas variantes de especies. En particular, en el presente documento se describen sondas útiles para identificar entidades genéticas homólogas en diferentes especies.

Los genes aislados permitirán la transformación de las células que carecen de expresión de una correspondiente proteína IL-174, por ejemplo tipos de especies o células que carecen de los correspondientes antígenos y deberán

exhibid actividad de fondo negativa. La expresión de genes transformados permitirá el aislamiento de líneas celulares antigénicamente puras, con variantes de una especie o definidas. Este enfoque permitirá la detección más sensible y la discriminación de los efectos fisiológicos de las proteínas IL-174. Fragmentos subcelulares, por ejemplo citoplastos o fragmentos de membrana, se pueden aislar y usar.

5 La disección de los elementos estructurales críticos que efectúan las diversas funciones fisiológicas o de diferenciación proporcionadas por las proteínas es posible usando técnicas estándar de biología molecular moderna, particularmente en la comparación de miembros de la clase relacionada. Véase, por ejemplo, la técnica de la mutagénesis de barrido de homólogos descrita en Cunningham y col. (1989) *Science* 243:1339-1336; y los enfoques usados en O'Dowd, y col. (1988) *J. Biol. Chem.* 263:15985-15992; y Lechleiter, y col. (1990) *EMBO J.* 9:4381-4390.

10 En particular, los dominios o segmentos funcionales se pueden sustituir entre variantes de especies para determinar qué características estructurales son importantes en la afinidad y la especificidad de la pareja de unión, así como la transducción de señal. Una matriz de variantes diferentes se usará para seleccionar moléculas que exhiben propiedades combinadas de interacción con diferentes variantes de especies de parejas de unión.

15 En ciertas circunstancias se puede producir internalización del antígeno y se puede producir interacción entre componentes intracelulares y segmentos "extracelulares" de proteínas implicadas en las interacciones. Los segmentos específicos de interacción de la proteína IL-174 con otros componentes intracelulares se pueden identificar mediante mutagénesis o medios bioquímicos directos, por ejemplo procedimientos de reticulación o de afinidad. También será aplicable el análisis de la estructura mediante procedimientos cristalográficos u otros procedimientos físicos. La investigación adicional del mecanismo de la función biológica incluirá el estudio de
20 componentes asociados que pueden aislarse mediante procedimientos de afinidad o por medios genéticos, por ejemplo análisis por complementación de los mutantes.

Se efectuará el estudio adicional de la expresión y el control de la proteína IL-174. Los elementos de control asociados con los antígenos pueden exhibir desarrollo diferencial, específico de tejido u otros patrones de expresión. Las regiones genéticas anteriores o posteriores, por ejemplo elementos de control, son de interés.

25 Estudios estructurales del antígeno conducirán al diseño de nuevas variantes, particularmente análogos que exhiben propiedades de agonismo o de antagonismo sobre las parejas de unión. Esto se puede combinar con procedimientos de deyección selectiva descritos previamente para aislar las variantes que exhiben espectros de actividades deseados.

30 La expresión en otros tipos de células a menudo tendrá como resultado diferencias de glicosilación en un antígeno concreto. Varias variantes de especies pueden exhibir distintas funciones basadas en diferencias estructurales a parte de la secuencia de aminoácidos. Las modificaciones diferenciales pueden ser responsables de la función diferencial y ahora es posible la elucidación de los efectos.

35 Por tanto, en el presente documento se describen importantes reactivos relacionados con la interacción antígeno-pareja de unión. Aunque la descripción anterior se ha centrado principalmente en la proteína IL-174 murina e IL-174 humana, los expertos en la técnica reconocerán inmediatamente que la invención abarca otros antígenos, por ejemplo especies de ratón y de otros mamíferos o variantes alélicas, así como variantes de los mismos.

VII. Anticuerpos

40 Se pueden producir anticuerpos frente a las proteínas IL-174, incluidas las especies y las variantes alélicas, y fragmentos de las mismas, tanto en sus formas naturales como en sus formas recombinantes. Adicionalmente, se pueden producir anticuerpos frente a las proteínas IL-174 bien en sus formas activas como en sus formas inactivas. También se contemplan los anticuerpos antiidiotípicos.

45 Se pueden producir anticuerpos, incluidos fragmentos de unión y versiones monocatenarias, contra fragmentos predeterminados de los antígenos, mediante inmunización de animales con conjugados de los fragmentos con proteínas inmunogénicas. Los anticuerpos monoclonales se preparan a partir de células que secretan el anticuerpo deseado. Estos anticuerpos se pueden seleccionar por la unión de proteínas IL-174 normales o defectivas o se pueden seleccionar por la actividad agonista o antagonista, por ejemplo mediada a través de una pareja de unión. Normalmente, estos anticuerpos monoclonales se unirán con al menos una K_D de aproximadamente 1 μM , más normalmente de al menos aproximadamente 300 μM , habitualmente de al menos aproximadamente 10 μM , más habitualmente de al menos aproximadamente 30 μM , preferentemente de al menos aproximadamente 10 μM , y más
50 preferentemente de al menos aproximadamente 3 μM , o mejor.

Un polipéptido de IL-174 que se une específicamente o que es específicamente inmunorreactivo con un anticuerpo, tal como, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal, generado contra un inmunógeno definido, tal como, por ejemplo, un inmunógeno que consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEC ID N° 14 madura o fragmentos de los mismos o un polipéptido generado del ácido nucleico de la SEC ID N° 13 normalmente se determina en un
55 inmunoensayo. Incluidos dentro de las medidas y límites de la presente invención son las secuencias de ácido nucleico que se describen en el presente documento, incluidas variantes funcionales, que codifican polipéptidos que se unen de forma selectiva a anticuerpos policlonales generados contra el polipéptido de IL-174 prototipo tal como

se ha definido estructural y funcionalmente en el presente documento.

Habitualmente, el inmunoensayo usa un antisuero policlonal que se ha producido, por ejemplo, frente a una proteína de la SEC ID N° 14. Este antisuero se selecciona de modo que tenga reactividad cruzada contra otros miembros adecuados de la familia de IL-170, preferentemente de la misma especie, y tal reactividad cruzada se elimina mediante inmunoadsorción antes de usar en el inmunoensayo. Las preparaciones adecuadas de suero selectivo se pueden aislar y caracterizar.

Con el fin de producir antisueros para usar en un inmunoensayo, la proteína de la SEC ID N° 14 se aísla tal como se describe en el presente documento. Por ejemplo, la proteína recombinante se puede producir en una línea de células de mamífero. Un huésped adecuado, por ejemplo una cepa endogámica de ratones, tal como Balb/c, se inmuniza con la proteína de SEC ID N° 14 usando un adyuvante convencional, tal como adyuvante de Freund, y un protocolo de inmunización de ratones estándar (véase Harlow and Lane). Como alternativa se puede usar un inmunógeno un péptido sintético de longitud sustancialmente completa derivado de las secuencias divulgadas en el presente documento. Los sueros policlonales se recogen y titulan contra la proteína inmunógena en un inmunoensayo, por ejemplo un inmunoensayo de fase sólida con el inmunógeno inmovilizado sobre un soporte sólido. Los antisueros policlonales con un título de 104 o mayor se seleccionan y analizan según su reactividad cruzada contra otros miembros de la familia de IL-170, por ejemplo IL-171, IL-172 o IL-175, usando un inmunoensayo de unión competitiva tal como el descrito en Harlow y Lane, ant., en las páginas 570-573. Preferentemente, al menos dos miembros de la familia de IL-170 se usan en esta determinación junto con la diana. Estos miembros de la familia de IL-170 se pueden producir como proteínas recombinantes y aislar usando biología molecular estándar y técnicas de química proteica como se describe en el presente documento. Por tanto, se pueden identificar o producir preparaciones de anticuerpos que tienen la selectividad o especificidad deseada por IL-174.

Los inmunoensayos en el formato de unión competitiva se pueden usar para las determinaciones de la reactividad cruzada. Por ejemplo, la proteína de la SEC ID N° 14 se puede inmovilizar sobre un soporte sólido. Las proteínas añadidas al ensayo compiten con la unión de los antisueros frente al antígeno inmovilizado. La capacidad de las proteínas anteriores para competir con la unión de los antisueros a la proteína inmovilizada se compara con la proteína de la SEC ID N° 14. El porcentaje de reactividad cruzada para las proteínas anteriores se calcula usando cálculos convencionales. Se seleccionan y combinan los antisueros con una reactividad cruzada inferior al 10 % con cada una de las proteínas enumeradas anteriormente. Después, los anticuerpos transreactivos se retiran de los antisueros combinados mediante inmunoadsorción con las proteínas enumeradas anteriormente.

Los antisueros inmunoadsorbidos y combinados se usan en un inmunoensayo de unión competitiva como se ha descrito anteriormente para comparar una segunda proteína con la proteína inmunógena. Con el fin de realizar esta comparación, las dos proteínas se someten a ensayo en un amplio abanico de concentraciones y se determina la cantidad de cada proteína requerida para inhibir el 50 % de la unión de los antisueros frente a la proteína inmovilizada. Si la cantidad de la segunda proteína requerida es inferior a dos veces la cantidad de la proteína, por ejemplo la SEC ID N° 14 que se requiere, se dice que la segunda proteína se une específicamente a un anticuerpo generado frente al inmunógeno.

Los anticuerpos, incluidos los fragmentos de unión a antígeno, de la presente invención pueden tener valor diagnóstico o terapéutico significativo. Pueden ser potentes antagonistas que se unen a una pareja de unión e inhiben la unión al antígeno o inhiben la capacidad de un antígeno para producir una respuesta biológica. También pueden ser útiles como anticuerpos no neutralizantes y se pueden acoplar a toxinas o radionúclidos, de modo que cuando el anticuerpo se une al antígeno una célula que lo expresa, por ejemplo sobre su superficie, muere. Además, estos anticuerpos se pueden conjugar con fármacos u otros agentes terapéuticos, bien directa o indirectamente, por medio de un ligador, y pueden dirigir los fármacos.

Los anticuerpos de la presente invención también pueden ser útiles en aplicaciones diagnósticas. Como anticuerpos de captura o no neutralizantes se pueden seleccionar por su capacidad para unirse a los antígenos sin inhibir la unión por una pareja. Como anticuerpos neutralizantes pueden ser útiles en ensayos de unión competitiva. Asimismo serán útiles en la detección o cuantificación de la proteína IL-174 o sus parejas de unión. Véase, por ejemplo, Chan (ed. 1987) *Immunoassay A Practical Guide* Academic Press, Orlando, Fla.; Ngo (ed. 1988) *Nonisotopic Immunoassay* Plenum Press, NY; y Price and Newman (eds. 1991) *Principles and Practice of Immunoassay* Stockton Press, NY.

Los fragmentos de antígeno se pueden unir a otros materiales, particularmente polipéptidos, como polipéptidos fusionados o unidos covalentemente para usar como inmunógenos. Un antígeno o sus fragmentos se pueden fusionar o unir covalentemente a una variedad de inmunógenos, tales como hemocianina de larva californiana, seroalbúmina bovina, toxoide del tétanos, etc. Véase *Microbiology*, Hoeber Medical Division, Harper y Row, 1969; Landsteiner (1962) *Specificity of Serological Reactions*, Dover Publications, New York, and Williams, y col. (1967) *Methods in Immunology and Immunochimistry*, Vol. 1, Academic Press, New York, para descripciones de los procedimientos de preparación de antisueros policlonales. Un procedimiento típico implica hiperinmunización de un animal con un antígeno. A continuación se extrae la sangre del animal poco después de las inmunizaciones repetidas y se aísla la gamma globulina.

En algunos casos, es deseable preparar anticuerpos monoclonales de varios huéspedes de mamífero, tales como ratones, roedores, primates, seres humanos etc. La descripción de técnicas para preparar dichos anticuerpos monoclonales se puede encontrar en, por ejemplo, Stites, y col. (eds.) Basic and Clinical Immunology (4ª ed.), Lange Medical Publications, Los Altos, CA, y las referencias citadas en el mismo, Harlow y Lane (1988) Antibodies : A Laboratory Manual, CSH Press; Goding (1986) Monoclonal Antibodies: Principles and Practice (2ª ed.) Academic Press, New York; y particularmente en Kohler y Milstein (1975) en Nature 256: 495-497, que trata un procedimiento de generar anticuerpos monoclonales. En resumen, este procedimiento implica inyectar un animal con un inmunógeno. Después, se sacrifica al animal y se extraen células del bazo, que después se fusionan con células de mieloma. El resultado es una célula híbrida o "hibridoma" que es capaz de reproducirse in vitro. La población de hibridomas se selecciona después para aislar clones individuales, cada uno de los cuales secreta una única especie de anticuerpo frente al inmunógeno. De este modo, la especie de anticuerpo individual obtenida son los productos de células B únicas inmortalizadas y clonadas del animal inmune generado en respuesta a un sitio específico reconocido sobre la sustancia inmunogénica.

Otras técnicas adecuadas implican la exposición in vitro de los linfocitos frente a polipéptidos antigénicos o, como alternativa, a la selección de bibliotecas de anticuerpos en fagos o vectores similares. Véase Huse y col. (1989) "Generation of a Large Combinatorial Library of the Immunoglobulin Repertoire in Phage Lambda," Science 246:1275-1281; y Ward, y col. (1989) Nature 341:544-546. Los polipéptidos y anticuerpos de la presente invención se pueden usar con o sin modificación, incluidos los anticuerpos quiméricos o humanizados. Con frecuencia, los polipéptidos y anticuerpos se marcan uniéndolos, bien covalente o no covalentemente, una sustancia que proporciona una señal detectable. Se conocen una amplia variedad de marcadores y técnicas de conjugación y se han publicado extensamente en la literatura científica y de patentes. Marcadores adecuadas incluyen radionúclidos, enzimas, sustratos, cofactores, inhibidores, restos fluorescentes, restos quimioluminiscentes, partículas magnéticas y similares. Entre las patentes que enseñan el uso de estos marcadores se incluyen las patentes nº 3.817.837; 3.850.752; 3.939.350; 3.996.345; 4.277.437; 4.275.149; y 4.366.241. Asimismo, se pueden producir inmunoglobulinas recombinantes, véase Cabilly, patente de EE.UU. nº 4.816.567.

Los anticuerpos descritos en el presente documento también se pueden usar para cromatografía de afinidad en el aislamiento de la proteína. Se pueden preparar columnas en las que los anticuerpos se unen a un soporte sólido, por ejemplo partículas, tales como agarosa, Sephadex o similares, en las que un lisado celular se puede pasar a través de la columna, se lava la columna, seguido de concentraciones crecientes de un desnaturalizante débil, de modo que se liberará la proteína IL-174 purificada.

Los anticuerpos también se pueden usar para realizar detección selectiva en bibliotecas de expresión de productos de expresión concretos. Normalmente, los anticuerpos usados en dicho procedimiento se marcarán con un resto que permita la fácil detección de la presencia del antígeno mediante la unión del anticuerpo.

Los anticuerpos producidos contra la proteína IL-174 también serán útiles para producir anticuerpos antiidiotípicos. Estos serán útiles para detectar o diagnosticar varias afecciones inmunológicas relacionadas con la expresión de los respectivos antígenos.

VIII. Usos

En el presente documento se describen reactivos que encontrarán utilidad en aplicaciones diagnósticas, como se describe en otro lugar del presente documento, por ejemplo en la descripción general de anomalías fisiológicas o del desarrollo, o más adelante en la descripción de los kit para diagnóstico.

En el presente documento se describen reactivos con un valor terapéutico significativo. La proteína IL-174 (natural o recombinante), fragmentos de la misma, y anticuerpos de la misma, junto con compuestos identificados porque tienen una afinidad de unión a la proteína IL-174, deberán ser útiles en el tratamiento de compuestos asociadas con la fisiología o el desarrollo anormal, incluida la proliferación anormal, por ejemplo afecciones cancerosas o afecciones degenerativas. La proliferación anormales, regeneración, degeneración y atrofia pueden modularse mediante tratamiento terapéutico adecuado usando las composiciones que se proporcionan en el presente documento. Por ejemplo, una enfermedad o trastorno asociado con la expresión anormal o señalización anormal por un antígeno de IL-174 deberá ser una diana probable para un agonista o antagonista de la proteína.

Otras afecciones del desarrollo anormal se conocen en los tipos de células que se ha mostrado que poseen el ARNm del antígeno de IL-174 mediante análisis de transferencia Northern. Véase Berkow (ed.) The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, Merck & Co., Rahway, N.J.; y Thorn, y col. Harrison's Principles of Internal Medicine, McGraw-Hill, N.Y. Estos problemas pueden ser susceptibles a la prevención o tratamiento usando las composiciones proporcionadas en el presente documento.

Se pueden purificar anticuerpos recombinantes que se unen a IL-174 y después se administran a un paciente. Estos reactivos se pueden combinar para uso terapéutico con ingredientes activos o inertes adicionales, por ejemplo en vehículos o diluyentes convencionales farmacéuticamente aceptables, por ejemplo adyuvantes inmunogénicos, junto con estabilizantes y excipientes fisiológicamente inocuos. Estas combinaciones se pueden esterilizar mediante filtración e introducir en formas de dosificación, como mediante liofilización en viales de dosificación, o almacenar en

preparaciones acuosas estabilizadas. La presente invención también contempla el uso de anticuerpos o fragmentos de unión de los mismos, incluidas formas que no complementan la unión.

Se puede realizar detección selectiva usando IL-174 para parejas de unión o compuestos que tienen afinidad de unión al antígeno de IL-174, incluido el aislamiento de componentes asociados. Después se pueden usar posteriores ensayos biológicos para determinar si el compuesto tiene actividad biológica intrínseca y, por tanto, es un agonista o antagonista en cuanto a que bloquea una actividad del antígeno. La presente invención contempla además el uso terapéutico de los anticuerpos frente a la proteína IL-174 como antagonistas. Este enfoque debería ser particularmente útil con otras variantes de especies de proteína IL-174.

Las cantidades de reactivos necesarias para una terapia eficaz dependerán de muchos factores diferentes, incluidos los medios de administración, el sitio diana, el estado fisiológico del paciente y otros medicamentos administrados. Por tanto, las dosificaciones de tratamiento deberán titularse para optimizar la seguridad y la eficacia. Normalmente, las dosificaciones usadas *in vitro* pueden proporcionar guías útiles en las cantidades útiles para administración *in situ* de estos reactivos. El análisis en animales de las dosis eficaces para el tratamiento de trastornos concretos proporcionará una indicación predictiva adicional de la dosificación humana. Se describen varias consideraciones en, por ejemplo, Gilman y col., (eds. 1990) *Goodman and Gilman's : The Pharmacological Bases of Therapeutics*, 8ª Ed., Pergamon Press; y Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 17ª ed. (1990), Mack Publishing Co., Easton, Penn. Los procedimientos de administración se tratan en ellos y más adelante para, por ejemplo, administración oral, intravenosa, intraperitoneal o intramuscular, difusión transdérmica y otras. Véase también, Langer (1990) *Science* 249:1527-1533. Vehículos farmacéuticamente aceptables incluirán agua, solución salina, tampones y otros compuestos descritos en, por ejemplo, *The Merck Index*, Merck & Co., Rahway, New Jersey. Habitualmente cabría esperar que los intervalos de dosificación estén en cantidades inferiores a concentraciones 1mM, normalmente inferiores a concentraciones de 10 mM, normalmente inferiores a concentraciones de 100 Mm, preferentemente inferiores a concentraciones de 100 pM (picomolar) y, más preferentemente, inferiores a concentraciones de 1 fM (femtomolar), con un vehículo adecuado. A menudo se usarán formulaciones de liberación lenta, o un aparato de liberación lenta, para administración continua.

La proteína IL-174, fragmentos de la misma, y anticuerpos frente a ella y sus fragmentos, antagonistas y agonistas, pueden administrarse directamente al huésped que se va a tratar o, dependiendo del tamaño de los compuestos, puede ser deseable conjugarlos con proteínas vehículo, tal como ovoalbúmina o seroalbúmina antes de su administración. Las formulaciones terapéuticas se pueden administrar en cualquier formulación de dosificación convencional. Aunque es posible administrar el ingrediente activo solo, es preferible presentarlo como una formulación farmacéutica. Normalmente, las formulaciones comprenden al menos un ingrediente activo, como se ha definido anteriormente, junto con uno o más vehículos aceptables. Cada vehículo deberá ser farmacéutica y fisiológicamente aceptable en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes y no dañinos para el paciente. Las formulaciones incluyen las adecuadas para administración oral, rectal, nasal o parenteral (incluidas las vías subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica). Las formulaciones pueden presentarse cómodamente en una forma de monodosis y pueden prepararse mediante cualquiera de los procedimientos bien conocidos en la técnica de farmacia. Véase, por ejemplo, Gilman y col. (eds. 1990) *Goodman and Gilman's : The Pharmacological Bases of Therapeutics*, 8ª Ed., Pergamon Press, Parrytown, NY; Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 17ª ed. (1990) Mack Publishing Co., Easton, Penn.; Avis, y col. (eds. 1993) *Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications* 2ª ed., Dekker, NY; Lieberman, y col. (eds. 1990) *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets* 2ª ed., Dekker, NY; y Lieberman, y col. (eds. 1990) *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems* Dekker, NY. La terapia descrita en el presente documento se puede combinar con, o usarse en asociación con, otro reactivo terapéutico, incluidas las citoquinas.

Las formas tanto natural como recombinantes de las proteínas IL-174 descritas en el presente documento son particularmente útiles en kit y procedimientos de ensayo que son capaces de seleccionar compuestos por la actividad de unión a las proteínas. En los últimos años se han desarrollado varios procedimientos de automatizar ensayos para permitir la detección selectiva de decenas de miles de compuestos en un periodo corto. Véase, por ejemplo, Fodor y col. (1991) *Science* 251:767-773, que describe los medios para analizar la afinidad de unión mediante una pluralidad de polímeros definidos sintetizados en un sustrato sólido. El desarrollo de ensayos adecuados se puede facilitar considerablemente con la disponibilidad de cantidades grandes de proteína IL-174 purificada soluble, como se describe en el presente documento.

El uso de antígeno recombinante como se describe en el presente documento en cualquiera de una variedad de técnicas de detección selectiva de fármacos es particularmente útiles para la detección selectiva de compuestos. Las ventajas de usar una proteína recombinante en la detección selectiva de ligandos específicos incluyen: (a) fuente renovable mejorada del antígeno de una fuente específica; (b) potencialmente mayor número de moléculas de antígeno por célula, dando una mejor proporción señal:radio en los ensayos; y (c) especificidad de variante de especie (que en teoría da mayor especificidad biológica y de la enfermedad). La proteína purificada se puede analizar en numerosos ensayos, habitualmente ensayos *in vitro*, que evalúan las respuestas biológicamente relevantes. Véase, por ejemplo, Coligan *Current Protocols in Immunology*; Hood, y col. *Immunology Benjamin/Cummings*; Paul (ed.) *Fundamental Immunology*; y *Methods in Enzymology Academic Press*.

Un procedimiento de detección selectiva del fármaco usa células huésped eucarióticas o procarióticas que se

- transforman de forma estable con moléculas de ADN recombinante que expresan el los antígenos de IL-174. Se pueden aislar células que expresan un antígeno en aislamiento de otros antígenos funcionalmente equivalentes. Tales células, en forma viable o fija, se pueden usar para los ensayos de unión proteína-proteína estándar. Véase también Parce y col. (1989) *Science* 246:243-247; y Owicki, y col. (1990) *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 87:4007 (-4011), que describen procedimientos sensibles para detectar respuestas celulares. Son particularmente útiles los ensayos competitivos, en los que las células (fuente de proteína IL-174) se ponen en contacto e incuban con una pareja de unión marcada o anticuerpo que tiene una afinidad de unión al ligando conocida, tal como ¹²⁵I-anticuerpo, y una muestra de ensayo cuya afinidad de unión a la composición de unión se está midiendo. Las composiciones de unión marcadas unidas y libres se separan después para evaluar el grado de unión al antígeno. La cantidad de compuesto de prueba unido es inversamente proporcional a la cantidad de unión del receptor marcado a la fuente conocida. Se puede usar una cualquiera de numerosas técnicas para separar el antígeno unido del libre con el fin de evaluar el grado de unión. Esta etapa de separación habitualmente podría implicar un procedimiento tal como la adhesión a filtros, seguido de lavado, adhesión a plástico seguida de lavado o centrifugación de membranas celulares. Asimismo se podrían usar células viables para la detección selectiva de los efectos de fármacos sobre las funciones mediadas por la proteína IL-174, por ejemplo los niveles del segundo mensajero, es decir Ca⁺⁺; la proliferación celular; los cambios en el grupo de inositolfosfato; y otros. Algunos procedimientos de detección permiten la eliminación de una etapa de separación, por ejemplo un sistema de detección sensible a proximidad. Los pigmentos sensibles al calcio serán útiles para detectar los niveles de Ca⁺⁺ con un fluorímetro o un aparato de clasificación celular por fluorescencia.
- 20 Otro procedimiento usa membranas de células huésped eucariotas o procariotas transformadas como la fuente de la proteína IL-174. Estas células se transforman de forma estable con vectores de ADN que dirigen la expresión de una proteína IL-174 asociada a la membrana, por ejemplo una forma sometida a ingeniería unida a la membrana. Esencialmente, las membranas se prepararían a partir de las células y se usarían en cualquier ensayo de unión de tipo receptor/ligando, tal como el ensayo competitivo expuesto anteriormente.
- 25 Otro enfoque más es usar la proteína IL-174 solubilizada sin purificar o solubilizada purificada de células huésped eucariotas o procariotas transformadas. Esto permite un ensayo de unión "molecular" con las ventajas de mayor especificidad, la capacidad de automatizar y un rendimiento alto en la prueba del fármaco.

Otra técnica para la detección selectiva del fármaco implica un enfoque que proporciona un alto rendimiento de la detección selectiva de compuestos que poseen una afinidad de unión adecuada por IL-174, tal como se describe con detalle en Geysen, solicitud de patente europea 84/03564, publicada el 13 de septiembre de 1984. En primer lugar, se sintetizan grandes números de pequeños compuestos peptídicos de prueba diferentes sobre un sustrato sólido, tal como agujas de plástico o alguna otra superficie adecuada, véase Fodor y col. (1991). Después, se hace reaccionar todas las agujas con la composición de unión IL-174 solubilizada, sin purificar o solubilizada purificada y se lavan. La etapa siguiente implica detectar la composición de unión unida.

- 35 El fundamento del diseño farmacológico puede también basarse en estudios estructurales de las formas moleculares de la proteína IL-174 y otros efectores o análogos. Los efectores pueden ser otras proteínas que participan en otras funciones en respuesta a la unión del antígeno u otras proteínas que normalmente interaccionan con el antígeno. Un medio para determinar qué sitios interaccionan con otras proteínas específicas es una determinación de la estructura física, por ejemplo cristalografía de rayos X o técnicas de RMN bidimensional. Estos proporcionarán guías en cuanto a qué residuos de aminoácidos forman regiones de contacto molecular. Para una descripción detallada de la determinación de la estructura proteica, véase, por ejemplo, Blundell y Johnson (1976) *Protein Crystallography*, Academic Press, New York.

La proteína IL-174 purificada se puede revestir directamente en placas para uso en las técnicas de detección selectiva de fármacos mencionadas anteriormente. No obstante, los anticuerpos no neutralizantes frente a estos ligandos se pueden usar como anticuerpos de captura para inmovilizar el respectivo ligando sobre la fase sólida.

IX. Kits

- En el presente documento también se describe el uso de proteínas IL-174, fragmentos de las mismas, péptidos y sus productos de fusión en una variedad de kit diagnósticos y procedimientos para detectar la presencia de una composición de unión. Normalmente, el kit tendrá un compartimento que contiene un péptido definido de IL-174 o segmento génico o un reactivo que reconoce uno o el otro, por ejemplo fragmentos antigénicos o anticuerpos.

Un kit para determinar la afinidad de unión de un compuesto de prueba a una proteína IL-174 normalmente comprendería un compuesto de prueba; un compuesto marcado, por ejemplo un anticuerpo que tiene una afinidad de unión conocida por el antígeno; una fuente de proteína IL-174 (natural o recombinante); y un medio para separar el compuesto marcado unido del libre, tal como una fase sólida para inmovilizar el antígeno. Una vez que los compuestos se han sometido a detección selectiva, los que tienen una afinidad de unión adecuada por el antígeno se pueden evaluar en ensayos biológicos adecuados, como es bien conocido en la técnica, para determinar si exhiben actividades biológicas similares, con el antígeno natural. La disponibilidad de los polipéptidos de la proteína IL-174 recombinante también proporciona patrones bien definidos para calibrar dichos ensayos.

5 Un kit preferido para determinar la concentración de, por ejemplo, una proteína IL-174 en una muestra, normalmente comprendería un compuesto marcado, por ejemplo un anticuerpo, que tiene una afinidad de unión conocida por el antígeno; una fuente de antígeno (natural o recombinante); y un medio para separar el compuesto marcado unido del libre, por ejemplo una fase sólida para inmovilizar la proteína IL-174. Normalmente se proporcionarán los compartimentos que contienen reactivos e instrucciones.

10 Un procedimiento para determinar la concentración de la proteína IL-174 en una muestra normalmente comprendería las etapas de: (1) preparar membranas de una muestra compuesta por una fuente de proteína IL-174 unida a la membrana; (2) lavar las membranas y suspenderlas en un tampón; (3) solubilizar el antígeno incubando las membranas en un medio de cultivo al que se ha añadido un detergente adecuado; (4) ajustar la concentración de detergente del antígeno solubilizado; (5) poner en contacto e incubar dicha dilución con anticuerpo radiomarcado para formar complejos; (6) recuperar los complejos, tal como mediante filtración a través de filtros tratados con polietilenoimina; y (7) medir la radioactividad de los complejos recuperados.

15 Los anticuerpos, incluidos los fragmentos de unión a antígeno, específicos para la proteína IL-174 o fragmentos son útiles en aplicaciones diagnósticas para detectar la presencia de niveles elevados de proteína IL-174 y/o sus fragmentos. Dichos ensayos diagnósticos pueden usar lisados, células vivas, células fijas, inmunofluorescencia, cultivos celulares, fluidos corporales y, además, pueden implicar la detección de antígenos relacionados con la proteína en suero, o similares. Los ensayos diagnósticos pueden ser homogéneos (sin una etapa de separación entre el reactivo libre y el complejo proteína-proteína) o heterogéneos (con una etapa de separación). Existen varios ensayos comerciales, tales como radioinmunoensayo (RIA), ensayo de inmunosorción ligado a enzima (ELISA), enzimoimmunoensayo (EIA), técnica de inmunoensayo de enzimas multiplicadas (EMIT), inmunoensayo fluorescente marcado con sustrato (SLFIA) y similares. Por ejemplo, se pueden emplear anticuerpos no marcados usando un segundo anticuerpo que está marcado y que reconoce el anticuerpo a una proteína IL-174 o a un fragmento concreto de la misma. Ensayos similares también se han discutido ampliamente en la literatura. Véase, por ejemplo, Harlow y Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, CSH.

25 Los anticuerpos antiidiotípicos pueden tener un uso similar para diagnosticar la presencia de anticuerpos contra una proteína IL-174, como tal puede ser diagnóstico de varios estados anormales. Por ejemplo, la sobreproducción de proteína IL-174 puede tener como resultado la producción de varias reacciones inmunológicas que pueden ser diagnósticas de estados fisiológicos anormales, particularmente en afecciones de células proliferativas, tales como cáncer o diferenciación anormal.

30 Con frecuencia, los reactivos para ensayos diagnósticos se suministran en kit de modo que se optimiza la sensibilidad del ensayo. Para la invención objeto, dependiendo de la naturaleza del ensayo, el protocolo y el marcador, se proporciona anticuerpo marcado o sin marcar o proteína IL-174 marcada. Normalmente esto se realiza junto con otros aditivos, tales como tampones, estabilizantes, materiales necesarios para la producción de señal, tales como sustratos de enzimas y similares. Preferentemente, el kit también contendrá instrucciones para un uso y eliminación adecuados de los contenidos tras su uso-. Normalmente el kit tiene compartimentos para cada reactivo útil. Deseablemente, los reactivos se proporcionan en forma de un polvo liofilizado seco, en el que los reactivos se pueden reconstituir en un medio acuoso proporcionando las concentraciones adecuadas de reactivos para realizar el ensayo.

40 Cualquiera de los constituyentes mencionados anteriormente de la detección selectiva de fármacos y los ensayos diagnósticos se pueden usar sin modificación o se pueden modificar de diversas formas. Por ejemplo, el marcaje se puede conseguir mediante unión covalente o no covalente de un resto que proporciona directa o indirectamente una señal detectable. En cualquiera de estos ensayos, el antígeno, el compuesto de prueba, la proteína IL-174 o los anticuerpos de la misma se pueden marcar directa o indirectamente. Las posibilidades para el marcaje directo incluyen grupos marcadores: radiomarcadores tales como ¹²⁵I, enzimas (patente de EE.UU. nº 3.645.090) tales como peroxidasa y fosfatasa alcalina, y marcadores fluorescentes (patente de EE.UU. nº 3.940.475) capaces de monitorizar el cambio de intensidad de la fluorescencia, el desplazamiento de la longitud de onda o la polarización de la fluorescencia. Las posibilidades para el marcaje indirecto incluyen biotinylation de un constituyente, seguido de unión a avidina acoplada a uno de los grupos marcadores anteriores.

50 También hay numerosos procedimientos de separar el antígeno unido del libre o, como alternativa, el compuesto unido del libre. La proteína IL-174 se puede inmovilizar sobre varias matrices, seguido de lavado. Las matrices adecuadas incluyen plástico, tal como una placa de ELISA, filtros y perlas. Procedimientos de inmovilización de la proteína IL-174 en una matriz incluyen, sin limitaciones, adhesión directa a plástico, uso de un anticuerpo de captura, acoplamiento químico y biotinylation. La última etapa en este enfoque implica la precipitación del complejo proteína-proteína mediante cualquiera de los diversos procedimientos, incluidos los que usan, por ejemplo, un disolvente orgánico tal como polietilenglicol, o una sal tal como sulfato amónico. Otras técnicas de separación adecuadas incluyen, sin limitaciones, el procedimiento de la partícula magnetizable con anticuerpo con fluoresceína descrito en Rattle y col. (1984) *Clin. Chem.* 30:1457-1461, y la separación con partículas magnéticas con doble anticuerpo, como se describe en la patente de EE.UU. nº 4.659.678.

60 Los procedimientos para unir proteínas, o sus fragmentos, a los diversos marcadores se han comunicado ampliamente en la literatura y no requieren una discusión detallada en el presente documento. Muchas de las

técnica implican el uso de grupos carboxilo activados, bien a través del uso de carbodiimida o de ésteres activos, para formar enlaces peptídicos, la formación de tioésteres mediante reacción de un grupo mercapto con un halógeno activado, tal como cloroacetilo, o una olefina activada, tal como maleimida, para unión o similar. Las proteínas de fusión también encuentran utilidad en estas aplicaciones.

5 Otro aspecto diagnóstico descrito en el presente documento implica el uso de secuencias de oligonucleótidos o polinucleótidos tomadas de la secuencia de una proteína IL-174. Estas secuencias se pueden usar como sondas para detectar niveles de mensaje antigénico en muestras de pacientes con sospecha de tener una afección anormal, por ejemplo cáncer o un problema del desarrollo. La preparación de secuencias nucleotídicas de ARN y ADN, el marcaje de las secuencias y el tamaño preferido de las secuencias ha recibido amplia descripción y discusión en la
10 literatura. Normalmente, una sonda oligonucleotídica deberá tener al menos aproximadamente 14 nucleótidos, normalmente al menos aproximadamente 18 nucleótidos, y las sondas polinucleotídicas pueden tener hasta varios kilobases. Se pueden emplear varios marcadores, más habitualmente radionúclidos, particularmente ³²P. No obstante, también se pueden emplear otras técnicas, tales como el uso de nucleótidos modificados con biotina para la introducción en un polinucleótido. A continuación, la biotina sirve como sitio de unión a avidina o anticuerpos, que
15 se pueden marcar con una amplia variedad de marcadores, tales como radionúclidos, fluorescentes, enzimas o similares. Como alternativa, se pueden emplear anticuerpos que pueden reconocer dúplex específicos, incluidos dúplex de ADN, dúplex de ARN, dúplex híbridos de ADN-ARN o dúplex de ADN-proteína. A su vez, los anticuerpos se pueden marcar y el ensayo se puede llevar a cabo cuando el dúplex está unido a una superficie, de modo que tras la formación del dúplex sobre la superficie, se puede detectar la presencia de anticuerpo unido al dúplex. El uso
20 de sondas para el nuevo ARN anti-sentido se puede llevar a cabo en cualquier técnica convencional, tal como hibridación de ácido nucleico, más y menos detección selectiva, sondaje recombinatorio, traducción liberada de híbrido (HRT) y traducción detenida de híbrido (HART). Esto incluye también técnicas de multiplicación, tales como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Otro enfoque usa, por ejemplo, ácido nucleico antisentido, incluida la introducción de ARN bicatenario (ARNds) para interferir genéticamente en la función génica, como se describe en,
25 por ejemplo, Misquitta y col. (1999) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 96:1451-1456 y/o ribozimas para bloquear la traducción de un ARNm específico de IL-70. El uso de procedimientos antisentido para inhibir la traducción in vitro de genes es bien conocido en la técnica. Marcus-Sakura (1988) Anal. Biochem. 172:289; Akhtar (ed. 1995) Delivery Strategies for Antisense Oligonucleotide Therapeutics CRC Press, Inc.

También se contemplan kit diagnósticos que también pueden analizar la presencia cualitativa o cuantitativa de otros marcadores. El diagnóstico o pronóstico pueden depender de la combinación de indicaciones múltiples usadas como marcadores. Por tanto, los kit pueden analizar combinaciones de marcadores. Véase, por ejemplo, Viallet y col. (1989) Progress in Growth Factor Res. 1:89-97.

El amplio alcance de la presente divulgación se entenderá mejor con referencia a los ejemplos siguientes.

Ejemplos

35 I. Procedimientos generales

Algunos de los procedimientos convencionales se describen o se hace referencia a ellos en, por ejemplo, Maniatis y col. (1982) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Press; Sambrook, y col., (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (2ª ed.), vols. 1-3, CSH Press, NY; Ausubel, y col.,
40 Biology, Greene Publishing Associates, Brooklyn, NY; o Ausubel, y col. (1987 y Suplementos) Current Protocols in Molecular Biology, Greene/Wiley, New York; Innis, y col., (eds. 1990) PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications Academic Press, N.Y.; y Kohler, y col. (1995) Quantitation of mRNA by Polymerase Chain Reaction Springer-Verlag, Berlín. Los procedimientos para purificación de proteínas incluyen procedimientos tales como precipitación con sulfato amónico, cromatografía de columna, electroforesis, centrifugación, cristalización y otros
45 Véase, por ejemplo, Ausubel, y col. (1987 y suplementos periódicos); Deutscher (1990) "Guide to Protein Purification" en Methods in Enzymology, vol. 182, y otros volúmenes en esta serie; y bibliografía del fabricante sobre el uso de productos de purificación de proteínas, por ejemplo Pharmacia, Piscataway, N.J., o Bio-Rad, Richmond, CA. La combinación con técnicas recombinantes permite la fusión a segmentos adecuados, por ejemplo, a una secuencia FLAG o una equivalente que puede fusionarse mediante una secuencia escindible con proteasa. Véase,
50 por ejemplo, Hochuli (1989) Chemische Industrie 12:69-70; Hochuli (1990) "Purification of Recombinant Proteins with Metal Chelate Absorbent" en Setlow (ed.) Genetic Engineering, Principle and Methods 12:87-98, Plenum Press, N.Y.; y Crowe, y col. (1992) QIAexpress: The High Level Expression & Protein Purification System QUIAGEN, Inc., Chatsworth, CA.

En el presente documento también se incorpora por referencia una solicitud de patente similar dirigida a las citoquinas IL-171 e IL-175, número de registro fiscal DX0918P, presentada en la misma fecha que la presente.

55 Se describen varias técnicas inmunológicas convencionales en, por ejemplo, Hertenberg y col., (eds. 1996) Weir's Handbook of Experimental Immunology vols. 1-4, Blackwell Science; Coligan (1991) Current Protocols in Immunology Wiley/Greene, NY; y Methods in Enzymology vols. 70, 73, 74, 84, 92, 93, 108, 116, 121, 132, 150, 162, y 163. Ensayos con citoquinas se describen en, por ejemplo, Thomson (ed. 1998) The Cytokine Handbook (3ª ed.) Academic Press, San Diego; Mire-Sluis and Thorpe (1998) Cytokines Academic Press, San Diego; Metcalf y Nicola

(1995) The Hematopoietic Colony Stimulating Factors Cambridge University Press; y Aggarwal y Gutterman (1991) Human Cytokines Blackwell Pub.

5 Los ensayos para actividades biológicas vasculares son bien conocidos en la técnica. Cubrirán las actividades angiogénicas y angioestáticas en tumores u otros tejidos, por ejemplo proliferación de músculo liso arterial (véase, por ejemplo, Koyoma, y col. (1996) Cell 87:1069-1078), adhesión de monocitos al epitelio vascular (véase McEvoy, y col. (1997) J. Exp. Med. 185:2069-2077), etc. Véase también Ross (1993) Nature 362:801-809; Reikter y Gordon (1995) Am. J. Pathol. 147:668-677; Thyberg, y col., (1990) Atherosclerosis 10:966-990; y Gumbiner (1996) Cell 84:345-357.

10 Los ensayos para actividades biológicas de células neurales se describen en, por ejemplo, Wouterlood (ed. 1995) Neuroscience Protocols modules 10, Elsevier; Methods in Neurosciences Academic Press; y Neuromethods Humana Press, Totowa, NJ. Se describe metodología de sistemas de desarrollo en, por ejemplo, Meisami (ed.) Handbook of Human Growth and Developmental Biology CRC Press; y Chrispeels (ed.) Molecular Techniques and Approaches in Developmental Biology Interscience.

15 Se realizan análisis de secuencias por ordenador, por ejemplo, usando programas de software disponibles, incluidos los de las fuentes GCG(U. Wisconsin) y GenBank. Se usaron también basas de datos de secuencias públicas, de, por ejemplo, GenBank y otros.

Muchas técnicas aplicables a la IL-170 se pueden aplicar a estas entidades nuevas, como se describe en, por ejemplo, USSN.

20 Análisis FACS se describen en, por ejemplo, Melamed y col., (1990) Flow Cytometry and Sorting Wiley-Liss, Inc., New York, NY; Shapiro (1988) Practical Flow Cytometry Liss, New York, NY; y Robinson, y col. (1993) Handbook of Flow Cytometry Methods Wiley-Liss, New York, NY.

II. Aislamiento de un clon de ADN que codifica la proteína IL-170

25 El aislamiento de la CTLA-8 murina se describe en Rouvier, y col., (1993) J. Immunol. 150:5445-5456. Se dispone de procedimientos similares para aislar homólogos de especies de IL-173, IL-174, IL-176 y IL-177, junto con IL-171. IL-172 e IL-175.

Fuente de los mensajes de IL-170

Varias líneas celulares se someten a detección selectiva usando una sonda adecuada para la expresión de niveles altos del mensaje. Las líneas celulares adecuadas se seleccionan en base a los niveles de expresión del mensaje de IL-170 adecuada.

30 Aislamiento de un clon que codifica IL-170

35 Se usan técnicas convencionales de PCR para amplificar una secuencia génica de IL-170 de una biblioteca genómica o de ADNc o de ARNm. Se obtiene una biblioteca de genómica o de ADNc humanos y se somete a detección selectiva con ADNc adecuado o una sonda sintética adecuada. Se pueden preparar cebadores para PCR. Los cebadores adecuados se seleccionan de, por ejemplo, las secuencias proporcionadas y se aísla un clon de longitud completa. Se pueden preparar varias combinaciones de cebadores, de varias longitudes y, posiblemente, con diferencias en la secuencia. El clon de longitud completa se puede usar como sonda de hibridación para la detección selectiva de otros genes homólogos usando condiciones de hibridación rigurosas o menos rigurosas.

40 En otro procedimiento, se usan oligonucleótidos para la detección selectiva de una biblioteca. En combinación con técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se usan oligonucleótidos sintéticos en orientaciones adecuadas como cebadores para seleccionar los clones correctos de una biblioteca.

III. Caracterización bioquímica de las proteínas IL-170

45 Una proteína IL-170 se expresa en células heterólogas, por ejemplo la forma nativa o una forma recombinante que muestra el péptido FLAG en el extremo carboxi. Véase, por ejemplo, Crowe y col.. (1992) QIAexpress: The High Level Expression and Protein Purification System QIAGEN, Inc. Chatsworth, CA; y Hopp, y col., (1988) Bio/Technology 6:1204-1210. Estas dos formas se introducen en vectores de expresión, por ejemplo pME18S o pEE12, y, después, se transfeccionan en células adecuadas, por ejemplo células COS-7 o NSO, respectivamente. Las células electroporadas se cultivan durante, por ejemplo, 48 horas en medio RPMI suplementado con 10% de suero bovino fetal. Después, las células se incuban con ³⁵S-Met y ³⁵S-Cys con el fin de marcar las proteínas celulares. La comparación de las proteínas en condiciones reductoras sobre SDS-PAGE deberá mostrar que las células transfeccionadas con clones de longitud completa secretarán un polipéptido del tamaño adecuado, por ejemplo de aproximadamente 15.000 dalton. El tratamiento con endoglicosidasas demostrará si hay formas N-glicosiladas.

IV. Producción a gran escala, purificación de IL-170

Para ensayos biológicos, se produce IL-170 de mamífero en grandes cantidades, por ejemplo con células COS-7 transfeccionadas cultivadas en medio RPMI suplementado con 1% de Nutrodoma HU (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania) y después se purifica. La purificación puede usar cromatografía de afinidad usando anticuerpos, o técnicas de purificación de proteínas, por ejemplo usando anticuerpos para determinar las propiedades de separación.

Con el fin de producir mayores cantidades de proteínas nativas se pueden preparar transformantes estables de células NSO de acuerdo con la metodología desarrollada por Celltech (Slough, Berkshire, Reino Unido; solicitudes de patente internacional WO86/05807, WO87/04462, WO89/01036 y WO89/10404).

Normalmente, 1 litro de sobrenadante que contiene IL-173 o IL-173-FLAG humana se pasa por, por ejemplo, una columna de 60 ml de iones Zn^{++} injertados en una matriz de flujo rápido de Sefarosa quelante (Pharmacia, Upsalla, Suecia). Después de lavar con 10 volúmenes de tampón de unión (kit tampón His-Bind Buffer, Novagen, Madison, WI), las proteínas conservadas mediante los iones metálicos se eluyen con un gradiente de imidazol 20-100 mM. El contenido de IL-173-FLAG humana en las fracciones eluidas se determina mediante transferencia puntual usando el anticuerpo monoclonal anti-FLAG M2 (Eastman Kodak, New Haven, CT), mientras que el contenido de IL-173 se evalúa mediante, por ejemplo, tinción de plata de SDS-PAGE no reductor. Las fracciones que contienen IL-170 se combinan después y se dializan contra PBS y se usan en ensayos biológicos o se purifican adicionalmente mediante, por ejemplo, HPLC de intercambio aniónico en una columna DEAE. Una tercera etapa de cromatografía con filtración en gel se puede realizar en una columna SUPERDEX G-75 HRD30 (Pharmacia Uppsala, Suecia). La purificación se puede evaluar mediante, por ejemplo, SDS-PAGE con tinción de plata.

V. Preparación de anticuerpos contra IL-173

Ratones Balb/c endogámicos Se inmunizan intraperitonealmente con, por ejemplo 1 ml de IL-173-FLAG humana purificada emulsionada en adyuvante completo de Freund el día 0 y en adyuvante incompleto de Freund los días 15 y 22. Se inyecta un refuerzo en los ratones con 0,5 ml de L-173 humana purificada administrada por vía intravenosa.

Se recoge el antisuero policlonal. El suero se puede purificar para obtener los anticuerpos. Los anticuerpos se pueden procesar adicionalmente, por ejemplo Fab, Fab2, Fv, o fragmentos similares.

Los hibridomas se crean usando, por ejemplo, la línea de células de mieloma no secretoras SP2/0-Ag8 y polietilenglicol 1000 (Sigma, St. Louis, MO) como agente de fusión. Las células de hibridoma se introducen en placas de cultivo tisular Falcon de 96 pocillos (Becton Dickinson, NJ) y se introduce medio DMEM F12 (Gibco, Gaithersburg, MD) suplementado con 80 mg/ml de gentamicina, glutamina 2 mM, 10 % de suero de caballo (Gibco, Gaithersburg, MD), 1 % de DCM (CRTS, Lyon, Francia), azaserina $10^{-5}M$ (Sigma, St. Louis, MO) e hipoxantina $5 \times 10^{-5} M$. Los sobrenadantes de los hibridomas se someten a detección selectiva de la producción de anticuerpos contra IL-173 humana mediante inmunohistoquímica (ICC) usando células COS-7 transfeccionadas con IL-173 humana fijada en acetona y mediante ELISA usando IL-173-FLAG humana purificada de sobrenadantes COS-7 como antígeno de recubrimiento. Alícuotas de los clones de células positivas se expanden durante 6 días y se crioconservan, así como se propagan en acistis de ratones bAlb/ tratados pristano (2,6,10,14-terametilpentadecano, Sigma, St. Louis, MO) que habían recibido una inyección intraperitoneal de pristano días antes. Normalmente, aproximadamente 10^5 células de hibridoma en 1 ml de PBS se administran intraperitonealmente y días después se recogen ascitis de cada ratón.

Tras la centrifugación de la ascitis, la fracción de anticuerpo se aísla mediante precipitación en sulfato amónico y cromatografía de intercambio aniónico en una columna de Zephyr-D silicio (IBF Sepracor) equilibrada con Tris 20 mM a pH 8,0. Las proteínas se eluyen con un gradiente de NaCl (que varía de 0 a 1 M, NaCl). Se recogen fracciones de 2 ml y se analizan mediante ELISA para detectar la presencia de anticuerpo anti-IL-173. Las fracciones que contienen actividad específica anti-IL-173 se combinan, dializan y congelan. Las alícuotas de los anticuerpos monoclonales purificados pueden marcarse con peroxidasa.

Las preparaciones de anticuerpos, policlonales o monoclonales, se pueden absorber de forma cruzada, deplecionar o combinar para crear reactivos que exhiben combinaciones deseadas de selectividades y especificidades. Los antígenos específicos definidos se pueden inmovilizar en una matriz sólida y se usan para deplecionar de forma selectiva o seleccionar según las capacidades de unión deseadas.

VI. Cuantificación de la IL-173 humana

Entre los anticuerpos específicos de IL-173 se seleccionan los aislamientos clonales adecuados para cuantificar los niveles de IL-173 humana usando un ensayo de tipo sándwich. Los anticuerpos purificados se diluyen a, por ejemplo, 2 mg/ml en tampón de revestimiento (tampón carbonato, pH 9,6. Na_2CO_3 15mM, $NaHCO_3$ 35mM). Esta solución diluida se introduce en los pocillos de una placa de EILSA de 96 pocillos (Immunoplate Maxisorp F96 certificado, NUNC, Dinamarca) durante la noche a temperatura ambiente. Después, las placas se lavan manualmente por ejemplo con un tampón de lavado consistente en solución salina tamponada con fosfato y 0,05% de Tween 20 (Technicon Diagnostics, EE.UU.). A cada pocillo se añaden 110 ml de CTLA-8 humana purificada en tampón TBS-B-T [Tris 20 mM, NaCl 150 mM, 1 % de BSA (Sigma, St. Louis, MO) y 0,05 % de Tween 20]. Después de 3 horas de incubación a 37 °C, las placas se lavan una vez. A cada pocillo se añaden 100 ml de Ac marcado con

peroxidasa a 5 mg/ml en tampón TBS-B-T y se incuban durante 2 horas a 37 °C.

Después, los pocillos se lavan tres veces en tampón de lavado. A cada pocillo se añaden 100 ml de sustrato de peroxidasa, 2,2' Azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazoina-6-sulfónico) (ABTS), diluido a 1 mg/ml en tampón citrato/fosfato, y la reacción colorimétrica se lee a 405 nm.

5 VII. Distribución de los genes de IL-170

La IL-173 humana se identificó a partir de la secuencia derivada de una biblioteca de ADN de la corteza frontal de cerebro de epiléptico. La IL-173 de rata se identificó a partir de una biblioteca de ADNc de cóclea, cerebro, cerebelo, ojo, pulmón y riñón. De nuevo, los genes parecen ser bastante raros, lo que sugiere que las distribuciones de la expresión estarían altamente restringidas.

10 La IL-174 de ratón se identificó a partir de la secuencia derivada de una biblioteca de ADNc derivado de embrión de ratón. El gene parece ser bastante raro, lo que sugiere que las distribuciones de la expresión estarían altamente restringidas.

La IL-171 humana se identificó a partir de una secuencia derivada de una célula T apoptótica. El gene parece ser bastante raro, lo que sugiere que las distribuciones de la expresión estarían altamente restringidas.

15 La IL-172 humana se identificó a partir de secuencias derivadas de corazón fetal humano, hígado y bazo, timo, tumor de timo y de todo el feto. El ratón derivó de secuencias derivadas de ratón, embrión, glándulas mamarias y órganos combinados. Ambos genes parecen ser bastante raros, lo que sugiere que sus distribuciones de la expresión estarían altamente restringidas.

20 La IL-175 humana se identificó a partir de una secuencia derivada de una célula T activada con tiouridina 12 horas. El gene parece ser bastante raro, lo que sugiere que las distribuciones de la expresión estarían altamente restringidas.

VIII. Mapeo cromosómico de los genes de IL-170

25 Se usa un ADNc aislado que codifica el gen de IL-170 adecuado. El mapeo del cromosoma es una técnica estándar. Véase, por ejemplo, BIOS Laboratories (New Haven, CT) y procedimientos de uso de un panel híbrido de células somáticas de ratón con PCR.

El gen de la IL-173 humana está en el cromosoma humano 13q11.

IX. Aislamiento de homólogos de IL-170

30 Una composición de unión, por ejemplo un anticuerpo, se usa para la detección selectiva de una biblioteca de expresión hecha de una línea celular que expresa una proteína IL-170. Se usan técnicas de tinción convencionales para detectar o clasificar antígeno intracelular o expresado en la superficie o células transformadas que se expresan en la superficie se someten a detección selectiva mediante *panning*. La detección selectiva de la expresión intracelular se realiza mediante varios procedimientos de tinción o inmunofluorescencia. Véase también McMahan y col. (1991) EMBO J. 10:2821-2832.

35 Procedimientos similares son aplicables para aislar variantes de especie o alélicas. Las variantes de especie se aíslan usando técnicas de hibridación de especie cruzada en base a un aislamiento de longitud completa o fragmento de una especie como sonda, o especies adecuadas.

X. Aislamiento de receptores para IL-170

40 Se dispone de procedimientos para la detección selectiva de una biblioteca de expresión hecha de una línea celular que expresa potenciales receptores de IL-170. Se produce un ligando de IL-170 marcado, como se ha descrito anteriormente. Se usan técnicas de tinción convencionales para detectar o clasificar el receptor expresado en la superficie o células transformadas que se expresan en la superficie se someten a detección selectiva mediante *panning*. Véase también McMahan y col. (1991) EMBO J. 10:2821-2832.

45 Por ejemplo, el día 0 se recubren previamente portaobjetos de permanox de 2 cámaras con 1 ml por cámara de fibronectina, 10 ng/ml en PBS durante 30 minutos a temperatura ambiente. Lavar una vez con PBS. Después, se siembran en placas las células COS a 2-3 x 10⁵ células por cámara en 1,5 ml de medio de crecimiento. Incubar durante la noche a 37 °C.

50 El día 1, para cada muestra, preparar 0,5 ml de una solución de 66 mg/ml de DEAE-dextrano, cloroquina 66 µM y 4 µg de ADN en DME sin suero. Para cada grupo se prepara un control positivo, por ejemplo de ADNc de huIL-170-FLAG a una dilución de 1 y 1/200 y un simulado negativo. Lavar las células con DME sin suero. Añadir la solución de ADN e incubar 5 horas a 37 °C. Retirar el medio y añadir 0,5 ml de 10 % de DMSO en DME durante 2,5 minutos. Retirar y lavar una vez con DME. Añadir 1,5 ml de medio de crecimiento e incubar durante la noche.

El día 2, cambiar el medio. Los días 3 o 4, las células se fijan y se tiñen. Lavar las células dos veces con solución salina tamponada de HANK (HBSS) y fijar en 4% de paraformaldehído (PFA)/glucosa durante 5 minutos. Lavar 3X con HBSS. Los portaobjetos se pueden almacenar a -80 °C después de retirar todo el líquido. Para cada cámara se realizan incubaciones de 0,5 ml, del siguiente modo: Añadir HBSS/saponina (0,1 %) con 32 µl/ml de NaN₃ 1M durante 20 minutos. Después, las células se lavan con HBSS/saponina 1X. Se añade anticuerpo soluble a las células y se incuban durante 30 minutos. Lavar las células dos veces con HBSS/saponina. Añadir el segundo anticuerpo, por ejemplo anticuerpo anti-ratón Vector a una dilución de 1/200 e incubar durante 30 minutos. Preparar la solución de Elisa, por ejemplo solución de peroxidasa de rábano Vector Elite ABC y preincubar durante 30 minutos. Usar, por ejemplo, 1 gota de la solución A (avidina) y 1 gota de la solución B (biotina) por 2,5 ml de HBSS/saponina. Lavar las células dos veces con HBSS/saponina. Añadir la solución de ABC HRP e incubar durante 30 minutos. Lavar las células dos veces con HBSS, segundo lavado durante 2 minutos, que cierra las células. Después, añadir ácido diamino benzoico (DAB) Vector durante de 5 a 10 minutos. Usar 2 gotas de tampón más 4 gotas de DAB más 2 gotas de H₂O₂ por 5 ml de agua desionizada. Cuidadosamente retirar la cámara y lavar el portaobjetos en agua. Secar al aire unos minutos, después añadir 1 gota de Crystal Mount y una tapa. Cocer durante 5 minutos a 85-90 °C.

Como alternativa, se usa el ligando marcado para purificar por afinidad o clasificar las células que expresan el receptor. Véase, por ejemplo, Sambrook, y col., o Ausubel y col.

Se pueden realizar muchas modificaciones y variaciones de la presente invención.

Las realizaciones específicas descritas en el presente documento se ofrecen a modo de ejemplo únicamente y la invención tiene que estar limitada únicamente por los términos de las reivindicaciones adjuntas.

En el presente documento también se describen los apartados siguientes:

1. Un polinucleótido aislado o recombinante que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en:

a) una secuencia de IL-173 de mamífero que:

- i) codifica al menos 8 aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 6, 8, 10, o 12 maduras;
- ii) codifica al menos dos segmentos distintos de al menos 5 aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 6, 8, 10 o 12 maduras; o
- iii) comprende uno o más segmentos de al menos 21 nucleótidos contiguos de las SEC ID N° 5, 7, 9 u 11;

b) una secuencia de IL-174 de mamífero que:

- i) codifica al menos 8 aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 14, 16 o 18.
- ii) codifica al menos dos segmentos distintos de al menos 5 aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 14, 16 o 18; o
- iii) comprende uno o más segmentos de al menos 21 nucleótidos contiguos de las SEC ID N° 14, 16 o 18.

c) una secuencia de IL-176 de mamífero que:

- i) codifica al menos 8 aminoácidos contiguos de la SEC ID N° 28;
- ii) codifica al menos dos segmentos distintos de al menos 5 aminoácidos contiguos de la SEC ID N° 28 o
- iii) comprende uno o más segmentos de al menos 21 nucleótidos contiguos de las SEC ID N° 27; y

d) una secuencia de IL-177 de mamífero que:

- i) codifica al menos 8 aminoácidos contiguos de la SEC ID N° 30;
- ii) codifica al menos dos segmentos distintos de al menos 5 aminoácidos contiguos de la SEC ID N° 30 o
- iii) comprende uno o más segmentos de al menos 21 nucleótidos contiguos de la SEC ID N° 29.

2. El polinucleótido del apartado 1 en un vector de expresión, que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en:

a) una secuencia de IL-173 que:

- i) codifica al menos 12 aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 6, 8, 10 o 12 maduras;
- ii) codifica al menos dos segmentos distintos de al menos 7 y 10 aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 6, 8, 10 o 12; o
- iii) o comprende al menos 27 nucleótidos contiguos de las SEC ID N° 5, 7, 9 o 11;

b) una secuencia de IL-174 que:

- i) codifica al menos 12 aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 14, 16 o 18.
- ii) codifica al menos dos segmentos distintos de al menos 7 y 10 aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 14, 16 o 18; o

iii) o comprende al menos 27 nucleótidos contiguos de las SEC ID N° 13, 15 o 17.

c) una secuencia de IL-176 que:

- 5 i) codifica al menos 12 aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 28;
 ii) codifica al menos dos segmentos distintos de al menos 7 y 10 aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 28
 o
 iii) o comprende al menos 27 nucleótidos contiguos de las SEC ID N° 27; y

d) una secuencia de IL-177 que:

- 10 i) codifica al menos 12 aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 30;
 ii) codifica al menos dos segmentos distintos de al menos 7 y 10 aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 30
 o
 iii) o comprende al menos 27 nucleótidos contiguos de las SEC ID N° 29.

3. El polinucleótido del apartado 2 seleccionado del grupo que consiste en:

a) una secuencia de IL-173 que:

- 15 i) codifica al menos 16 residuos aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 6, 8, 10 o 12 maduras;
 ii) codifica al menos dos segmentos distintos de al menos 10 y 13 residuos aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 6, 8, 10 o 12 maduras;
 iii) o comprende al menos 33 nucleótidos contiguos de las SEC ID N° 5, 7, 9 o 11; o
 iv) comprende toda la porción de codificación madura de las SEC ID N° 5, 7, 9 o 11;

b) una secuencia de IL-174 que:

- 20 i) codifica al menos 16 residuos aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 14, 16 o 18.
 ii) codifica al menos dos segmentos distintos de al menos 10 y 13 residuos aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 14, 16 o 18 maduras; o
 iii) o comprende al menos 33 nucleótidos contiguos de las SEC ID N° 13, 15 o 17; o
 iv) comprende toda la porción de codificación madura de las SEC ID N° 13, 15 o 17.

c) una secuencia de IL-176 que:

- 25 i) codifica al menos 16 aminoácidos contiguos de la SEC ID N° 28;
 ii) codifica al menos dos segmentos distintos de al menos 10 y 14 residuos aminoácidos contiguos de la SEC ID N° 28;
 iii) o comprende al menos 33 nucleótidos contiguos de la SEC ID N° 27 o
 30 iv) comprende toda la porción de codificación madura de la SEC ID N° 27; y

d) una secuencia de IL-177 que:

- 35 i) codifica al menos 16 aminoácidos contiguos de la SEC ID N° 30 madura;
 ii) codifica al menos dos segmentos distintos de al menos 10 y 14 residuos aminoácidos contiguos de la SEC ID N° 30 madura;
 iii) o comprende al menos 33 nucleótidos contiguos de la SEC ID N° 29 o
 iv) comprende toda la porción de codificación madura de la SEC ID N° 29.

4. Un procedimiento de fabricación de:

- 40 a) un polipéptido que comprende expresar dicho vector de expresión del apartado 2, de modo que se produce dicho polipéptido;
 b) un ácido nucleico dúplex que comprende poner en contacto un polinucleótido del apartado 2 con un ácido nucleico complementario, de modo que tiene como resultado la producción de dicho ácido nucleico dúplex; o
 c) un polinucleótido del apartado 2, que comprende amplificar usando un procedimiento de PCR.

5. Un polinucleótido aislado o recombinante que hibrida en condiciones de lavado rigurosas de al menos 55 °C y menos de 400 mM de sal con:

- 45 a) el polinucleótido (IL-173) del apartado 3 que consiste en las porciones de codificación maduras de las SEC ID N° 5, 7, 9 o 11;
 b) el polinucleótido (IL-174) del apartado 3 que consiste en las porciones de codificación maduras de las SEC ID N° 13, 15 o 17; o
 50 c) el polinucleótido (IL-176) del apartado 3 que consiste en las porciones de codificación maduras de la SEC ID N° 27 o
 d) el polinucleótido (IL-177) del apartado 3 que consiste en las porciones de codificación maduras de la SEC ID N° 29.

6. Un polinucleótido del apartado 5:
- a) en el que dichas condiciones de lavado son, al menos, 65 °C y menos de 300 mM de sal, o
 - b) que comprende al menos 50 nucleótidos contiguos de la porción de codificación madura de:
 - i) SEC ID N° 5, 7, 9 u 11 (IL-173);
 - 5 ii) SEC ID N° 13, 15 o 17 (IL-174);
 - iii) SEC ID N° 27 (IL-176); o
 - iv) SEC ID N° 29 (IL-177)
7. Un kit que comprende dicho polinucleótido del apartado 6, e
- a) instrucciones de uso de dicho polinucleótido para detección;
 - 10 b) instrucciones para la eliminación de dicho polinucleótido u otros reactivos de dicho kit; o
 - c) tanto a como b.
8. Una célula que contiene dicho vector de expresión del apartado 3, en el que dicha célula es:
- a) una célula procariota;
 - b) una célula eucariota;
 - 15 c) una célula bacteriana;
 - d) una célula de levadura;
 - e) una célula de insecto;
 - g) una célula de mamífero;
 - g) una célula de ratón;
 - 20 h) una célula de primate; o
 - i) una célula humana.
9. Un polipéptido antigénico aislado o recombinante:
- a) (IL-173) que comprende al menos:
 - 25 i) un segmento de 8 aminoácidos contiguos idénticos de las porciones de codificación maduras de las SEC ID N° 6, 8, 10 o 12; o
 - ii) dos segmentos distintos de al menos 5 aminoácidos contiguos idénticos de las porciones de codificación maduras de las SEC ID N° 6, 8, 10 o 12; o
 - b) (IL-174) que comprende al menos:
 - 30 i) un segmento de 8 aminoácidos contiguos idénticos de las porciones de codificación maduras de las SEC ID N° 14, 16 o 18; o
 - ii) dos segmentos distintos de al menos 5 aminoácidos contiguos idénticos de las porciones de codificación maduras de las SEC ID N° 14, 16 ó 18.
 - c) (IL-176) que comprende al menos:
 - 35 i) un segmento de 8 aminoácidos contiguos idénticos de las porciones de codificación maduras de las SEC ID N° 28 o
 - ii) dos segmentos distintos de al menos 5 aminoácidos contiguos idénticos de las porciones de codificación maduras de las SEC ID N° 28;
 - d) (IL-177) que comprende al menos:
 - 40 i) un segmento de 8 aminoácidos contiguos idénticos de las porciones de codificación maduras de las SEC ID N° 30 o
 - ii) dos segmentos distintos de al menos 5 aminoácidos contiguos idénticos de las porciones de codificación

maduras de las SEC ID N° 30.

10. El polipéptido del apartado 9, en el que:

- a) dicho segmento de 8 aminoácidos contiguos idénticos es al menos 14 aminoácidos contiguos; o
- b) uno de dichos segmentos de 5 aminoácidos contiguos comprende al menos 7 aminoácidos contiguos.

5 11. El polipéptido del apartado 9, en el que:

A) (IL-173) dicho polipéptido:

- a) comprende la SEC ID N° 6, 8, 10 o 12;
- b) se une con selectividad a un anticuerpo policlonal generado contra un inmunógeno de las SEC ID N° 6, 8, 10 o 12 maduras;
- 10 c) comprende una pluralidad de distintos segmentos polipeptídicos de 10 aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 6, 8, 10 o 12 maduras;
- d) es una variante alélica natural de las SEC ID N° 8 o 12;
- e) tiene una longitud de al menos 30 aminoácidos; o
- f) exhibe al menos dos epítomos no solapantes que son selectivos de las SEC ID N° 6, 8, 10 o 12 maduras;

15 B) (IL-174) dicho polipéptido:

- a) comprende las SEC ID N° 14, 16 o 18 maduras.
- b) se une con selectividad a un anticuerpo policlonal generado contra un inmunógeno de las SEC ID N° 14, 16 o 18 maduras.
- 20 c) comprende una pluralidad de distintos segmentos polipeptídicos de 10 aminoácidos contiguos de las SEC ID N° 14, 16 o 18 maduras.
- d) es una variante alélica natural de las SEC ID N° 14 o 18;
- e) tiene una longitud de al menos 30 aminoácidos; o
- f) exhibe al menos dos epítomos no solapantes que son selectivos de la proteína de primate de las SEC ID N° 14, 16 o 18 maduras.

25 C) (IL-176) dicho polipéptido:

- a) comprende una secuencia madura de SEC ID N° 28;
- b) se une con selectividad a un anticuerpo policlonal generado contra un inmunógeno de la SEC ID N° 28 madura;
- 30 c) comprende una pluralidad de distintos segmentos polipeptídicos de 10 aminoácidos contiguos de la SEC ID N° 28 madura;
- d) es una variante alélica natural de la SEC ID N° 28;
- e) tiene una longitud de al menos 30 aminoácidos; o
- f) exhibe al menos dos epítomos no solapantes que son selectivos de la SEC ID N° 28 madura; o

D) (IL-177) dicho polipéptido:

- 35 a) comprende una secuencia madura de SEC ID N° 30;
- b) se une con selectividad a un anticuerpo policlonal generado contra un inmunógeno de las SEC ID N° 30 madura;
- c) comprende una pluralidad de distintos segmentos polipeptídicos de 10 aminoácidos contiguos de la SEC ID N° 30 madura;
- 40 d) es una variante alélica natural de la SEC ID N° 30;
- e) tiene una longitud de al menos 30 aminoácidos; o
- f) exhibe al menos dos epítomos no solapantes que son selectivos de la SEC ID N° 30 madura.

12. El polipéptido del apartado 11, que:

- 45 a) es una composición estéril;
- b) no está glicosilado;
- c) está desnaturalizado;
- d) es un polipéptido sintético;
- e) está fijado a un sustrato sólido;
- f) es una proteína de fusión con un marcador de detección o de purificación;
- 50 g) es una sustitución por 5 o menos de una secuencia natural; o
- h) es una variante de delección o inserción de una secuencia natural.

13. Un procedimiento de uso de dicho polipéptido del apartado 9:

- a) para marcar dicho polipéptido, que comprenden marcar dicho polipéptido con un marcador radioactivo;
- b) para separar dicho polipéptido de otro polipéptido en una mezcla, que comprende pasar dicha mezcla en una

- matriz cromatográfica, separando de este modo dichos polipéptidos;
- 5 c) para identificar un compuesto que se une de forma selectiva a dicho polipéptido, que comprende incubar dicho compuesto con dicho polipéptido en las condiciones adecuadas, de modo que hace que compuesto se una a dicho polipéptido; o
- 5 d) para conjugar dicho polipéptido con una matriz, que comprende derivar dicho polipéptido con un reactivo errático y conjugando dicho polipéptido con dicha matriz.
14. Un compuesto de unión que comprende una porción de unión a antígeno de un anticuerpo que se une con selectividad a dicho polipéptido del apartado 11, en el que dicho polipéptido:
- 10 a) (IL-173) comprende las SEC ID N° 6, 8, 10 o 12 maduras; o
- b) (IL-174) comprende las SEC ID N° 14, 16 o 18 maduras;
- c) (IL-176) comprende la SEC ID N° 28 madura; o
- d) (IL-177) comprende la SEC ID N° 30 madura.
15. El compuesto de unión del apartado 14, en el que dicho anticuerpo es un anticuerpo policlonal que se produce contra:
- 15 a) (IL-173) SEC ID N° 6, 8, 10 o 12; o
- b) (IL-174) SEC ID N° 14, 16 o 18;
- c) (IL-176) SEC ID N° 28; o
- d) (IL-177) SEC ID N° 30.
16. El compuesto de unión que del apartado 14, en el que dicho:
- 20 a) anticuerpo:
- i) se inmunoselecciona;
- ii) se une a una proteína desnaturalizada; o
- iii) exhibe una K_d a dicho polipéptido de al menos 30 mM; o
- b) dicho compuesto de unión:
- 25 i) está fijado a un sustrato sólido, incluida una perla o membrana plástica;
- ii) es una composición estéril; o
- iii) está marcado de forma detectable, incluido un marcador radioactivo o fluorescente.
17. Un procedimientos de producción de un complejo antígeno-anticuerpo, que comprenden poner en contacto un polipéptido que comprende la secuencia de las SEC ID N° 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 28, o 30 con un compuesto de unión del apartado 14 en condiciones que permite que se forme dicho complejo.
- 30 18. El procedimiento del apartado 17, en el que dicho compuesto de unión es un anticuerpo y dicho polipéptido es una muestra biológica.
19. Un kit que comprende dicho compuesto de unión del apartado 14 y:
- 35 a) un polipéptido de las SEC ID N° 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 28, o 30 maduras;
- b) instrucciones de uso de dicho compuesto de unión para detección; o
- c) instrucciones para la eliminación de dicho compuesto de unión u otros reactivos de dicho kit.
20. Un procedimiento de evaluar la selectividad de la unión de un anticuerpo a una proteína de las SEC ID N° 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 28 o 30 maduras, que comprende poner en contacto dicho anticuerpo con dicha proteína y otra citoquina; y comparar la unión de dicho anticuerpo a dicha proteína y a dicha citoquina.
- 40 LISTADO DE SECUENCIAS
- La SEC ID N° 1 es una secuencia de ácido nucleico de IL-172 de primate.
- La SEC ID N° 2 es una secuencia polipeptídica de IL-172 de primate.
- La SEC ID N° es la una secuencia de ácido nucleico de IL-172 murina.
- La SEC ID N° 4 es una secuencia polipeptídica de IL-172 murina.
- 45 La SEC ID N° es una secuencia de ácido nucleico de IL-173 de primate.
- La SEC ID N° 6 es una secuencia polipeptídica de IL-173 de primate.
- La SEC ID N° 7 es una secuencia de ácido nucleico suplementaria de IL-173 de primate.

ES 2 374 429 T3

- La SEC ID Nº 8 es una secuencia polipeptídica suplementaria de IL-173 de primate.
- La SEC ID Nº 9 es una secuencia de ácido nucleico de IL-173 murina.
- La SEC ID Nº 10 es una secuencia polipeptídica de IL-173 murina.
- La SEC ID Nº 11 es una secuencia de ácido nucleico suplementaria de IL-173 murina.
- 5 La SEC ID Nº 12 es una secuencia polipeptídica suplementaria de IL-173 murina.
- La SEC ID Nº 13 es la secuencia de ácido nucleico de IL-174 de primate.
- La SEC ID Nº 14 es una secuencia polipeptídica de IL-174 de primate.
- La SEC ID Nº 15 es una secuencia de ácido nucleico de IL-174 murina.
- La SEC ID Nº 16 es una secuencia polipeptídica de IL-174 murina.
- 10 La SEC ID Nº 17 es una secuencia de ácido nucleico suplementaria de IL-174 murina.
- La SEC ID Nº 18 es una secuencia polipeptídica suplementaria de IL-174 murina.
- La SEC ID Nº 19 es una secuencia de ácido nucleico de IL-171 de primate según la IUPAC.
- La SEC ID Nº 20 es una secuencia de ácido nucleico de IL-171 de primate.
- La SEC ID Nº 21 es una secuencia polipeptídica de IL-171 de primate.
- 15 La SEC ID Nº 22 es una secuencia de ácido nucleico suplementaria de IL-171 de primate.
- La SEC ID Nº 23 es una secuencia polipeptídica suplementaria de IL-171 de primate.
- La SEC ID Nº 24 es una secuencia de ácido nucleico de IL-175 de primate según la IUPAC.
- La SEC ID Nº 25 es una secuencia de ácido nucleico de IL-175 de primate.
- La SEC ID Nº 26 es una secuencia polipeptídica de IL-175 de primate.
- 20 La SEC ID Nº 27 es una secuencia de ácido nucleico de IL-176 de primate.
- La SEC ID Nº 28 es una secuencia polipeptídica de IL-176 de primate.
- La SEC ID Nº 29 es una secuencia de ácido nucleico de IL-177 de primate.
- La SEC ID Nº 30 es una secuencia polipeptídica de IL-177 de primate.
- La SEC ID Nº 31 es una secuencia polipeptídica de CTLA-8 de rata.
- 25 La SEC ID Nº 32 es una secuencia polipeptídica de CTLA-8 de ratón.
- La SEC ID Nº 33 es una secuencia polipeptídica de CTLA-8 de primate.
- La SEC ID Nº 34 es una secuencia polipeptídica de CTLA-8 viral.
- <110> Schering Corporation
- 30 <120> Citoquinas purificadas de mamífero, reactivos y procedimientos relacionados
- <130> DX0917K
- <140>
- 35 <141>
- <150> USSN 09/228.822
- <151> 11-01-1999
- 40 <160> 34
- <170> PatentIn Ver. 2.1
- <210> 1

<211> 543
 <212> ADN
 <213> primate

5 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(540)

10 <220>
 <221> mat_peptide
 <222> (61)..(540)

<400> 1

```

atg gac tgg cct cac aac ctg ctg ttt ctt ctt acc att tcc atc ttc 48
Met Asp Trp Pro His Asn Leu Leu Phe Leu Leu Thr Ile Ser Ile Phe
-20 -15 -10 -5

ctg ggg ctg ggc cag ccc agg agc ccc aaa agc aag agg aag ggg caa 96
Leu Gly Leu Gly Gln Pro Arg Ser Pro Lys Ser Lys Arg Lys Gly Gln
-1 1 5 10

ggg cgg cct ggg ccc ctg gtc cct ggc cct cac cag gtg cca ctg gac 144
Gly Arg Pro Gly Pro Leu Val Pro Gly Pro His Gln Val Pro Leu Asp
15 20 25

ctg gtg tca cgg atg aaa ccg tat gcc cgc atg gag gag tat gag agg 192
Leu Val Ser Arg Met Lys Pro Tyr Ala Arg Met Glu Glu Tyr Glu Arg
30 35 40

aac atc gag gag atg gtg gcc cag ctg agg aac agc tca gag ctg gcc 240
Asn Ile Glu Glu Met Val Ala Gln Leu Arg Asn Ser Ser Glu Leu Ala
45 50 55 60

cag aga aag tgt gag gtc aac ttg cag ctg tgg atg tcc aac aag agg 288
Gln Arg Lys Cys Glu Val Asn Leu Gln Leu Trp Met Ser Asn Lys Arg
65 70 75

agc ctg tct ccc tgg ggc tac agc atc aac cac gac ccc agc cgt atc 336
Ser Leu Ser Pro Trp Gly Tyr Ser Ile Asn His Asp Pro Ser Arg Ile
80 85 90

ccc gtg gac ctg ccg gag gca cgg tgc ctg tgt ctg ggc tgt gtg aac 384
Pro Val Asp Leu Pro Glu Ala Arg Cys Leu Cys Leu Gly Cys Val Asn
95 100 105

ccc ttc acc atg cag gag gac cgc agc atg gtg agc gtg ccg gtg ttc 432
Pro Phe Thr Met Gln Glu Asp Arg Ser Met Val Ser Val Pro Val Phe
110 115 120

agc cag gtt cct gtg cgc cgc cgc ctc tgc ccg cca ccg ccc cgc aca 480
Ser Gln Val Pro Val Arg Arg Arg Leu Cys Pro Pro Pro Pro Arg Thr
125 130 135 140

ggg cct tgc cgc cag cgc gca gtc atg gag acc atc gct gtg ggc tgc 528
Gly Pro Cys Arg Gln Arg Ala Val Met Glu Thr Ile Ala Val Gly Cys
145 150 155

acc tgc atc ttc tga 543
Thr Cys Ile Phe
160
    
```

15

ES 2 374 429 T3

<210> 2
 <211> 180
 <212> PRT
 <213> primate

5

<400> 2

```

Met Asp Trp Pro His Asn Leu Leu Phe Leu Leu Thr Ile Ser Ile Phe
-20                -15                -10                -5

Leu Gly Leu Gly Gln Pro Arg Ser Pro Lys Ser Lys Arg Lys Gly Gln
          -1  1                5                10

Gly Arg Pro Gly Pro Leu Val Pro Gly Pro His Gln Val Pro Leu Asp
          15                20                25

Leu Val Ser Arg Met Lys Pro Tyr Ala Arg Met Glu Glu Tyr Glu Arg
  30                35                40

Asn Ile Glu Glu Met Val Ala Gln Leu Arg Asn Ser Ser Glu Leu Ala
  45                50                55                60

Gln Arg Lys Cys Glu Val Asn Leu Gln Leu Trp Met Ser Asn Lys Arg
          65                70                75

Ser Leu Ser Pro Trp Gly Tyr Ser Ile Asn His Asp Pro Ser Arg Ile
          80                85                90

Pro Val Asp Leu Pro Glu Ala Arg Cys Leu Cys Leu Gly Cys Val Asn
          95                100                105

Pro Phe Thr Met Gln Glu Asp Arg Ser Met Val Ser Val Pro Val Phe
  110                115                120

Ser Gln Val Pro Val Arg Arg Arg Leu Cys Pro Pro Pro Pro Arg Thr
  125                130                135                140

Gly Pro Cys Arg Gln Arg Ala Val Met Glu Thr Ile Ala Val Gly Cys
          145                150                155

Thr Cys Ile Phe
          160
    
```

10 <210> 3
 <211> 543
 <212> ADN
 <213> roedor

15 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(540)

20 <220>
 <221> mat_peptide
 <222> (67)..(540)

<400> 3

```

atg gac tgg ccg cac agc ctg ctc ttc ctc ctg gcc atc tcc atc ttc 48
Met Asp Trp Pro His Ser Leu Leu Phe Leu Leu Ala Ile Ser Ile Phe
      -20                -15                -10

ctg gcg cca agc cac ccc cgg aac acc aaa ggc aaa aga aaa ggg caa 96
Leu Ala Pro Ser His Pro Arg Asn Thr Lys Gly Lys Arg Lys Gly Gln
      -5                -1  1                5                10

ggg agg ccc agt ccc ttg gcc cct ggg cct cat cag gtg ccg ctg gac 144
Gly Arg Pro Ser Pro Leu Ala Pro Gly Pro His Gln Val Pro Leu Asp
      15                20                25

ctg gtg tct cga gta aag ccc tac gct cga atg gaa gag tat gag cgg 192
Leu Val Ser Arg Val Lys Pro Tyr Ala Arg Met Glu Glu Tyr Glu Arg
      30                35                40

aac ctt ggg gag atg gtg gcc cag ctg agg aac agc tcc gag cca gcc 240
Asn Leu Gly Glu Met Val Ala Gln Leu Arg Asn Ser Ser Glu Pro Ala
      45                50                55

aag aag aaa tgt gaa gtc aat cta cag ctg tgg ttg tcc aac aag agg 288
Lys Lys Lys Cys Glu Val Asn Leu Gln Leu Trp Leu Ser Asn Lys Arg
      60                65                70

agc ctg tcc cca tgg ggc tac agc atc aac cac gac ccc agc cgc atc 336
Ser Leu Ser Pro Trp Gly Tyr Ser Ile Asn His Asp Pro Ser Arg Ile
      75                80                85                90

cct gcg gac ttg ccc gag gcg cgg tgc cta tgt ttg ggt tgc gtg aat 384
Pro Ala Asp Leu Pro Glu Ala Arg Cys Leu Cys Leu Gly Cys Val Asn
      95                100                105

ccc ttc acc atg cag gag gac cgt agc atg gtg agc gtg cca gtg ttc 432
Pro Phe Thr Met Gln Glu Asp Arg Ser Met Val Ser Val Pro Val Phe
      110                115                120

agc cag gtg ccg gtg cgc cgc cgc ctc tgt cct caa cct cct cgc cct 480
Ser Gln Val Pro Val Arg Arg Arg Leu Cys Pro Gln Pro Pro Arg Pro
      125                130                135

ggg ccc tgc cgc cag cgt gtc gtc atg gag acc atc gct gtg ggt tgc 528
Gly Pro Cys Arg Gln Arg Val Val Met Glu Thr Ile Ala Val Gly Cys
      140                145                150

acc tgc atc ttc tga 543
Thr Cys Ile Phe
155

```

<210> 4
 <211> 180
 <212> PRT
 <213> roedor

5

<400> 4

ES 2 374 429 T3

Met Asp Trp Pro His Ser Leu Leu Phe Leu Leu Ala Ile Ser Ile Phe
 -20 -15 -10

Leu Ala Pro Ser His Pro Arg Asn Thr Lys Gly Lys Arg Lys Gly Gln
 -5 -1 1 5 10

Gly Arg Pro Ser Pro Leu Ala Pro Gly Pro His Gln Val Pro Leu Asp
 15 20 25

Leu Val Ser Arg Val Lys Pro Tyr Ala Arg Met Glu Glu Tyr Glu Arg
 30 35 40

Asn Leu Gly Glu Met Val Ala Gln Leu Arg Asn Ser Ser Glu Pro Ala

45 50 55

Lys Lys Lys Cys Glu Val Asn Leu Gln Leu Trp Leu Ser Asn Lys Arg
 60 65 70

Ser Leu Ser Pro Trp Gly Tyr Ser Ile Asn His Asp Pro Ser Arg Ile
 75 80 85 90

Pro Ala Asp Leu Pro Glu Ala Arg Cys Leu Cys Leu Gly Cys Val Asn
 95 100 105

Pro Phe Thr Met Gln Glu Asp Arg Ser Met Val Ser Val Pro Val Phe
 110 115 120

Ser Gln Val Pro Val Arg Arg Arg Leu Cys Pro Gln Pro Pro Arg Pro
 125 130 135

Gly Pro Cys Arg Gln Arg Val Val Met Glu Thr Ile Ala Val Gly Cys
 140 145 150

Thr Cys Ile Phe
 155

- <210> 5
- <211> 454
- 5 <212> ADN
- <213> primate
- <220>
- <221> CDS
- 10 <222> (1)..(453)
- <400> 5

ES 2 374 429 T3

tgc gcg gac cgg ccg gag gag cta ctg gag cag ctg tac ggg cgc ctg	48
Cys Ala Asp Arg Pro Glu Glu Leu Leu Glu Gln Leu Tyr Gly Arg Leu	
1 5 10 15	
gcg gcc ggc gtg ctc agt gcc ttc cac cac acg ctg cag ctg ggg ccg	96
Ala Ala Gly Val Leu Ser Ala Phe His His Thr Leu Gln Leu Gly Pro	
20 25 30	
cgt gag cag gcg cgc aac gcg agc tgc ccg gca ggg ggc agg ccc gcc	144
Arg Glu Gln Ala Arg Asn Ala Ser Cys Pro Ala Gly Gly Arg Pro Ala	
35 40 45	
gac cgc cgc ttc cgg acg ccc acc aac ctg cgc agc gtg tgc ccc tgg	192
Asp Arg Arg Phe Arg Thr Pro Thr Asn Leu Arg Ser Val Ser Pro Trp	
50 55 60	
gcc tac aga atc tcc tac gac ccg gcg agg tac ccc agg tac ctg cct	240
Ala Tyr Arg Ile Ser Tyr Asp Pro Ala Arg Tyr Pro Arg Tyr Leu Pro	
65 70 75 80	
gaa gcc tac tgc ctg tgc cgg ggc tgc ctg acc ggg ctg ttc ggc gag	288
Glu Ala Tyr Cys Leu Cys Arg Gly Cys Leu Thr Gly Leu Phe Gly Glu	
85 90 95	
gag gac gtg cgc ttc cgc agc gcc cct gtc tac atg ccc acc gtc gtc	336
Glu Asp Val Arg Phe Arg Ser Ala Pro Val Tyr Met Pro Thr Val Val	
100 105 110	
ctg cgc cgc acc ccc gcc tgc gcc ggc ggc cgt tcc gtc tac acc gag	384
Leu Arg Arg Thr Pro Ala Cys Ala Gly Gly Arg Ser Val Tyr Thr Glu	
115 120 125	
gcc tac gtc acc atc ccc gtg ggc tgc acc tgc gtc ccc gag ccg gag	432
Ala Tyr Val Thr Ile Pro Val Gly Cys Thr Cys Val Pro Glu Pro Glu	
130 135 140	
aag gac gca gac agc atc aac t	454
Lys Asp Ala Asp Ser Ile Asn	
145 150	

<210> 6
 <211> 151
 <212> PRT
 <213> primate

5

<400> 6

ES 2 374 429 T3

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

<210> 7
 <211> 1385
 5 <212> ADN
 <213> primate

<220>
 <221> CDS
 10 <222> (59)..(664)

<220>
 <221> mat_peptide
 <222> (110)..(664)

15 <400> 7

ES 2 374 429 T3

gcccgggcag gtggcgacct cgctcagtcg gcttctcggg ccaagtcccc gggctctgg 58
 atg ctg gta gcc ggc ttc ctg ctg gcg ctg ccg ccg agc tgg gcc gcg 106
 Met Leu Val Ala Gly Phe Leu Leu Ala Leu Pro Pro Ser Trp Ala Ala
 -15 -10 -5
 ggc gcc ccg agg gcg ggc agg cgc ccc gcg cgg ccg cgg ggc tgc gcg 154
 Gly Ala Pro Arg Ala Gly Arg Arg Pro Ala Arg Pro Arg Gly Cys Ala
 -1 1 5 10 15
 gac cgg ccg gag gag cta ctg gag cag ctg tac ggg cgc ctg gcg gcc 202
 Asp Arg Pro Glu Glu Leu Leu Glu Gln Leu Tyr Gly Arg Leu Ala Ala
 20 25 30
 ggc gtg ctc agt gcc ttc cac cac acg ctg cag ctg ggg ccg cgt gag 250
 Gly Val Leu Ser Ala Phe His His Thr Leu Gln Leu Gly Pro Arg Glu
 35 40 45
 cag gcg cgc aac gcg agc tgc ccg gca ggg ggc agg ccc gcc gac cgc 298
 Gln Ala Arg Asn Ala Ser Cys Pro Ala Gly Gly Arg Pro Ala Asp Arg
 50 55 60
 cgc ttc cgg ccg ccc acc aac ctg cgc agc gtg tgc ccc tgg gcc tac 346
 Arg Phe Arg Pro Pro Thr Asn Leu Arg Ser Val Ser Pro Trp Ala Tyr
 65 70 75
 aga atc tcc tac gac ccg gcg agg tac ccc agg tac ctg cct gaa gcc 394
 Arg Ile Ser Tyr Asp Pro Ala Arg Tyr Pro Arg Tyr Leu Pro Glu Ala
 80 85 90 95
 tac tgc ctg tgc cgg ggc tgc ctg acc ggg ctg ttc gcc gag gag gac 442
 Tyr Cys Leu Cys Arg Gly Cys Leu Thr Gly Leu Phe Gly Glu Glu Asp
 100 105 110
 gtg cgc ttc cgc agc gcc cct gtc tac atg ccc acc gtc gtc ctg cgc 490
 Val Arg Phe Arg Ser Ala Pro Val Tyr Met Pro Thr Val Val Leu Arg
 115 120 125
 cgc acc ccc gcc tgc gcc ggc ggc cgt tcc gtc tac acc gag gcc tac 538
 Arg Thr Pro Ala Cys Ala Gly Gly Arg Ser Val Tyr Thr Glu Ala Tyr
 130 135 140
 gtc acc atc ccc gtg ggc tgc acc tgc gtc ccc gag ccg gag aag gac 586
 Val Thr Ile Pro Val Gly Cys Thr Cys Val Pro Glu Pro Glu Lys Asp
 145 150 155
 gca gac agc atc aac tcc agc atc gac aaa cag ggc gcc aag ctc ctg 634
 Ala Asp Ser Ile Asn Ser Ser Ile Asp Lys Gln Gly Ala Lys Leu Leu
 160 165 170 175
 ctg ggc ccc aac gac gcg ccc gct ggc ccc tgaggccggg cctgccccgg 684
 Leu Gly Pro Asn Asp Ala Pro Ala Gly Pro
 180 185
 gaggtctccc cggccccgat cccgaggcgc ccaagctgga gccgcctgga gggctcggtc 744
 ggcgacctct gaagagagtg caccgagcaa accaagtgcc ggagcaccag cgccgccttt 804

ES 2 374 429 T3

ccatggagac tcgtaagcag cttcatctga cacgggcac cctggcttgc ttttagctac 864
aagcaagcag cgtggctgga agctgatggg aaacgacccg gcacgggcat cctgtgtgcg 924
gcccgcacgg agggtttggg aaagtccacg gaggctccct gaggagcctc tcagatcggc 984
tgctgcgggg gcagggcgtg actcaccgct ggggtgcttgc caaagagata gggacgcata 1044
tgctttttaa agcaatctaa aaataataat aagtatagcg actatatacc tacttttaaa 1104
atcaactggt ttgaatagag gcagagctat tttatattat caaatgagag ctactctggt 1164
acatttctta acatataaac atcgtttttt acttcttctg gtagaatttt ttaaagcata 1224
attggaatcc ttggataaat tttgtagctg gtacactctg gcctgggtct ctgaattcag 1284
cctgtcaccg atggctgact gatgaaatgg acacgtctca tctgaccac tcttccttcc 1344
actgaaggtc ttcacgggcc tccaggcctc gtgccgaatt c . 1385

<210> 8
<211> 202
<212> PRT
<213> primate

5

<400> 8

ES 2 374 429 T3

Met Leu Val Ala Gly Phe Leu Leu Ala Leu Pro Pro Ser Trp Ala Ala
 -15 -10 -5

Gly Ala Pro Arg Ala Gly Arg Arg Pro Ala Arg Pro Arg Gly Cys Ala
 -1 1 5 10 15

Asp Arg Pro Glu Glu Leu Leu Glu Gln Leu Tyr Gly Arg Leu Ala Ala
 20 25 30

Gly Val Leu Ser Ala Phe His His Thr Leu Gln Leu Gly Pro Arg Glu
 35 40 45

Gln Ala Arg Asn Ala Ser Cys Pro Ala Gly Gly Arg Pro Ala Asp Arg
 50 55 60

Arg Phe Arg Pro Pro Thr Asn Leu Arg Ser Val Ser Pro Trp Ala Tyr
 65 70 75

Arg Ile Ser Tyr Asp Pro Ala Arg Tyr Pro Arg Tyr Leu Pro Glu Ala
 80 85 90 95

Tyr Cys Leu Cys Arg Gly Cys Leu Thr Gly Leu Phe Gly Glu Glu Asp
 100 105 110

Val Arg Phe Arg Ser Ala Pro Val Tyr Met Pro Thr Val Val Leu Arg
 115 120 125

Arg Thr Pro Ala Cys Ala Gly Gly Arg Ser Val Tyr Thr Glu Ala Tyr
 130 135 140

Val Thr Ile Pro Val Gly Cys Thr Cys Val Pro Glu Pro Glu Lys Asp
 145 150 155

Ala Asp Ser Ile Asn Ser Ser Ile Asp Lys Gln Gly Ala Lys Leu Leu

160 165 170 175

Leu Gly Pro Asn Asp Ala Pro Ala Gly Pro
 180 185

- <210> 9
- <211> 133
- 5 <212> ADN
- <213> roedor
- <220>
- <221> CDS
- 10 <222> (1)..(132)
- <400> 9

ES 2 374 429 T3

ttt ccg aga tac ctg ccc gaa gcc tac tgc ctg tgc cga ggc tgt ctg 48
 Phe Pro Arg Tyr Leu Pro Glu Ala Tyr Cys Leu Cys Arg Gly Cys Leu
 1 5 10 15

acc ggg ctc tac ggt gag gag gac ttc cgc ttt cgc agc gca ccc gtc 96
 Thr Gly Leu Tyr Gly Glu Glu Asp Phe Arg Phe Arg Ser Ala Pro Val
 20 25 30

ttc tct ccg gcg gtg gtg ctg cgg cgc acg gcg gcc t 133
 Phe Ser Pro Ala Val Val Leu Arg Arg Thr Ala Ala
 35 40

<210> 10
 <211> 44
 5 <212> PRT
 <213> roedor
 <400> 10

Phe Pro Arg Tyr Leu Pro Glu Ala Tyr Cys Leu Cys Arg Gly Cys Leu
 1 5 10 15

Thr Gly Leu Tyr Gly Glu Glu Asp Phe Arg Phe Arg Ser Ala Pro Val
 20 25 30

Phe Ser Pro Ala Val Val Leu Arg Arg Thr Ala Ala
 35 40

10
 <210> 11
 <211> 1143
 <212> ADN
 15 <213> roedor

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(615)

20
 <220>
 <221> mat_peptide
 <222> (73)..(615)

25 <400> 11

atg ttg ggg aca ctg gtc tgg atg ctc ctc gtc ggc ttc ctg ctg gca 48
 Met Leu Gly Thr Leu Val Trp Met Leu Leu Val Gly Phe Leu Leu Ala

ES 2 374 429 T3

	-20		-15		-10	
ctg gcg ccg ggc cgc gcg gcg ggc gcg ctg agg acc ggg agg cgc ccg						96
Leu Ala Pro Gly Arg Ala Ala Gly Ala Leu Arg Thr Gly Arg Arg Pro						
	-5		-1	1	5	
gcg cgg ccg cgg gac tgc gcg gac cgg cca gag gag ctc ctg gag cag						144
Ala Arg Pro Arg Asp Cys Ala Asp Arg Pro Glu Glu Leu Leu Glu Gln						
	10		15		20	
ctg tac ggg cgg ctg gcg gcc ggc gtg ctc agc gcc ttc cac cac acg						192
Leu Tyr Gly Arg Leu Ala Ala Gly Val Leu Ser Ala Phe His His Thr						
	25		30		35	40
ctg cag ctc ggg ccg cgc gag cag gcg cgc aat gcc agc tgc ccg gcc						240
Leu Gln Leu Gly Pro Arg Glu Gln Ala Arg Asn Ala Ser Cys Pro Ala						
		45		50		55
ggg ggc agg gcc gcc gac cgc cgc ttc cgg cca ccc acc aac ctg cgc						288
Gly Gly Arg Ala Ala Asp Arg Arg Phe Arg Pro Pro Thr Asn Leu Arg						
	60		65		70	
agc gtg tgc ccc tgg gcg tac agg att tcc tac gac cct gct cgc ttt						336
Ser Val Ser Pro Trp Ala Tyr Arg Ile Ser Tyr Asp Pro Ala Arg Phe						
	75		80		85	
ccg agg tac ctg ccc gaa gcc tac tgc ctg tgc cga gcc tgc ctg acc						384
Pro Arg Tyr Leu Pro Glu Ala Tyr Cys Leu Cys Arg Gly Cys Leu Thr						
	90		95		100	
ggg ctc tac ggg gag gag gac ttc cgc ttt cgc agc aca ccc gtc ttc						432
Gly Leu Tyr Gly Glu Glu Asp Phe Arg Phe Arg Ser Thr Pro Val Phe						
	105		110		115	120
tct cca gcc gtg gtg ctg cgg cgc aca gcg gcc tgc gcg gcc gcc cgc						480
Ser Pro Ala Val Val Leu Arg Arg Thr Ala Ala Cys Ala Gly Gly Arg						
		125		130		135
tct gtg tac gcc gaa cac tac atc acc atc ccg gtg gcc tgc acc tgc						528
Ser Val Tyr Ala Glu His Tyr Ile Thr Ile Pro Val Gly Cys Thr Cys						
	140		145		150	
gtg ccc gag ccg gac aag tcc gcg gac agt gcg aac tcc agc atg gac						576
Val Pro Glu Pro Asp Lys Ser Ala Asp Ser Ala Asn Ser Ser Met Asp						
	155		160		165	
aag ctg ctg ctg ggg ccc gcc gac agg cct gcg ggg cgc tgatgccggg						625
Lys Leu Leu Leu Gly Pro Ala Asp Arg Pro Ala Gly Arg						
	170		175		180	
gactgccgc catggccag ctctctgcat gcatcaggtc cctggccct gacaaaacc						685
accccatgat cctggccgc tgctaattt ttccaaaagg acagctacat aagctttaa						745
tatatcttc aaagtagaca ctacatatct acaactattt tgaatagtgg cagaaactat						805
tttcatatta gtaatttaga gcaagcatgt tgtttttaa cttctttgat atacaagcac						865
atcacacaca tcccgtttc ctctagtagg attcttgagt gcataattgt agtgctcaga						925
tgaacttct tctgctgca cgtgcctgt cctgagttt ctctgtggc ccaagcttac						985

taaggtgata atgagtgtc cggatctggg cacctaaggt ctccaggtcc ctggagagg 1045
 agggatgtgg gggggctagg aaccaagcgc ccctttgttc tttagcttat ggatggtctt 1105
 aactttataa agattaaagt ttttggtgtt attctttc 1143

- <210> 12
- <211> 205
- 5 <212> PRT
- <213> roedor
- <400> 12

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

- 10 <210> 13
- <211> 504
- <212> ADN
- 15 <213> primate
- <220>
- <221> CDS
- <222> (19)..(501)

<220>
 <221> mat_peptide
 <222> (67)..(501)

5

<400> 13

```

tgagtgca gtgccagc atg tac cag gtg gtt gca ttc ttg gca atg gtc 51
                Met Tyr Gln Val Val Ala Phe Leu Ala Met Val
                -15                               -10

atg gga acc cac acc tac agc cac tgg ccc agc tgc tgc ccc agc aaa 99
Met Gly Thr His Thr Tyr Ser His Trp Pro Ser Cys Cys Pro Ser Lys
-5              -1  1              5              10

ggg cag gac acc tct gag gag ctg ctg agg tgg agc act gtg cct gtg 147
Gly Gln Asp Thr Ser Glu Glu Leu Leu Arg Trp Ser Thr Val Pro Val
              15              20              25

cct ccc cta gag cct gct agg ccc aac cgc cac cca gag tcc tgt agg 195
Pro Pro Leu Glu Pro Ala Arg Pro Asn Arg His Pro Glu Ser Cys Arg
              30              35              40

gcc agt gaa gat gga ccc ctc aac agc agg gcc atc tcc ccc tgg aga 243
Ala Ser Glu Asp Gly Pro Leu Asn Ser Arg Ala Ile Ser Pro Trp Arg
              45              50              55

tat gag ttg gac aga gac ttg aac cgg ctc ccc cag gac ctg tac cac 291
Tyr Glu Leu Asp Arg Asp Leu Asn Arg Leu Pro Gln Asp Leu Tyr His
              60              65              70              75

gcc cgt tgc ctg tgc ccg cac tgc gtc agc cta cag aca ggc tcc cac 339
Ala Arg Cys Leu Cys Pro His Cys Val Ser Leu Gln Thr Gly Ser His
              80              85              90

atg gac ccc cgg ggc aac tcg gag ctg ctc tac cac aac cag act gtc 387
Met Asp Pro Arg Gly Asn Ser Glu Leu Leu Tyr His Asn Gln Thr Val
              95              100              105

ttc tac cgg cgg cca tgc cat ggc gag aag ggc acc cac aag ggc tac 435
Phe Tyr Arg Arg Pro Cys His Gly Glu Lys Gly Thr His Lys Gly Tyr
              110              115              120

tgc ctg gag cgc agg ctg tac cgt gtt tcc tta gct tgt gtg tgt gtg 483
Cys Leu Glu Arg Arg Leu Tyr Arg Val Ser Leu Ala Cys Val Cys Val
              125              130              135

cgg ccc cgt gtg atg ggc tag 504
Arg Pro Arg Val Met Gly
140              145
    
```

10 <210> 14
 <211> 161
 <212> PRT
 <213> primate

15 <400> 14

ES 2 374 429 T3

Met Tyr Gln Val Val Ala Phe Leu Ala Met Val Met Gly Thr His Thr
 -15 -10 -5 -1

Tyr Ser His Trp Pro Ser Cys Cys Pro Ser Lys Gly Gln Asp Thr Ser
 1 5 10 15

Glu Glu Leu Leu Arg Trp Ser Thr Val Pro Val Pro Pro Leu Glu Pro
 20 25 30

Ala Arg Pro Asn Arg His Pro Glu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asp Gly
 35 40 45

Pro Leu Asn Ser Arg Ala Ile Ser Pro Trp Arg Tyr Glu Leu Asp Arg
 50 55 60

Asp Leu Asn Arg Leu Pro Gln Asp Leu Tyr His Ala Arg Cys Leu Cys
 65 70 75 80

Pro His Cys Val Ser Leu Gln Thr Gly Ser His Met Asp Pro Arg Gly
 85 90 95

Asn Ser Glu Leu Leu Tyr His Asn Gln Thr Val Phe Tyr Arg Arg Pro
 100 105 110

Cys His Gly Glu Lys Gly Thr His Lys Gly Tyr Cys Leu Glu Arg Arg
 115 120 125

Leu Tyr Arg Val Ser Leu Ala Cys Val Cys Val Arg Pro Arg Val Met
 130 135 140

Gly
 145

- <210> 15
- <211> 620
- 5 <212> ADN
- <213> roedor
- <220>
- <221> CDS
- 10 <222> (1)..(432)
- <400> 15

ES 2 374 429 T3

CGG CAC AGG CGG CAC AAA GCC CGG AGA GTG GCT GAA GTG GAG CTC TGC	48
Arg His Arg Arg His Lys Ala Arg Arg Val Ala Glu Val Glu Leu Cys	
1 5 10 15	
ATC TGT ATC CCC CCC AGA GCC TCT GAG CCA CAC CCA CCA CGC AGA ATC	96
Ile Cys Ile Pro Pro Arg Ala Ser Glu Pro His Pro Pro Arg Arg Ile	
20 25 30	
CTG CAG GGC CAG CAA GGA TGG CCT CTC AAC AGC AGG GCC ATC TCT CCT	144
Leu Gln Gly Gln Gln Gly Trp Pro Leu Asn Ser Arg Ala Ile Ser Pro	
35 40 45	
TGG AGC TAT GAG TTG GAC AGG GAC TTG AAT CGG GTC CCC CAG GAC TGG	192
Trp Ser Tyr Glu Leu Asp Arg Asp Leu Asn Arg Val Pro Gln Asp Trp	
50 55 60	
TAC CAC GCT CGA TGC CTG TGC CCA CAC TGC GTC ACG CTA CAG ACA GGC	240
Tyr His Ala Arg Cys Leu Cys Pro His Cys Val Thr Leu Gln Thr Gly	
65 70 75 80	
TCC CAC ATG GAC CCG CTG GGC AAC TCC GTC CCA CTT TAC CAC AAC CAG	288
Ser His Met Asp Pro Leu Gly Asn Ser Val Pro Leu Tyr His Asn Gln	
85 90 95	
ACG GTC TTC TAC CGG CGG CCA TGC ATG GCG AGG AAG GTA CCC ATC GCC	336
Thr Val Phe Tyr Arg Arg Pro Cys Met Ala Arg Lys Val Pro Ile Ala	
100 105 110	
GCT ACT GCT TGG AGC GCA GGT CTA CCG AGT CTC CTT GGC TTG TGT GTG	384
Ala Thr Ala Trp Ser Ala Gly Leu Pro Ser Leu Leu Gly Leu Cys Val	
115 120 125	
TGT GCG GCC CCG GGT CAT GGC TTA GTC ATG CTC ACC ATC TGC CTG AGG	432
Cys Ala Ala Pro Gly His Gly Leu Val Met Leu Thr Ile Cys Leu Arg	
130 135 140	
TGAATGCCGG GTGGGAGAGA GGGCCAGGTG TACATCACCT GCCAATGCCG GCCGGGTTCA	492
AGCCTGCAAA GCCTACCTGA AGCAGCAGGT CCCGGGACAG GATGGAGACT TGGGGAGAAA	552
TCTGACTTTT GCACTTTTTG GAGCATTG GGAAGAGCAG GTTCGCTTGT GCTGTAGAGA	612
TGCTGTTG	620

<210> 16

<211> 144

5 <212> PRT
<213> roedor

<400> 16

ES 2 374 429 T3

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

5 <210> 17
 <211> 985
 <212> ADN
 <213> roedor

10 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(507)

15 <220>
 <221> mat_peptide
 <222> (49)..(507)
 <400> 17

```

atg tac cag gct gtt gca ttc ttg gca atg atc gtg gga acc cac acc 48
Met Tyr Gln Ala Val Ala Phe Leu Ala Met Ile Val Gly Thr His Thr
-15 -10 -5 -1

gtc agc ttg cgg atc cag gag ggc tgc agt cac ttg ccc agc tgc tgc 96
Val Ser Leu Arg Ile Gln Glu Gly Cys Ser His Leu Pro Ser Cys Cys
1 5 10 15

ccc agc aaa gag caa gaa ccc ccg gag gag tgg ctg aag tgg agc tct 144
Pro Ser Lys Glu Gln Glu Pro Pro Glu Glu Trp Leu Lys Trp Ser Ser
20 25 30

gca tct gtg tcc ccc cca gag cct ctg agc cac acc cac cac gca gaa 192
Ala Ser Val Ser Pro Pro Glu Pro Leu Ser His Thr His His Ala Glu
35 40 45

tcc tgc agg gcc agc aag gat ggc ccc ctc aac agc agg gcc atc tct 240
Ser Cys Arg Ala Ser Lys Asp Gly Pro Leu Asn Ser Arg Ala Ile Ser
50 55 60

cct tgg agc tat gag ttg gac agg gac ttg aat cgg gtc ccc cag gac 288
Pro Trp Ser Tyr Glu Leu Asp Arg Asp Leu Asn Arg Val Pro Gln Asp
65 70 75 80

ctg tac cac gct cga tgc ctg tgc cca cac tgc gtc agc cta cag aca 336
Leu Tyr His Ala Arg Cys Leu Cys Pro His Cys Val Ser Leu Gln Thr
85 90 95

ggc tcc cac atg gac ccg ctg ggc aac tcc gtc cca ctt tac cac aac 384
Gly Ser His Met Asp Pro Leu Gly Asn Ser Val Pro Leu Tyr His Asn
100 105 110

cag acg gtc ttc tac cgg cgg cca tgc cat ggt gag gaa ggt acc cat 432
Gln Thr Val Phe Tyr Arg Arg Pro Cys His Gly Glu Glu Gly Thr His
115 120 125

cgc cgc tac tgc ttg gag cgc agg ctc tac cga gtc tcc ttg gct tgt 480
Arg Arg Tyr Cys Leu Glu Arg Arg Leu Tyr Arg Val Ser Leu Ala Cys
130 135 140

gtg tgt gtg cgg ccc cgg gtc atg gct tagtcatgct caccacctgc 527
Val Cys Val Arg Pro Arg Val Met Ala
145 150

ctgaggctga tgcccgggtg ggagagaggg ccagggtgtac aatcaccttg ccaatgcggg 587

ccgggttcaa gccctccaaa gccctacctg aagcagcagg ctcccgggac aagatggagg 647

acttggggag aaactctgac ttttgcaact tttggaagca cttttgggaa ggagcaggtt 707

ccgcttgctgc tgctagagga tgctgttggtg gcatttctac tcaggaacgg actccaaagg 767

cctgctgacc ctggaagcca tactcctggc tcctttcccc tgaatcccc aactcctggc 827

acaggcaactt tctccacctc tccccctttg ccttttggtg tgtttggttg tgcatgccaa 887

ctctgcgtgc agccaggtgt aattgccttg aaggatggtt ctgaggtgaa agctgtttatc 947

gaaagtgaag agatttatcc aaataaacat ctgtgttt 985

```

ES 2 374 429 T3

<211> 169
 <212> PRT
 <213> roedor

5 <400> 18

```

Met Tyr Gln Ala Val Ala Phe Leu Ala Met Ile Val Gly Thr His Thr
-15 -10 -5 -1

Val Ser Leu Arg Ile Gln Glu Gly Cys Ser His Leu Pro Ser Cys Cys
1 5 10 15

Pro Ser Lys Glu Gln Glu Pro Pro Glu Glu Trp Leu Lys Trp Ser Ser
20 25 30

Ala Ser Val Ser Pro Pro Glu Pro Leu Ser His Thr His His Ala Glu
35 40 45

Ser Cys Arg Ala Ser Lys Asp Gly Pro Leu Asn Ser Arg Ala Ile Ser
50 55 60

Pro Trp Ser Tyr Glu Leu Asp Arg Asp Leu Asn Arg Val Pro Gln Asp
65 70 75 80

Leu Tyr His Ala Arg Cys Leu Cys Pro His Cys Val Ser Leu Gln Thr
85 90 95

Gly Ser His Met Asp Pro Leu Gly Asn Ser Val Pro Leu Tyr His Asn
100 105 110

Gln Thr Val Phe Tyr Arg Arg Pro Cys His Gly Glu Glu Gly Thr His
115 120 125

Arg Arg Tyr Cys Leu Glu Arg Arg Leu Tyr Arg Val Ser Leu Ala Cys
130 135 140

Val Cys Val Arg Pro Arg Val Met Ala
145 150
    
```

<210> 19
 <211> 521
 <212> ADN
 <213> primate

10

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(521)
 <223> nota= "n puede ser a, c, g o t"

15

<400> 19

20

```

gacacggatg aggaccgcta tccacagaag ctggccttcg ccgagtgcct gtgcagagggc 60
tgtatcgatg cacggacggg ccgcgagaca gctgcgctca actccgtgcg gctgctccag 120
agcctgctgg tgetgcgccg ccggccctgc tcccgcgacg gctcggggct cccacacct 180
ggggcctttg ccttccacac cgagttcadc cacgtccccg tgggctgcac ctgcgtgctg 240
ccccgttcaa gtgtgaccgc caaggccgtg gggcccttag ntgacaccgt gtgctcccca 300
gagggacccc tatttatggg aattatggta ttatagctt cccacatact tggggctggc 360
atcccngct gagacagccc cctgttctat tcagctatat ggggagaaga gtgactttc 420
agctaagtga aaagtgnaac gtgctgactg tctgctgctg tinctactnat gctagcccga 480
gtgttcactc tgagcctggtt aaatataggc ggttatgtac c 521
    
```

<210> 20
 <211> 521

<212> ADN
<213> primate

5 <220>
<221> CDS
<222> (1).. (369)

10 <220>
<221> misc_feature
<222> (281)
<223> nota= "los nucleótidos 281, 367, 437, 462 y 468 son c; cada uno puede ser, como alternativa a, g, o t; el aminoácido traducido depende del código genético"

15 <400> 20

```

gac acg gat gag gac cgc tat cca cag aag ctg gcc ttc gcc gag tgc 48
Asp Thr Asp Glu Asp Arg Tyr Pro Gln Lys Leu Ala Phe Ala Glu Cys
 1          5          10          15

ctg tgc aga ggc tgt atc gat gca cgg acg ggc cgc gag aca gct gcg 96
Leu Cys Arg Gly Cys Ile Asp Ala Arg Thr Gly Arg Glu Thr Ala Ala
          20          25          30

ctc aac tcc gtg cgg ctg ctc cag agc ctg ctg gtg ctg cgc cgc cgg 144
Leu Asn Ser Val Arg Leu Leu Gln Ser Leu Leu Val Leu Arg Arg Arg
          35          40          45

ccc tgc tcc cgc gac ggc tcg ggg ctc ccc aca cct ggg gcc ttt gcc 192
Pro Cys Ser Arg Asp Gly Ser Gly Leu Pro Thr Pro Gly Ala Phe Ala
          50          55          60

ttc cac acc gag ttc atc cac gtc ccc gtc ggc tgc acc tgc gtg ctg 240
Phe His Thr Glu Phe Ile His Val Pro Val Gly Cys Thr Cys Val Leu
 65          70          75          80

ccc cgt tca agt gtg acc gcc aag gcc gtg ggg ccc tta gct gac acc 288
Pro Arg Ser Ser Val Thr Ala Lys Ala Val Gly Pro Leu Ala Asp Thr
          85          90          95

gtg tgc tcc cca gag gga ccc cta ttt atg gga att atg gta tta tat 336
Val Cys Ser Pro Glu Gly Pro Leu Phe Met Gly Ile Met Val Leu Tyr
          100          105          110

gct tcc cac ata ctt ggg gct ggc atc ccg cgc tgagacagcc cctgttcta 389
Ala Ser His Ile Leu Gly Ala Gly Ile Pro Arg
          115          120

ttcagctata tggggagaag agtagacttt cagctaagtg aaaagtgcaa cgtgctgact 449

gtctgctgtc gtctactca tgctagcccg agtgttcact ctgagcctgt taaatatagg 509

cggttatgta cc 521

```

20 <210> 21
<211> 123
<212> PRT
<213> primate

<400> 21

```

Asp Thr Asp Glu Asp Arg Tyr Pro Gln Lys Leu Ala Phe Ala Glu Cys
 1           5           10           15
Leu Cys Arg Gly Cys Ile Asp Ala Arg Thr Gly Arg Glu Thr Ala Ala
          20           25           30
Leu Asn Ser Val Arg Leu Leu Gln Ser Leu Leu Val Leu Arg Arg Arg
          35           40           45
Pro Cys Ser Arg Asp Gly Ser Gly Leu Pro Thr Pro Gly Ala Phe Ala
 50           55           60
Phe His Thr Glu Phe Ile His Val Pro Val Gly Cys Thr Cys Val Leu
 65           70           75           80
Pro Arg Ser Ser Val Thr Ala Lys Ala Val Gly Pro Leu Ala Asp Thr
          85           90           95
Val Cys Ser Pro Glu Gly Pro Leu Phe Met Gly Ile Met Val Leu Tyr
          100          105          110
Ala Ser His Ile Leu Gly Ala Gly Ile Pro Arg
          115          120
    
```

- 5 <210> 22
- <211> 1107
- <212> ADN
- <213> primate

- 10 <220>
- <221> CDS
- <222> (115)..(705)

- <220>
- 15 <221> mat_peptide
- <222> (166)..(705)

- <400> 22

```

gtgtggcctc aggtataaga gcggtgctg ccaggtgcat ggccaggtgc acctgtggga 60
ttgccgccag gtgtgcaggc cgctccaagc ccagcctgcc ccgctgccgc cacc atg 117
                                     Met
acg ctc ctc ccc ggc ctc ctg ttt ctg acc tgg ctg cac aca tgc ctg 165
Thr Leu Leu Pro Gly Leu Leu Phe Leu Thr Trp Leu His Thr Cys Leu
  -15           -10           -5           -1
    
```

20

gcc cac cat gac ccc tcc ctc agg ggg cac ccc cac agt cac ggt acc 213
 Ala His His Asp Pro Ser Leu Arg Gly His Pro His Ser His Gly Thr
 1 5 10 15

cca cac tgc tac tcg gct gag gaa ctg ccc ctc ggc cag gcc ccc cca 261
 Pro His Cys Tyr Ser Ala Glu Glu Leu Pro Leu Gly Gln Ala Pro Pro
 20 25 30

cac ctg ctg gct cga ggt gcc aag tgg ggg cag gct ttg cct gta gcc 309
 His Leu Leu Ala Arg Gly Ala Lys Trp Gly Gln Ala Leu Pro Val Ala
 35 40 45

ctg gtg tcc agc ctg gag gca gca agc cac agg ggg agg cac gag agg 357
 Leu Val Ser Ser Leu Glu Ala Ala Ser His Arg Gly Arg His Glu Arg
 50 55 60

ccc tca gct acg acc cag tgc ccg gtg ctg cgg ccg gag gag gtg ttg 405
 Pro Ser Ala Thr Thr Gln Cys Pro Val Leu Arg Pro Glu Glu Val Leu
 65 70 75 80

gag gca gac acc cac cag cgc tcc atc tca ccc tgg aga tac cgt gtg 453
 Glu Ala Asp Thr His Gln Arg Ser Ile Ser Pro Trp Arg Tyr Arg Val
 85 90 95

gac acg gat gag gac cgc tat cca cag aag ctg gcc ttc gcc gag tgc 501
 Asp Thr Asp Glu Asp Arg Tyr Pro Gln Lys Leu Ala Phe Ala Glu Cys
 100 105 110

ctg tgc aga ggc tgt atc gat gca cgg acg ggc cgc gag aca gct gcg 549
 Leu Cys Arg Gly Cys Ile Asp Ala Arg Thr Gly Arg Glu Thr Ala Ala
 115 120 125

ctc aac tcc gtg cgg ctg ctc cag agc ctg ctg gtg ctg cgc cgc cgg 597
 Leu Asn Ser Val Arg Leu Leu Gln Ser Leu Leu Val Leu Arg Arg Arg
 130 135 140

ccc tgc tcc cgc gac ggc tcg ggg ctc ccc aca cct ggg gcc ttt gcc 645
 Pro Cys Ser Arg Asp Gly Ser Gly Leu Pro Thr Pro Gly Ala Phe Ala
 145 150 155 160

ttc cac acc gag ttc atc cac gtc ccc gtc ggc tgc acc tgc gtg ctg 693
 Phe His Thr Glu Phe Ile His Val Pro Val Gly Cys Thr Cys Val Leu
 165 170 175

ccc cgt tca gtg tgaccgccga ggccgtgggg ccctagact ggacacgtgt 745
 Pro Arg Ser Val
 180

gctccccaga gggcaccccc tatttatgtg tatttattgg tatttatatg cctcccccaa 805

cactaccett ggggtctggg cattccccgt gtctggagga cagcccccca ctgttctcct 865

catctccagc ctccagtagt ggggtagaa ggagctcagc acctcttcca gcccttaaag 925

ctgcagaaaa ggtgtcacac ggctgctgt acctggctc cctgtcctgc tcccggcttc 985

ccttacccta tcactggcct caggcccccg caggetgcct cttcccaacc tcttggaag 1045

taccctgtt tcttaaaca ttatttaagt gtacgtgtat tattaaactg atgaacacat 1105

cc

1107

- <210> 23
- <211> 197
- 5 <212> PRT
- <213> primate
- <400> 23

```

Met Thr Leu Leu Pro Gly Leu Leu Phe Leu Thr Trp Leu His Thr Cys
      -15                      -10                      -5

Leu Ala His His Asp Pro Ser Leu Arg Gly His Pro His Ser His Gly
-1  1                      5                      10                      15

Thr Pro His Cys Tyr Ser Ala Glu Glu Leu Pro Leu Gly Gln Ala Pro
      20                      25                      30

Pro His Leu Leu Ala Arg Gly Ala Lys Trp Gly Gln Ala Leu Pro Val
      35                      40                      45

Ala Leu Val Ser Ser Leu Glu Ala Ala Ser His Arg Gly Arg His Glu
      50                      55                      60

Arg Pro Ser Ala Thr Thr Gln Cys Pro Val Leu Arg Pro Glu Glu Val
      65                      70                      75

Leu Glu Ala Asp Thr His Gln Arg Ser Ile Ser Pro Trp Arg Tyr Arg
80                      85                      90                      95

Val Asp Thr Asp Glu Asp Arg Tyr Pro Gln Lys Leu Ala Phe Ala Glu
      100                     105                     110

Cys Leu Cys Arg Gly Cys Ile Asp Ala Arg Thr Gly Arg Glu Thr Ala
      115                     120                     125

Ala Leu Asn Ser Val Arg Leu Leu Gln Ser Leu Leu Val Leu Arg Arg
      130                     135                     140

Arg Pro Cys Ser Arg Asp Gly Ser Gly Leu Pro Thr Pro Gly Ala Phe
      145                     150                     155

Ala Phe His Thr Glu Phe Ile His Val Pro Val Gly Cys Thr Cys Val
160                     165                     170                     175

Leu Pro Arg Ser Val
      180
    
```

10

- <210> 24
- <211> 403
- <212> ADN
- 15 <213> primate

- <220>
- <221> misc_feature
- <222> (1)..(403)
- 20 <223> nota "n puede ser a, c, g o t"

<400> 24

ES 2 374 429 T3

gagaaagagc ttcctgcaca aagtaagcca ccagcgcaac atgacagtga agaccctgca 60

tggcccagcc atggtcaagt acttgctgct gtcgatattg gggcttgcc tcttgagtga 120
ggcggcagct cggaaaatcc ccaaagtagg acatactttt ttccaaaagc ctgagagttg 180
cccgctgtg ccaggaggta gtatgaagct tgacattggc atcatcaatg aaaaccagcg 240
cgtttccatg tcacgtaaca tcgagagccg ctccacctcc ccctggaatt acactgtcac 300
ttgggacccc aaccggtacc cctcgaagtt gtacaggccc aagtgtagga acttgggctg 360
tatcaatgct caaggaaagg aagacatctn catgaattcc gtc 403

<210> 25

<211> 403

5 <212> ADN

<213> primate

<220>

<221> CDS

10 <222> (71)..(403)

<220>

<221> mat_peptide

<222> (131)..(403)

15

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(403)

<223> nota= "n puede ser a, c, g, o t; el aminoácido traducido depende del código genético"

20

<400> 25

ES 2 374 429 T3

```

gagaaagagc ttcctgcaca aagtaagcca ccagcgcaac atgacagtga agaccctgca 60
tggcccagcc atg gtc aag tac ttg ctg ctg tcg ata ttg ggg ctt gcc 109
      Met Val Lys Tyr Leu Leu Leu Ser Ile Leu Gly Leu Ala
      -20                -15                -10
ttt ctg agt gag gcg gca gct cgg aaa atc ccc aaa gta gga cat act 157
Phe Leu Ser Glu Ala Ala Ala Arg Lys Ile Pro Lys Val Gly His Thr
      -5                -1 1                5
ttt ttc caa aag cct gag agt tgc ccg cct gtg cca gga ggt agt atg 205
Phe Phe Gln Lys Pro Glu Ser Cys Pro Pro Val Pro Gly Gly Ser Met
      10                15                20                25
aag ctt gac att ggc atc atc aat gaa aac cag cgc gtt tcc atg tca 253
Lys Leu Asp Ile Gly Ile Ile Asn Glu Asn Gln Arg Val Ser Met Ser
      30                35                40
cgt aac atc gag agc cgc tcc acc tcc ccc tgg aat tac act gtc act 301
Arg Asn Ile Glu Ser Arg Ser Thr Ser Pro Trp Asn Tyr Thr Val Thr
      45                50                55
tgg gac ccc aac cgg tac ccc tcg aag ttg tac agg ccc aag tgt agg 349
Trp Asp Pro Asn Arg Tyr Pro Ser Lys Leu Tyr Arg Pro Lys Cys Arg
      60                65                70
aac ttg ggc tgt atc aat gct caa gga aag gaa gac atc tnc atg aat 397
Asn Leu Gly Cys Ile Asn Ala Gln Gly Lys Glu Asp Ile Xaa Met Asn
      75                80                85
tcc gtc
Ser Val 403
90

```

- <210> 26
- <211> 111
- <212> PRT
- <213> primate
- <400> 26

5

```

Met Val Lys Tyr Leu Leu Leu Ser Ile Leu Gly Leu Ala Phe Leu Ser
-20                -15                -10                -5

Glu Ala Ala Ala Arg Lys Ile Pro Lys Val Gly His Thr Phe Phe Gln
      -1  1                5                10

Lys Pro Glu Ser Cys Pro Pro Val Pro Gly Gly Ser Met Lys Leu Asp
      15                20                25

Ile Gly Ile Ile Asn Glu Asn Gln Arg Val Ser Met Ser Arg Asn Ile
      30                35                40

Glu Ser Arg Ser Thr Ser Pro Trp Asn Tyr Thr Val Thr Trp Asp Pro
      45                50                55                60

Asn Arg Tyr Pro Ser Lys Leu Tyr Arg Pro Lys Cys Arg Asn Leu Gly
      65                70                75

Cys Ile Asn Ala Gln Gly Lys Glu Asp Ile Xaa Met Asn Ser Val
      80                85                90
    
```

<210> 27
 <211> 784
 5 <212> ADN
 <213> primate

<220>
 <221> CDS
 10 <222> (3).. (281)

<400> 27

```

tc gtg ccg tat ctt ttt aaa aaa att att ctt cac ttt ttt gcc tcc 47
  Val Pro Tyr Leu Phe Lys Lys Ile Ile Leu His Phe Phe Ala Ser
    1                5                10                15

tat tac ttg tta ggg aga ccc aat ggt agt ttt att cct tgg gga tac 95
  Tyr Tyr Leu Leu Gly Arg Pro Asn Gly Ser Phe Ile Pro Trp Gly Tyr
    20                25                30

ata gta aat act tca tta aag tcg agt aca gaa ttt gat gaa aag tgt 143
  Ile Val Asn Thr Ser Leu Lys Ser Ser Thr Glu Phe Asp Glu Lys Cys
    35                40                45

gga tgt gtg gga tgt act gcc gcc ttc aga agt cca cac act gcc tgg 191
  Gly Cys Val Gly Cys Thr Ala Ala Phe Arg Ser Pro His Thr Ala Trp
    50                55                60

agg gag aga act gct gtt tat tca ctg att aag cat ttg ctg tgt acc 239
  Arg Glu Arg Thr Ala Val Tyr Ser Leu Ile Lys His Leu Leu Cys Thr
    65                70                75

aac tac ttt tca tgt ctt atc tta att ctc ata aca gtc att 281
    
```

Asn Tyr Phe Ser Cys Leu Ile Leu Ile Leu Ile Thr Val Ile
 80 85 90

tgatatttta aaaaaccca gaaatctgag aaagagataa agtggtttgc tcaaggttat 341
 agaacagact accatgtgtt gtatttcaga ttttaattca tgtttgctg attttaagtt 401
 ttgttcgctt gccagggtac cccacaaaaa tgccaggcag ggcattttca tgatgcactt 461
 gagatacctg aatgacagg gtagcatcac acctgagagg ggtaaaggat gggaacctac 521
 cttccatggc cgctgcttg cagtctcttg ctgcatgcta gcagagccac tgtatatgtg 581
 ccgaggctct gagaattaac tgcttaaaga actgccttct ggaggagaa gagcacaaga 641
 tcacaattaa ccatatacac atcttactgt gcgaggatcat tgagcaatac aggagggatt 701
 ttatacattt tagcaactat cttcaaaacc tgagctatag ttgtattctg ccccttct 761
 ctgggcaaaa gtgtaaaagt ttg 784

5 <210> 28
 <211> 93
 <212> PRT
 <213> primate
 <400> 28

Val Pro Tyr Leu Phe Lys Lys Ile Ile Leu His Phe Phe Ala Ser Tyr
 1 5 10 15

Tyr Leu Leu Gly Arg Pro Asn Gly Ser Phe Ile Pro Trp Gly Tyr Ile
 20 25 30

Val Asn Thr Ser Leu Lys Ser Ser Thr Glu Phe Asp Glu Lys Cys Gly
 35 40 45

Cys Val Gly Cys Thr Ala Ala Phe Arg Ser Pro His Thr Ala Trp Arg
 50 55 60

Glu Arg Thr Ala Val Tyr Ser Leu Ile Lys His Leu Leu Cys Thr Asn
 65 70 75 80

Tyr Phe Ser Cys Leu Ile Leu Ile Leu Ile Thr Val Ile
 85 90

10 <210> 29
 <211> 460
 <212> ADN
 15 <213> primate
 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(189)
 20 <400> 29

ES 2 374 429 T3

gtg act gta ttg tgg gga cag gaa gca caa att ccc atg tgg atc act 48
 Val Thr Val Leu Trp Gly Gln Glu Ala Gln Ile Pro Met Trp Ile Thr
 1 5 10 15

agg aga gat aat aag tgg ggt cat ttc acc cct tgg tcc cct gct tcc 96
 Arg Arg Asp Asn Lys Trp Gly His Phe Thr Pro Trp Ser Pro Ala Ser
 20 25 30

aga ccc aaa gag gcc tac atg gca ttg tgc ttc ctt ctt agt tgt agg 144
 Arg Pro Lys Glu Ala Tyr Met Ala Leu Cys Phe Leu Leu Ser Cys Arg
 35 40 45

agg tgt gag ata caa tca ttt gcc tct gac ttt gag ggt tgg tcc 189
 Arg Cys Glu Ile Gln Ser Phe Ala Ser Asp Phe Glu Gly Trp Ser
 50 55 60

tagcatgccc ctgaccagta gcccttaaa tacttcattg atatggaagg tctctgaatc 249

ttcgtgggct taatctacca ctctctgaag ttcttatgtc tttcaaaggc ctctaaaatc 309

tctgccatgt cttgctcatc cagttgtag catgatgtca ttgatacagt ggactttgga 369

atctaagtgg ggagacactg gtaagtgacc aattacttca cctgtggtgt gcaagccaga 429

tcaggaagcc tctacctgca cgacaacaca t 460

<210> 30
 <211> 63
 5 <212> PRT
 <213> primate

<400> 30

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

Arg Arg Asp Asn Lys Trp Gly His Phe Thr Pro Trp Ser Pro Ala Ser
 20 25 30

Arg Pro Lys Glu Ala Tyr Met Ala Leu Cys Phe Leu Leu Ser Cys Arg
 35 40 45

Arg Cys Glu Ile Gln Ser Phe Ala Ser Asp Phe Glu Gly Trp Ser
 50 55 60

10
 <210> 31
 <211> 150
 <212> PRT
 15 <213> roedor

<400> 31

ES 2 374 429 T3

Met Cys Leu Met Leu Leu Leu Leu Leu Asn Leu Glu Ala Thr Val Lys
 1 5 10 15

Ala Ala Val Leu Ile Pro Gln Ser Ser Val Cys Pro Asn Ala Glu Ala
 20 25 30

Asn Asn Phe Leu Gln Asn Val Lys Val Asn Leu Lys Val Ile Asn Ser
 35 40 45

Leu Ser Ser Lys Ala Ser Ser Arg Arg Pro Ser Asp Tyr Leu Asn Arg
 50 55 60

Ser Thr Ser Pro Trp Thr Leu Ser Arg Asn Glu Asp Pro Asp Arg Tyr

65 70 75 80

Pro Ser Val Ile Trp Glu Ala Gln Cys Arg His Gln Arg Cys Val Asn
 85 90 95

Ala Glu Gly Lys Leu Asp His His Met Asn Ser Val Leu Ile Gln Gln
 100 105 110

Glu Ile Leu Val Leu Lys Arg Glu Pro Glu Lys Cys Pro Phe Thr Phe
 115 120 125

Arg Val Glu Lys Met Leu Val Gly Val Gly Cys Thr Cys Val Ser Ser
 130 135 140

Ile Val Arg His Ala Ser
 145 150

<210> 32
 <211> 147
 5 <212> PRT
 <213> roedor
 <400> 32

ES 2 374 429 T3

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

- <210> 33
- <211> 155
- 5 <212> PRT
- <213> primate
- <400> 33

ES 2 374 429 T3

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

<210> 34
 <211> 151
 5 <212> PRT
 <213> viral
 <400> 34

ES 2 374 429 T3

Met Thr Phe Arg Lys Thr Ser Leu Val Leu Leu Leu Leu Leu Ser Ile
 1 5 10 15

Asp Cys Ile Val Lys Ser Glu Ile Thr Ser Ala Gln Thr Pro Arg Cys
 20 25 30

Leu Ala Ala Asn Asn Ser Phe Pro Arg Ser Val Met Val Thr Leu Ser
 35 40 45

Ile Arg Asn Trp Asn Thr Ser Ser Lys Arg Ala Ser Asp Tyr Tyr Asn
 50 55 60

Arg Ser Thr Ser Pro Trp Thr Leu His Arg Asn Glu Asp Gln Asp Arg
 65 70 75 80

Tyr Pro Ser Val Ile Trp Glu Ala Lys Cys Arg Tyr Leu Gly Cys Val
 85 90 95

Asn Ala Asp Gly Asn Val Asp Tyr His Met Asn Ser Val Pro Ile Gln
 100 105 110

Gln Glu Ile Leu Val Val Arg Lys Gly His Gln Pro Cys Pro Asn Ser
 115 120 125

Phe Arg Leu Glu Lys Met Leu Val Thr Val Gly Cys Thr Cys Val Thr
 130 135 140

Pro Ile Val His Asn Val Asp
 145 150

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo que se une al polipéptido maduro comprendido en la SEC ID N° 14.
- 5 2. El anticuerpo monoclonal de la reivindicación 1, en el que el anticuerpo se produce contra el polipéptido maduro comprendido en la SEC ID N° 14.
3. Un kit que comprende el anticuerpo monoclonal de la reivindicación 1 o 2, y un polipéptido de la SEC ID N° 14 madura..
4. Una composición de diagnóstico que comprende el anticuerpo monoclonal de la reivindicación 1 o 2.
5. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo monoclonal de la reivindicación 1 o 2.
- 10 6. Un procedimientos de producción de un complejo antígeno-anticuerpo, que comprenden poner en contacto un polipéptido que comprende la secuencia de SEC ID N° 14 con el anticuerpo monoclonal de la reivindicación 1 o 2, en condiciones que permiten la formación de dicho complejo.