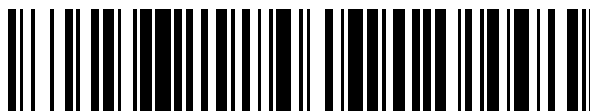


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 481 641**

51 Int. Cl.:

A61K 45/00	(2006.01) A61P 37/06	(2006.01)
A61K 31/7088	(2006.01) A61P 37/08	(2006.01)
A61K 38/00	(2006.01)	
A61K 39/395	(2006.01)	
A61K 48/00	(2006.01)	
A61P 29/00	(2006.01)	
A61P 31/04	(2006.01)	
A61P 35/00	(2006.01)	
A61P 37/02	(2006.01)	
A61P 37/04	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.10.2005** **E 05795461 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.04.2014** **EP 1806147**

54 Título: **Uso de receptor inmunosupresor**

30 Prioridad:

21.10.2004 JP 2004307331

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

31.07.2014

73 Titular/es:

**ONO PHARMACEUTICAL CO., LTD. (100.0%)
1-5, DOSHOMACHI 2-CHOME CHUO-KU
OSAKA-SHI, OSAKA 541-8526, JP**

72 Inventor/es:

**ODANI, TOMOYUKI;
TADA, HIDEAKI y
YAMADA, KIMIHO**

74 Agente/Representante:

MILTENYI, Peter

ES 2 481 641 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

Uso de receptor inmunosupresor

Campo técnico

- 5 La presente invención se refiere al uso de un anticuerpo que reconoce el receptor inmunosupresor relacionado con la presente divulgación.

Antecedentes de la invención

Se sabe que las moléculas que funcionan como receptores inmunosupresores incluyen CTLA-4 (N. Engl. J. Med., 338(25): 1813-21 (1998)), PD-1 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 98(24): 13866-71 (2001)), FcγRIIB (Science, 290 (5489): 84-9 (2000)) y similares.

- 10 Se notifican una secuencia de aminoácidos de la proteína relacionada con la presente invención (denominada algunas veces receptor 1 de inmunoglobulina de células B (BIR1) a continuación en el presente documento) y una secuencia de nucleótidos de ADN que codifica para la misma en el documento WO 99/33873. Sin embargo, no sólo las funciones de la proteína relacionada con la presente invención no están suficientemente dilucidadas, sino que no se conocen en absoluto usos de antagonistas y agonistas de la misma.

- 15 El documento WO 00/50443 da a conocer el polipéptido TANG0228, que corresponde al polipéptido de la presente divulgación que tiene la SEQ ID NO: 1.

[Referencia no de patente 1] N. Engl. J. Med., 338(25): 1813-21 (1998).

[Referencia no de patente 2] Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 98(24): 13866-71 (2001).

[Referencia no de patente 3] Science, 290(5489): 84-9 (2000).

- 20 [Referencia de patente 1] Documento WO 99/33873.

Divulgación de la invención

Problemas que la invención va a solucionar

Los problemas de la presente invención son dilucidar las funciones del receptor relacionado con la presente divulgación y encontrar usos de antagonistas o agonistas.

- 25 Medios para solucionar los problemas

- Con el fin de solucionar los problemas, los inventores de la presente solicitud han realizado estudios intensivos y, como resultado, dilucidaron por primera vez que el receptor relacionado con la presente divulgación funciona como receptor inmunosupresor, y han encontrado usos respectivos de antagonistas y agonistas. Los inventores de la presente solicitud también encontraron un método seleccionar los antagonistas y agonistas. La presente invención se define mediante las reivindicaciones.

- 30

Efecto de la invención

- Se espera que el antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación tenga el efecto de prevenir y/o tratar un cáncer, una enfermedad de inmunodeficiencia o una enfermedad infecciosa. También se espera que el agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación tenga el efecto de prevenir y/o tratar una enfermedad autoinmunitaria, una reacción de rechazo tras trasplante de órgano, una enfermedad alérgica o una enfermedad inflamatoria.

- 35

Mejor modo de llevar a cabo la invención

- Según la descripción de la presente divulgación, la "proteína que tiene una secuencia de aminoácidos sustancialmente idéntica" en la "proteína que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a o sustancialmente idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 1 a 6" significa una proteína que tiene la misma función de la proteína que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 1 a 6, en la que varios aminoácidos (preferiblemente desde 1 hasta 5 residuos, más preferiblemente 1 ó 2 residuos) de los aminoácidos seleccionados de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 1 a 6 se seleccionan, varios aminoácidos (preferiblemente desde 1 hasta 5 residuos, más preferiblemente 1 ó 2 residuos) en la misma se sustituyen por otros aminoácidos, o varios residuos de aminoácidos (preferiblemente desde 1 hasta 5 residuos, más preferiblemente 1 ó 2 residuos) se añaden a o se insertan en la secuencia de aminoácidos, o que tiene una secuencia de aminoácidos de la combinación con las mismas. En este caso, la posición de la delección, sustitución o adición o inserción de aminoácidos mencionada anteriormente no está particularmente limitada. A continuación en el

- 40

- 45

presente documento, la "proteína que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a o sustancialmente idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 1 a 6" tal como se usa en la memoria descriptiva de la presente divulgación puede denominarse "la proteína relacionada con la presente divulgación" en algunos casos.

- 5 En este sentido, la proteína relacionada con la presente divulgación es preferiblemente una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a o sustancialmente idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 1 a 4 y SEQ ID NO: 6.

10 Según la memoria descriptiva de la presente divulgación, el "antagonista de una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a o sustancialmente idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 1 a 6" representa una sustancia que atenúa o inhibe la supresión de la transducción de señales intracelulares por la proteína relacionada con la presente divulgación. Una sustancia de este tipo incluye

- (i) una sustancia que inhibe la unión del ligando a la proteína relacionada con la presente divulgación y no tiene actividad agonista para la proteína relacionada con la presente divulgación;
- 15 (ii) una sustancia que inhibe la unión de una fosfatasa a la región intracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación;
- (iii) una sustancia que inhibe la actividad de la fosfatasa; y
- (iv) una sustancia que inhibe la actividad de una fosfatasa unida a la región intracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación; y similares.

20 En este caso, la "señal intracelular" incluye señales intracelulares generadas a partir de un receptor de células B (BCR) o complejos receptores de células B (BCR, CD79A (EMBO J., 7(11): 3457-3464 (1988)) y CD79B (Eur. J. Immunol., 22(6): 1621-1625 (1992))), receptores de Fc activados (por ejemplo, FcγRI (J. Biol. Chem., 266(20): 13449-13455 (1991))), complejo CD14/TLR4 (Nature, 406: 780-785 (2000)), FcεRI (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 1907-1911 (1988)) y similares. Adicionalmente, la "supresión de la transducción de señales intracelulares por la proteína relacionada con la presente divulgación" incluye, por ejemplo, desfosforilación de una molécula que porta transducción de señales intracelulares por una fosfatasa unida a la región intracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación.

30 En este caso, la "sustancia que inhibe la unión del ligando a la proteína relacionada con la presente divulgación y no tiene actividad agonista para la proteína relacionada con la presente divulgación" incluye, por ejemplo, una proteína, un polipéptido o péptido, un anticuerpo, un compuesto no peptídico, un compuesto de síntesis orgánica o un producto natural (por ejemplo, un producto de fermentación, un extracto celular, un extracto de plantas, un extracto de tejido animal o similares) y similares.

35 Se prefiere como sustancia de este tipo una proteína, un polipéptido o un anticuerpo, y sus ejemplos ilustrativos incluyen una proteína o un polipéptido que comprende una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación y un anticuerpo para la misma y similares.

40 La "proteína o polipéptido que comprende una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación" es una proteína o un polipéptido que contiene una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación, que no contiene región transmembrana ni región intracelular. Específicamente, es una proteína o un polipéptido que contiene una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 1 a 227 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1, una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 1 a 227 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 2, una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 1 a 132 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3, una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 1 a 137 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 4, una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 1 a 42 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 5 o una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 1 a 132 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 6, y que no contiene región transmembrana ni región intracelular. La "región transmembrana" es una región de aminoácidos 228 a 250 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1, una región de aminoácidos 228 a 250 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 2, una región de aminoácidos 133 a 155 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3, una región de aminoácidos 138 a 160 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 4, una región de aminoácidos 43 a 65 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 5 o una región de aminoácidos 133 a 155 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 6, y la "región intracelular" es una región de aminoácidos 251 a 343 de la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1, una región de aminoácidos 251 a 343 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 2, una región de aminoácidos 156 a 248 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3, una región de aminoácidos 161 a 253 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 4, una región de aminoácidos 66 a 158 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 5 o una región de aminoácidos 156 a 176 en la secuencia de aminoácidos

representada por SEQ ID NO: 6.

Los que se fusionan con la otra proteína o polipéptido también se incluyen en la proteína o el polipéptido que contiene una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación. Los ejemplos incluyen los que se fusionan con el dominio Fc de inmunoglobulina para la solubilización de la proteína o el polipéptido y similares, y pueden producirse mediante métodos conocidos convencionalmente.

La "región opcional" en la "proteína o polipéptido que contiene una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación" puede ser cualquier región en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente invención, siempre que tenga la actividad antagonista para la proteína relacionada con la presente divulgación.

Estas proteínas o polipéptidos también incluyen, por ejemplo, aquellos en los que varios aminoácidos (preferiblemente desde 1 hasta 5 residuos, más preferiblemente 1 ó 2 residuos) en la proteína o el polipéptido se delecionan, varios aminoácidos (preferiblemente desde 1 hasta 5 residuos, más preferiblemente 1 ó 2 residuos) en los mismos se sustituyen por otros aminoácidos o varios aminoácidos (preferiblemente desde 1 hasta 5 residuos, más preferiblemente 1 ó 2 residuos) se añaden a o se insertan en la secuencia de aminoácidos, o que tienen una secuencia de aminoácidos de la combinación de los mismos, para el fin de mantener o mejorar la actividad antagonista, estabilizar la proteína o el polipéptido o reducir la antigenicidad.

La proteína o el polipéptido que contiene una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación puede prepararse mediante métodos de expresión de proteínas y métodos de purificación conocidos convencionalmente o mediante los métodos descritos en los ejemplos.

El "ligando" en la "unión a ligando de la proteína relacionada con la presente divulgación" es una sustancia intravital que se une a la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación y tiene la actividad de inducir funciones de la proteína relacionada con la presente divulgación. Se prefiere una proteína como ligando de este tipo. La "región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación" es una región que comprende un dominio denominado dominio de inmunoglobulina o de tipo inmunoglobulina, y es una región de aminoácidos 1 a 227 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1, una región de aminoácidos 1 a 227 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 2, una región de aminoácidos 1 a 132 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3, una región de aminoácidos 1 a 137 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 4, una región de aminoácidos 1 a 42 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 5 o una región de aminoácidos 1 a 132 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 6.

El término "no tiene actividad agonista para la proteína relacionada con la presente divulgación" significa que no tiene ninguna actividad que estimule funciones de la proteína relacionada con la presente divulgación.

La "región intracelular de la proteína relacionada con la presente invención" es específicamente una región de aminoácidos 251 a 343 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1, una región de aminoácidos 251 a 343 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 2, una región de aminoácidos 156 a 248 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3, una región de aminoácidos 161 a 253 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 4, una región de aminoácidos 66 a 158 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 5 o una región de aminoácidos 156 a 176 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 6. Está presente el denominado dominio de tipo ITIM (motivo inhibidor basado en tirosina de inmunorreceptor, *immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif*) en la región intracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación, que, específicamente, está presente en los aminoácidos 311 a 316 y/o 336 a 341 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1, aminoácidos 311 a 316 y/o 336 a 341 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 2, aminoácidos 216 a 221 y/o 241 a 246 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3, aminoácidos 221 a 226 y/o 246 a 251 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 4, aminoácidos 126 a 131 y/o 151 a 156 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 5 o aminoácidos 169 a 174 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 6.

La "fosfatasa" en la "sustancia que inhibe la unión de una fosfatasa a la región intracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación", la "sustancia que inhibe la actividad fosfatasa" o la "sustancia que inhibe la actividad de una fosfatasa unida a la región intracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación" incluye, por ejemplo, fosfatasas denominadas SHP-1 (Nature, 352(6337): 736-739 (1991)), SHP-2 (Proc. Natl. Acad. Sci., 90: 2197-2201 (1993)), SHIP-1 (Proc. Natl. Acad. Sci., 93: 1689-1693 (1996)), SHIP-2 (Biochem. Biophys. Res. Commun., 239(3): 697-700 (1997)) y similares.

La "unión de una fosfatasa a la región intracelular" en la "sustancia que inhibe la unión de una fosfatasa a la región intracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación" es la unión de una fosfatasa al dominio de tipo ITIM, y la unión requiere fosforilación de determinados residuos de tirosina contenidos en el dominio de tipo ITIM. Tales residuos de tirosina son los residuos de tirosina en la posición 313 y la posición 338 de aminoácido en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1, los residuos de tirosina en la posición 313 y la posición

338 de aminoácido en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 2, los residuos de tirosina en la posición 218 y la posición 243 de aminoácido en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3, los residuos de tirosina en la posición 223 y la posición 248 de aminoácido en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 4, los residuos de tirosina en la posición 128 y la posición 153 de aminoácido en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 5 o el residuo en la posición 171 de aminoácido en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 6.

La diana que va a desfosforilarse por la fosfatasa en la "sustancia que inhibe la actividad fosfatasa" o la "sustancia que inhibe la actividad de una fosfatasa unida a la región intracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación" incluye, por ejemplo, moléculas transductoras de señales intracelulares tales como una cinasa, un inositol fosfato y similares. La cinasa incluye, por ejemplo, una serina/treonina cinasa (por ejemplo, proteína cinasa A, proteína cinasa C, proteína cinasa dependiente de Ca^{2+} /calmodulina, MAP cinasa, Mos/Raf cinasa o similares), una tirosina cinasa (por ejemplo, tirosina cinasa receptora, tirosina cinasa no receptora o similares) y similares. El inositol fosfato incluye, por ejemplo, fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato y similares.

La cinasa diana de la fosfatasa incluye, por ejemplo, ERK 2 (Biochem. Biophys. Res. Commun., 182: 1416-1422 (1992)), BTK (Nature, 361 (6409), 226-233 (1993)) y SYK (J. Biol. Chem., 266: 15790-15796 (1991)), JAK 1 (Molec. Cell. Biol., 2057-2065 (1991)), LAK 2 (Biochem. Biophys. Res. Commun., 246: 627-633 (1998)), JAK 3 (Proc. Natl. Acad. Sci., 91: 6374 - 6378 (1994)), ZAP 70 (Cell, 71: 649-662 (1992)), BLNK (Immunity, 9: 93-103 (1998)), FYN (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83(15): 5459-5463 (1986)), LCK (Biochim. Biophys. Acta, 888(3): 286-295 (1986)) y similares, de las cuales ERK 2 es más preferible.

El "anticuerpo para una proteína o un polipéptido que comprende una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación" puede ser cualquier anticuerpo tal como un anticuerpo humano, un anticuerpo de ratón, un anticuerpo de rata, un anticuerpo de ave doméstica, un anticuerpo de conejo o un anticuerpo de cabra, siempre que inhiba la unión de un ligando a la proteína relacionada con la presente divulgación y no tenga actividad agonista para la proteína relacionada con la presente divulgación. También puede ser uno cualquiera de sus anticuerpos monoclonales o policlonales, anticuerpos de tipo completo o de tipo acortado (por ejemplo, fragmento F(ab')₂, Fab', Fab y Fv y similares), anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados o anticuerpos humanos completos. Tales anticuerpos pueden producirse mediante métodos de producción de antisueros o anticuerpos conocidos convencionalmente o según los métodos descritos en los ejemplos, en los que se usa una proteína o un polipéptido que comprende una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación como antígeno. La proteína o el polipéptido que comprende una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación puede producirse mediante métodos de expresión y purificación de proteínas conocidos convencionalmente o según los métodos descritos en los ejemplos.

La sustancia mencionada anteriormente que atenúa o inhibe la supresión de la transducción de señales intracelulares por la proteína relacionada con la presente divulgación es útil como agente para prevenir y/o tratar un cáncer, una enfermedad de inmunodeficiencia o una enfermedad infecciosa.

Según la memoria descriptiva de la presente divulgación, el "agonista de una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a o sustancialmente idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 1 a 6" significa una sustancia que mantiene o refuerza la supresión de la transducción de señales intracelulares por la proteína relacionada con la presente divulgación. Tal sustancia incluye

- (i) una sustancia que reticula la proteína relacionada con la presente divulgación con un receptor expresado en una célula que expresa la proteína;
- (ii) un anticuerpo agonista para la proteína relacionada con la presente divulgación; y
- (iii) un ligando para la proteína relacionada con la presente divulgación y similares.

En este sentido, la "señal intracelular" incluye, por ejemplo, señales intracelulares generadas a partir de un receptor de células B o un complejo receptor de células B, un receptor de Fc activado, un complejo CD14/TLR4, un FcεRI y similares. Adicionalmente, el "mantenimiento o refuerzo de la supresión de la transducción de señales intracelulares por la proteína relacionada con la presente divulgación" incluye, por ejemplo, el mantenimiento o aumento de la frecuencia del estado desfosforilado de una molécula que porta transducción de señales intracelulares por una fosfatasa unida a la región intracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación y similares.

En este sentido, el "receptor" en la "sustancia que reticula la proteína relacionada con la presente divulgación con un receptor expresado en una célula que expresa la proteína" incluye, por ejemplo, un receptor de células B o un complejo receptor de células B, un receptor de Fc activado, un complejo CD14/TLR4, un FcεRI y similares.

La "sustancia que reticula la proteína relacionada con la presente divulgación con un receptor expresado en una célula que expresa la proteína" como sustancia que mantiene o refuerza la supresión de la transducción de señales intracelulares por la proteína relacionada con la presente divulgación incluye, por ejemplo, una proteína, un polipéptido, un anticuerpo y similares. La sustancia es preferiblemente un anticuerpo que reconoce tanto la proteína

relacionada con la presente divulgación como un receptor expresado en una célula que expresa la proteína.

El "anticuerpo agonista para la proteína relacionada con la presente divulgación" como sustancia que mantiene o refuerza la supresión de la transducción de señales intracelulares por la proteína relacionada con la presente divulgación puede ser cualquier anticuerpo tal como un anticuerpo humano, un anticuerpo de ratón, un anticuerpo de rata, un anticuerpo de ave doméstica, un anticuerpo de conejo o un anticuerpo de cabra, siempre que sea un anticuerpo que activa la proteína relacionada con la presente divulgación, y también puede ser uno cualquiera de anticuerpos monoclonales o policlonales, anticuerpos de tipo completo o de tipo acortado (por ejemplo, fragmento F(ab')₂, Fab', Fab y Fv y similares), anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados o anticuerpos humanos completos. Tales anticuerpos pueden producirse mediante métodos de producción de antisueros o anticuerpos conocidos convencionalmente, o según los métodos descritos en los ejemplos en los que se usa una proteína o un polipéptido que comprende una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación como antígeno. La proteína o el polipéptido que comprende una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación puede producirse mediante métodos de expresión y purificación de proteínas conocidos convencionalmente.

El "ligando para la proteína relacionada con la presente divulgación" como sustancia que mantiene o refuerza la supresión de la transducción de señales intracelulares por la proteína relacionada con la presente divulgación es una sustancia intravital que se une a la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación y tiene la actividad de inducir funciones de la proteína relacionada con la presente divulgación, y un polipéptido que tiene su péptido parcial también se incluye en el mismo cuando una sustancia de este tipo es una proteína.

Tal como se describió anteriormente, la sustancia que mantiene o refuerza la supresión de la transducción de señales intracelulares por la proteína relacionada con la presente divulgación es útil como agente para prevenir y/o tratar una enfermedad autoinmunitaria, una reacción de rechazo tras trasplante de órgano, una enfermedad alérgica o una enfermedad inflamatoria.

Método de selección de la divulgación

Según la memoria descriptiva de la presente divulgación, el método para seleccionar un antagonista o agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación (denominado algunas veces método de selección de la presente divulgación a continuación en el presente documento) puede llevarse a cabo, por ejemplo, usando un ensayo homogéneo de polarización de fluorescencia, un ensayo de fluorescencia de resolución temporal, un ensayo de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia, un ensayo homogéneo de proximidad de luminiscencia de tipo con amplificación química, un ensayo de RI, un ensayo de transferencia de energía por resonancia de bioluminiscencia, un ensayo de gen indicador de dos híbridos, un ensayo de medición de la concentración de Ca²⁺ intracelular, un ensayo ELISA o similares.

La "proteína o polipéptido que comprende la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación" en el método para seleccionar un antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación es un polipéptido que comprende una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 1 a 227 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1, una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 1 a 227 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 2, una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 1 a 132 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3, una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 1 a 137 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 4, una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 1 a 42 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 5 o una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 1 a 132 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 6. En este sentido, la "región que está seleccionándose opcionalmente" significa una región que es necesaria para mantener la actividad de la proteína relacionada con la presente divulgación para que se una a un ligando.

La "proteína o polipéptido que comprende la región intracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación" es una proteína o un polipéptido que comprende la región del dominio de tipo ITIM mencionado anteriormente. En este sentido, el residuo de tirosina contenido en el dominio de tipo ITIM puede estar fosforilado.

Pueden usarse estos polipéptidos, a los que se les añade un marcador de detección tal como una enzima, un material fluorescente, una proteína fluorescente, un material luminiscente o un radioisótopo o similares. Estos marcadores de detección pueden añadirse antes o después de la unión de una proteína o un polipéptido que comprende la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación a un ligando, por medio de una sustancia o anticuerpo que puede reconocerlos. Específicamente, la adición puede llevarse a cabo marcando una proteína o un polipéptido que comprende la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación o un ligando con biotina, y añadiendo el marcador de detección mencionado anteriormente marcado con avidina al otro. Esto es igual también en el caso de la unión de una proteína o un polipéptido que comprende la región intracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación con una fosfatasa.

La enzima como marcador de detección incluye, por ejemplo, β-galactosidasa, β-glucosidasa, fosfatasa alcalina, peroxidasa, malato deshidrogenasa y similares. El material fluorescente como marcador de detección incluye, por

ejemplo, FITC (isotiocianato de fluoresceína), PI (yoduro de propidio), Cy-Chrome, APC (aloficocianina), R-PE (R-ficoeritrina), un quelato de lantánido fluorescente (por ejemplo, europio, samario, terbio, disprosio o similares) y similares. La proteína fluorescente como marcador de detección incluye, por ejemplo, GFP (proteína fluorescente verde), AmCian, ZsGreen, ZsYellow, AsRed, RCFP (proteína fluorescente de arrecifes de coral), DsRed, AcGFP1, HcRed1, CopGFP, PhiYFP-m, EYFP, KFPRed y similares. El radioisótopo como marcador de detección incluye, por ejemplo, [^{32}P], [^3H], [^{125}I], [^{35}S] y [^{14}C]. El material luminiscente como marcador de detección incluye, por ejemplo, luminol, derivados de luminol, luciferina, lucigenina y similares.

En la descripción de la presente divulgación, el "ligando" en la "etapa de permitir que una proteína o un polipéptido que comprende su región extracelular entre en contacto con un ligando" del método de selección de la presente divulgación es una sustancia intravital que se une a la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación y tiene la actividad de inducir funciones de la proteína relacionada con la presente divulgación. Se prefiere una proteína como ligando de este tipo.

Los ejemplos de la "señal que cambia por la unión de la proteína o el polipéptido que comprende su región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación con un ligando" o la "señal que cambia por la unión de la proteína o el polipéptido que comprende su región intracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación con una fosfatasa" incluye una fluorescencia generada por la proteína fluorescente o material fluorescente mencionado anteriormente, una radiación del radioisótopo y similares como marcadores de detección. Adicionalmente, también puede mostrarse a modo de ejemplo el desarrollo de un color mediante la reacción de la enzima mencionada anteriormente como marcador de detección con un sustrato de desarrollo de color. Como enzima mencionada anteriormente, pueden usarse productos disponibles comercialmente de material fluorescente, proteína fluorescente, material luminiscente, radioisótopo y sustrato de desarrollo de color.

Aunque la "célula que expresa una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a o sustancialmente idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 1 a 6" puede ser cualquier célula que expresa la proteína relacionada con la presente divulgación, es preferiblemente una célula transformada de manera transitoria o de manera fija por un vector de expresión que puede expresar la proteína relacionada con la presente divulgación. Como vector de expresión de este tipo, puede usarse un producto que se pone generalmente en el mercado. Adicionalmente, la célula que va a transformarse incluye, por ejemplo, célula COS-1 de simio, célula COS-7, célula CHO de hámster chino, célula HEK 293T humana, célula U937, célula Jurkat, célula HELA, célula Daudi, célula K562, célula L de ratón y similares.

Aunque la "célula que expresa un ligando" puede ser cualquier célula que expresa el ligando, es preferiblemente una célula transformada de manera transitoria o de manera fija por un vector de expresión que puede expresar el ligando. Como vector de expresión de este tipo, puede usarse un producto que se pone generalmente en el mercado, y puede usarse la célula mencionada anteriormente como célula que va a transformarse.

La "señal que cambia cuando se permite que una célula que expresa una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a o sustancialmente idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 1 a 6 entre en contacto con una célula que expresa un ligando o el ligando" incluye, por ejemplo, señales (por ejemplo, desarrollo de color, fluorescencia, luminiscencia, radiación y similares) que se corresponden con la concentración de AMPc intracelular de tal célula, la concentración de Ca^{2+} intracelular, la concentración de IP3, la fosforilación o desfosforilación de una molécula transductora de señales intracelulares (por ejemplo, Erk 2 o similares), la unión de una fosfatasa a la proteína relacionada con la presente invención, la cantidad de una citocina producida (por ejemplo, interleucina 2 (IL-2) o similares) y similares.

Como método de selección de la presente divulgación, puede llevarse a cabo ilustrativamente mediante el siguiente método. Concretamente, se inmoviliza simultáneamente un anticuerpo para un receptor activado (por ejemplo, BCR) que se coexpresa con la proteína relacionada con la presente divulgación, un anticuerpo para la proteína relacionada con la presente divulgación o un ligando de la proteína relacionada con la presente divulgación sobre un portador tal como perlas de agarosa o una placa de cultivo. Cuando se añade una célula que expresa la proteína relacionada con la presente divulgación (una célula que sobreexpresa BIR1, una cepa de células B que coexpresa BCR y BIR1, una célula B, un monocito, una célula mononuclear periférica o similares) a la placa o el portador inmovilizado mencionado anteriormente para llevar a cabo la estimulación, se añade al mismo tiempo un compuesto que va a someterse a prueba (un compuesto de bajo peso molecular, un péptido, una proteína solubilizada, un anticuerpo o similares). Tras el cultivo durante un periodo de tiempo predeterminado, puede seleccionarse un antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación, en el que la cantidad de interleucina 2 (IL-2) secretada al sobrenadante de cultivo, la concentración de Ca^{2+} intracelular, la fosforilación de un residuo de tirosina intracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación, la unión de una fosfatasa a la proteína relacionada con la presente divulgación y la fosforilación de una Erk 2 o molécula transductora de señales intracelulares similar se usan como índice.

Adicionalmente, se biotinila un péptido fosforilado que comprende una región del dominio de tipo ITIM de la proteína relacionada con la presente divulgación y se permite que se una a un portador tal como perlas de agarosa o una placa de cultivo a las que se inmovilizó un anticuerpo anti-biotina, y se añaden a las mismas un compuesto que va a someterse a prueba (por ejemplo, un compuesto de bajo peso molecular, un péptido, una proteína solubilizada, un

anticuerpo o similares) y un lisado de células A20IIA1.6, seguido por incubación durante un periodo de tiempo predeterminado. Tras la reacción con un anticuerpo primario para SHP-1, SHP-2, SHIP-1 o SHIP-2, se mide la cantidad de la fosfatasa unida al péptido fosforilado usando un anticuerpo secundario. Puede seleccionarse un compuesto que reduce la cantidad de la fosfatasa unida como antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación.

Un método para seleccionar un compuesto que disminuye o aumenta el nivel de expresión de la proteína relacionada con la presente divulgación puede llevarse a cabo, por ejemplo, mediante el siguiente método. Es decir, se inoculan células (por ejemplo, células que sobreexpresan BIR1, células THP-1 de la cepa de células de monocitos humanos, células U 937, células positivas para CD 14 (monocitos) aisladas de sangre periférica humana, células positivas para CD 19 (células B) o similares) sobre una placa de cultivo y se cultivan durante un periodo de tiempo predeterminado junto con un compuesto que va a someterse a prueba (por ejemplo, un compuesto de bajo peso molecular, un péptido, una proteína solubilizada, un anticuerpo o similares), en presencia o ausencia de un estimulador de la inflamación (por ejemplo, lipopolisacárido (LPS), acetato miristato de forbol (PMA), interferón gamma (IFN- γ), TNF- α o similares). Se extrae ARN de las células, y se mide el nivel de expresión del ARN mediante RT-PCR cuantitativa usando cebadores específicos para la proteína relacionada con la presente divulgación. Alternativamente, se añade un anticuerpo monoclonal anti-BIR1 humano a las células cultivadas, luego se añade al mismo un anticuerpo secundario marcado con FITC para determinar el BIR1 expresado sobre la superficie celular mediante un citómetro de flujo. Además, se prepara un lisado celular tras el cultivo, y se mide el nivel de expresión de la proteína mediante inmunotransferencia de tipo Western usando un anticuerpo para la proteína relacionada con la presente divulgación.

Adicionalmente, esto también puede llevarse a cabo mediante el siguiente método. Específicamente, una región reguladora de la expresión (por ejemplo, promotor, potenciador, caja CAAT, caja TATA o similares), un ADN que comprende una región de no traducción en 5' y una región alrededor de la región de iniciación de la traducción y un gen indicador (por ejemplo, gen de luciferasa, gen de cloranfenicol acetiltransferasa (CAT), gen de β -galactosidasa o similares) se conectan entre sí, y el vector recombinante así preparado se transfiere a células apropiadas. Las células se cultivan en presencia o ausencia de un compuesto que va a someterse a prueba, en un entorno tal que la transcripción del gen de BIR1 puede verse afectada para confirmar la actividad de aceleración de la transcripción o la actividad de regulación de la transcripción del compuesto que va a someterse a prueba midiendo el nivel de expresión de dicho gen indicador. La región reguladora de la expresión del gen de BIR1, la región de no traducción en 5' y una región alrededor de la región de iniciación de la traducción pueden obtenerse mediante métodos conocidos convencionalmente.

Proteína de la divulgación

Según la memoria descriptiva de la presente divulgación, la "proteína que tiene una secuencia de aminoácidos sustancialmente idéntica" en la "proteína que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a o sustancialmente idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 3 a 6, o un péptido parcial de la misma" también incluye una proteína que tiene la misma función de la proteína que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 3 a 6, en la que varios aminoácidos (preferiblemente desde 1 hasta 5 residuos, más preferiblemente 1 ó 2 residuos) en una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 3 a 6 se deleccionan, varios aminoácidos (preferiblemente desde 1 hasta 5 residuos, más preferiblemente 1 ó 2 residuos) en la misma se sustituyen por otros aminoácidos, o varios aminoácidos (preferiblemente desde 1 hasta 5 residuos, más preferiblemente 1 ó 2 residuos) se añaden a o se insertan en la secuencia de aminoácidos, o que tiene una secuencia de aminoácidos de la combinación de las mismas. En este caso, la posición de la deleción, sustitución o adición o inserción de aminoácidos mencionada anteriormente no está particularmente limitada. A continuación en el presente documento, la "proteína que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a o sustancialmente idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 3 a 6" puede denominarse en algunos casos "la proteína de la presente divulgación".

Adicionalmente, la proteína de la presente divulgación incluye una secuencia de aminoácidos que tiene una homología de aproximadamente el 70% o más, preferiblemente de aproximadamente el 80% o más, más preferiblemente de aproximadamente el 90% o más, de manera particularmente preferible de aproximadamente el 95% o más y lo más preferiblemente de aproximadamente el 98% o más con la secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 3 a 6, a lo largo de al menos 20 residuos o más, preferiblemente 50 residuos o más, más preferiblemente 100 residuos o más y de manera adicional preferiblemente la región completa.

Según la proteína en la memoria descriptiva de la presente divulgación, el extremo terminal izquierdo es el extremo N-terminal (amino terminal) y el extremo terminal derecho en el extremo C-terminal (carboxilo terminal) según el marcaje de péptidos convencional.

El extremo C-terminal de la proteína de la presente divulgación puede ser uno cualquiera de un grupo carboxilo, carboxilato, amido y éster (-COOR). En este caso, como R en el éster, por ejemplo, se usa un grupo alquilo C1-6 (por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo o similares), un grupo cicloalquilo C3-8 (por ejemplo, ciclopentilo, ciclohexilo o similares), un grupo arilo C6-12 (por ejemplo, fenilo, α -naftilo o similares), un grupo

fenilalquilo C1-2 (por ejemplo, bencilo, fenetilo o similares), un grupo α -naftilalquilo C1-2 (por ejemplo, α -naftilmetilo o similares), un grupo aralquilo C7-14, grupo pivaloiloximetilo y similares.

Cuando la proteína de la presente divulgación tiene un grupo carboxilo en un extremo distinto del C-terminal, también se incluyen aquellos en los que el grupo carboxilo está amidado o esterificado en la proteína de la presente divulgación. Éster en este caso incluye el éster en el extremo C-terminal y similares tal como se mencionó anteriormente.

Adicionalmente, la proteína de la presente divulgación también incluye la proteína en la que el grupo amino de un residuo de aminoácido del extremo N-terminal (por ejemplo, residuo de metionina o similares) está protegido con un grupo protector (por ejemplo, un grupo acilo C1-6 (por ejemplo, grupo formilo, grupo acetilo o similares) o similares), en la que un residuo de glutamina del extremo N-terminal formado por digestión en el organismo vivo se convierte en ácido piroglutámico, en la que un grupo sustituyente (por ejemplo, -OH, -SH, grupo amino, grupo imidazol, grupo indol, grupo guanidino o similares) en el lado de la cadena de un aminoácido en la molécula está protegido con un grupo protector adecuado (por ejemplo, un grupo acilo C1-6 (por ejemplo, grupo formilo, grupo acetilo o similares) o similares), una proteína conjugada tal como una glicoproteína unida a una cadena de azúcar y similares.

La proteína de la presente divulgación es preferiblemente una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3, una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 4, una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 5 o una proteína que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 6, y más preferiblemente una proteína que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3, una proteína que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 4, una proteína que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 5 o una proteína que consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 6.

Según la memoria descriptiva de la presente divulgación, el "péptido parcial" (denominado algunas veces péptido parcial de la presente divulgación a continuación en el presente documento) en la "proteína que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a o sustancialmente idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 3 a 6, o un péptido parcial de la misma" incluye, por ejemplo, una región opcional en la región extracelular de la proteína de la presente divulgación (por ejemplo, un polipéptido que comprende una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 1 a 132 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3, una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 1 a 137 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 4, una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 1 a 42 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 5 o una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 1 a 132 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 6), y una región opcional en la región intracelular de la proteína de la presente divulgación (por ejemplo, una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 156 a 248 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3, una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 161 a 253 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 4, una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 66 a 158 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 4 y una región seleccionada opcionalmente de la región de aminoácidos 156 a 176 en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 6) y similares. En este sentido, la "región seleccionada opcionalmente" incluye, por ejemplo, una región que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos 10 o más, preferiblemente 20 o más, más preferiblemente 50 o más, lo más preferiblemente 100 o más residuos de la secuencia de aminoácidos de la presente divulgación y similares.

Adicionalmente, el péptido parcial de la presente divulgación también incluye aquellos en los que varios aminoácidos (preferiblemente desde 1 hasta 5 residuos, más preferiblemente 1 ó 2 residuos) en la secuencia de aminoácidos se deleccionan, aquellos en los que varios aminoácidos (preferiblemente desde 1 hasta 5 residuos, más preferiblemente 1 ó 2 residuos) en el mismo se sustituyen por otros aminoácidos, o varios aminoácidos (preferiblemente desde 1 hasta 5 residuos, más preferiblemente 1 ó 2 residuos) se añaden a o se insertan en la secuencia de aminoácidos, o aquellos que tienen una secuencia de aminoácidos en combinación con los mismos. Cuando el aminoácido se delecciona, se sustituye, se añade o se inserta en la secuencia de aminoácidos como en el acaso mencionado anteriormente, la posición no está particularmente limitada.

El extremo C-terminal del péptido parcial de la presente divulgación puede ser uno cualquiera de un grupo carboxilo, carboxilato, amido y éster (-COOR). En este sentido, R del éster incluye grupos similares descritos a continuación en la proteína de la presente divulgación. Cuando el péptido parcial de la presente divulgación tiene un grupo carboxilo en uno distinto del extremo C-terminal, el péptido parcial de la presente divulgación también incluye aquellos en los que el grupo carboxilo está amidado o esterificado. El éster en ese caso incluye, por ejemplo, el éster C-terminal mencionado anteriormente y similares.

De manera similar al caso de la proteína de la presente divulgación mencionada anteriormente, el péptido parcial de la presente divulgación también incluye el péptido tal como aquellos en los que el grupo amino del residuo de metionina del extremo N-terminal está protegido con un grupo protector, aquellos en los que la Gln formada por la digestión del lado N-terminal en el organismo vivo se convierte en ácido piroglutámico, aquellos en los que un grupo

sustituyente en la cadena lateral de un aminoácido en la molécula está protegido con un grupo protector adecuado, o una proteína compleja tal como una glicoproteína unida a cadena de azúcar.

La sal de la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma incluye una sal fisiológicamente aceptable con un ácido o una base. La sal de adición de ácido incluye, por ejemplo, una sal con un ácido inorgánico (por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido fosfórico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico o similares) y una sal con un ácido orgánico (por ejemplo, ácido acético, ácido fórmico, ácido propiónico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido málico, ácido oxálico, ácido benzoico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico o similares) y similares. La sal de adición de base incluye, por ejemplo, una sal con hidróxido de amonio, un hidróxido de metal alcalino o alcalinotérreo (por ejemplo, hidróxido de litio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de calcio, hidróxido de magnesio o hidróxido de manganeso). Se prefiere especialmente la sal de ácido fisiológicamente aceptable.

El péptido parcial de la proteína de la presente divulgación es útil como agente para prevenir y/o tratar, o diagnosticar y/o someter a prueba un cáncer, una enfermedad de inmunodeficiencia o una enfermedad infecciosa, como sustancia que inhibe la unión de un ligando a la proteína relacionada con la presente divulgación. Además, puede usarse en la selección de un antagonista o agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación. Adicionalmente, usando la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma como antígeno, también puede usarse para la preparación de un anticuerpo para la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma.

Polinucleótido de la divulgación

Según la descripción de la presente divulgación, el "polinucleótido que codifica para una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a o sustancialmente idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 3 a 6, o un péptido parcial de la misma" puede ser cualquier polinucleótido siempre que tenga una secuencia de nucleótidos que codifique para la proteína de la presente invención o un péptido parcial de la misma. Se sabe que de 1 a 6 codones codifican para un aminoácido, por ejemplo, TTT o TTC corresponde a Phe; TTA, TTG, CTT, CTC, CTA o CTG corresponde a Leu; ATT, ATC o ATA corresponde a Ile; ATG corresponde a Met; GTT, GTC, GTA o GTG corresponde a Val; TCT, TCC, TCA o TCG corresponde a Ser; CCT, CCC, CCA o CCG corresponde a Pro; ACT, ACC, ACA o ACG corresponde a Thr; GCT, GCC, GCA o GCG corresponde a Ala; TAT o TAC corresponde a Tyr; CAT o CAC corresponde a His; CAA o CAG corresponde a Gln; AAT o AAC corresponde a Asn; AAA o AAG corresponde a Lys; GAT o GAC corresponde a Asp, GAA o GAG corresponde a Glu; TGT o TGC corresponde a Cys; TGG corresponde a Trp; CGT, CGC, CGA o CGG corresponde a Arg; AGT o AGC corresponde a Ser; AGA o AGG corresponde a Arg; y GGT, GGC, GGA o GGG corresponde a Gly. Por tanto, el polinucleótido que codifica para la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma incluye polinucleótidos en los que se combinan opcionalmente codones respectivos que corresponden a aminoácidos respectivos. A continuación en el presente documento, el polinucleótido que codifica para una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a o sustancialmente idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 3 a 6, o un péptido parcial de la misma, se denomina algunas veces "polinucleótido de la presente divulgación".

El polinucleótido de la presente divulgación puede ser uno cualquiera de un ADN genómico, un ADNc, un ADN sintético, un ARN y un híbrido de ADN-ARN.

Según la memoria descriptiva de la presente divulgación, además del ADN que tiene una secuencia de nucleótidos seleccionada de las secuencias de nucleótidos representadas por SEQ ID NO: 9 a 12, el polinucleótido de la presente invención incluye un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos que se hibrida con un ADN de cadena complementaria del ADN en condiciones rigurosas y que codifica para una proteína que tiene sustancialmente las mismas propiedades de la proteína de la presente divulgación. La hibridación puede llevarse a cabo según los métodos conocidos convencionalmente (Molecular Cloning (Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T., Cold Spring Harbor Laboratory Press) (1989), Gene, 10: 63 (1980) y similares). Las condiciones de hibridación pueden determinarse seleccionando la temperatura, fuerza iónica, longitud del cebador y similares apropiadamente. En general, la rigurosidad aumenta cuando la temperatura es alta y la fuerza iónica es baja. Las condiciones altamente rigurosas incluyen, por ejemplo, hibridación a 65°C en un tampón que contiene NaHPO₄ 0,5 M, SDS al 7% y EDTA 1 mM y tratamiento de lavado a 65°C en un tampón que contiene 0,1 x SSC y SDS al 0,1%.

Un polinucleótido de este tipo incluye, por ejemplo, un ADN que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene una homología del 90% o más, preferiblemente del 95% o más, más preferiblemente del 98% o más, con un ADN que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada de las secuencias de nucleótidos representadas por SEQ ID NO: 9 a 12, a lo largo de al menos 20 bases, preferiblemente 50 bases, más preferiblemente 100 bases, más preferiblemente la región completa, y similares.

Entre los polinucleótidos de la presente divulgación, un polinucleótido que codifica para una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a o sustancialmente idéntica a las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 3, o un péptido parcial de la misma, es preferiblemente un ADN que comprende la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 9 o que comprende su secuencia parcial, más preferiblemente un ADN

que comprende la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 9, de manera adicional preferiblemente un ADN que consiste en la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 9.

Entre los polinucleótidos de la presente divulgación, un polinucleótido que codifica para una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a o sustancialmente idéntica a las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 4, o un péptido parcial de la misma, es preferiblemente un ADN que comprende la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 10 o que comprende su secuencia parcial, más preferiblemente un ADN que comprende la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 10, de manera adicional preferiblemente un ADN que consiste en la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 10.

Entre los polinucleótidos de la presente divulgación, un polinucleótido preferido que codifica para una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a o sustancialmente idéntica a las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 5, o un péptido parcial de la misma, es preferiblemente un ADN que comprende la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 11 o que comprende su secuencia parcial, más preferiblemente un ADN que comprende la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 11, de manera adicional preferiblemente un ADN que consiste en la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 11.

Entre los polinucleótidos de la presente divulgación, un polinucleótido que codifica para una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a o sustancialmente idéntica a las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 6, o un péptido parcial de la misma, es preferiblemente un ADN que comprende la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 12 o que comprende su secuencia parcial, más preferiblemente un ADN que comprende la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 12, de manera adicional preferiblemente un ADN que consiste en la secuencia de nucleótidos representada por SEQ ID NO: 12.

El polinucleótido de la presente divulgación puede usarse como molde para producir la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma.

El polinucleótido de la presente divulgación también puede usarse en la selección de la presente divulgación.

El polinucleótido de la presente divulgación puede usarse para preparar un animal transgénico, un animal deficiente o un animal con expresión reducida de la proteína de la presente divulgación o una proteína relacionada con la presente divulgación, según métodos conocidos convencionalmente.

Puesto que un polinucleótido que comprende una secuencia de nucleótidos complementaria al polinucleótido de la presente divulgación o una parte del mismo puede detectar ARNm de la proteína de la presente divulgación, por ejemplo, cuando se usa como cebador o sonda, puede usarse como cebador o sonda para diagnosticar y/o someter a prueba una enfermedad de inmunodeficiencia, un cáncer o una enfermedad infecciosa o una enfermedad autoinmunitaria, una reacción de rechazo tras trasplante de órgano, una enfermedad alérgica o una enfermedad inflamatoria. Un cebador o una sonda de este tipo puede marcarse con una enzima, un material fluorescente, un material luminiscente o un radioisótopo según métodos convencionales.

El polinucleótido de la presente divulgación o un polinucleótido que comprende una secuencia de nucleótidos complementaria al polinucleótido de la presente divulgación o una parte del mismo puede usarse para una terapia génica para prevenir y/o tratar un cáncer, una enfermedad de inmunodeficiencia o una enfermedad infecciosa o una enfermedad autoinmunitaria, una reacción de rechazo tras trasplante de órgano, una enfermedad alérgica o una enfermedad inflamatoria, mediante introducción en las células en el organismo vivo.

El polinucleótido que comprende una secuencia de nucleótidos complementaria al polinucleótido de la presente divulgación o una parte del mismo incluye el denominado ADN antisentido, ARNip (ARN de interferencia pequeño), ribozima y similares.

El ADN antisentido para el polinucleótido de la presente divulgación puede producirse insertando una parte del polinucleótido de la presente divulgación (preferiblemente ADN) en la región antisentido del vector mencionado anteriormente.

El ARNip para el polinucleótido de la presente divulgación es un ARN bicatenario que comprende una parte del ARN que codifica para la proteína de la presente divulgación y un ARN complementario al mismo. El ARNip puede producirse diseñándolo basándose en la secuencia del polinucleótido de la presente divulgación, según el método conocido convencionalmente (Nature, 411: 494-498 (2001)).

La ribozima puede producirse diseñándola basándose en la secuencia del polinucleótido de la presente divulgación, según el método conocido convencionalmente (TRENDS in Molecular Medicine, 7: 221 (2001)). Por ejemplo, puede producirse conectando una ribozima conocida convencionalmente a una parte de ARN que codifica para la proteína de la presente divulgación. La parte de ARN que codifica para la proteína de la presente divulgación incluye, por ejemplo, una parte adyacente a una región que puede digerirse por una ribozima conocida convencionalmente (un fragmento de ARN). Puesto que un ADN antisentido, un ARNip o una ribozima de este tipo puede disminuir el nivel de la proteína de la presente divulgación en células, es útil como agente para prevenir y/o tratar un cáncer, una enfermedad de inmunodeficiencia o una enfermedad infecciosa.

Cuando el polinucleótido de la presente divulgación o un polinucleótido que comprende una secuencia de nucleótidos complementaria al polinucleótido de la presente divulgación o una parte del mismo se usa como agente para prevenir y/o tratar un cáncer, una enfermedad de inmunodeficiencia o una enfermedad infecciosa o una enfermedad autoinmunitaria, una reacción de rechazo tras trasplante de órgano, una enfermedad alérgica o una enfermedad inflamatoria, el polipéptido solo, o tras insertarlo en un vector apropiado tal como un vector de retrovirus o vector de adenovirus, puede administrarse a un ser humano o un mamífero según el modo habitual. Un polinucleótido de este tipo puede usarse directamente o tras prepararlo para dar una preparación farmacéutica junto con un portador tal como una sustancia auxiliar para acelerar su introducción en las células (por ejemplo, liposoma, liposoma HVJ o similares).

Según la memoria descriptiva de la presente divulgación, cuando se muestran nucleótidos, aminoácidos y similares mediante abreviaturas, éstas se basan en las abreviaturas convencionales usadas en el campo, y sus ejemplos incluyen ADN (ácido desoxirribonucleico), ADNc (ácido desoxirribonucleico complementario), ARN (ácido ribonucleico), A (adenina), T (timina), G (guanina), C (citosina), Gly (glicina), Ala (alanina), Val (valina), Leu (leucina), Ile (isoleucina), Ser (serina), Thr (treonina), Cys (cisteína), Met (metionina), Glu (ácido glutámico), Asp (ácido aspártico), Lys (lisina), Arg (arginina), His (histidina), Phe (fenilalanina), Tyr (tirosina), Trp (triptófano), Pro (prolina), Asn (asparagina), Gln (glutamina) y similares. Adicionalmente, cuando existe la posibilidad de que haya isómeros ópticos con respecto a los aminoácidos, muestran la forma L a menos que se indique lo contrario.

Anticuerpo para la proteína de la divulgación

Según la memoria descriptiva de la presente divulgación, el anticuerpo para una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a o sustancialmente idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 3 a 6 o para un péptido parcial de la misma (denominado algunas veces anticuerpo de la presente divulgación a continuación en el presente documento) puede ser cualquier anticuerpo de un anticuerpo humano, un anticuerpo de ratón, un anticuerpo de rata, un anticuerpo de ave doméstica, un anticuerpo de conejo y un anticuerpo de cabra, siempre que sea un anticuerpo que reconozca la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma, y también puede ser uno cualquiera de sus anticuerpos policlonales o monoclonales, anticuerpos de tipo completo o tipo acortado (por ejemplo, fragmento F(ab')₂, Fab', Fab y Fv y similares), anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados o anticuerpos humanos completos. Tales anticuerpos pueden producirse según los métodos de producción de antisueros o anticuerpos conocidos convencionalmente, usando un péptido parcial de la región extracelular de la proteína de la presente divulgación como antígeno. Un péptido parcial de la región extracelular de la proteína puede producirse según los métodos de expresión y purificación de proteínas conocidos convencionalmente.

El anticuerpo de la presente divulgación son preferiblemente anticuerpos monoclonales, más preferiblemente anticuerpos de tipo acortado, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados y anticuerpos humanos completos de anticuerpos monoclonales, y de manera adicional preferiblemente son anticuerpos humanos completos de anticuerpos monoclonales.

Puesto que el anticuerpo para la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma puede detectar la proteína de la presente divulgación, puede usarse como agente para diagnosticar y/o someter a prueba una enfermedad de inmunodeficiencia, un cáncer o una enfermedad infecciosa o una enfermedad autoinmunitaria, una reacción de rechazo tras trasplante de órgano, una enfermedad alérgica o una enfermedad inflamatoria.

Método de producción y método de purificación de proteína o polipéptido

Una proteína o un polipéptido que comprende una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación, que puede citarse como antagonista de la proteína, una proteína o un polipéptido que comprende la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación o una proteína o un polipéptido que comprende la región intracelular de la misma, que puede usarse en el método de selección de la presente divulgación, y la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma puede producirse mediante métodos de expresión y métodos de purificación de proteínas conocidos convencionalmente o mediante los métodos descritos en los ejemplos. Por ejemplo puede citarse,

(1) un método para purificarlas y aislarlas del organismo vivo o células cultivadas;

(2) un método para sintetizar péptidos; y

(3) un método para producir las con el uso de técnicas de recombinación genética; y similares.

El método descrito en (3) es deseable industrialmente, y como técnicas generales para eso, pueden usarse las técnicas convencionales descritas por ejemplo en Molecular Cloning (Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T., Cold Spring Harbor Laboratory Press) (1989) y Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel, F. M., John Wiley & Sons, Inc. (1989)).

Un sistema de expresión (sistema de huésped-vector) para producir una proteína o un péptido con el uso de técnicas de recombinación genética incluye sistemas de expresión de bacterias, levadura, células de insecto y

células de mamífero.

Por ejemplo, cuando se expresa en *Escherichia coli*, se prepara un vector de expresión añadiendo un codón de iniciación (ATG) al extremo terminal 5' de un ADN que codifica para codificar una parte de proteína madura; conectando el ADNc así obtenido en el sentido de 3' de un promotor apropiado (por ejemplo, promotor trp, promotor lac, promotor λ PL, promotor T7 o similares); e insertándolo en un vector que puede funcionar en células de *E. coli* (por ejemplo, pBR322, pUC18, pUC19 o similares). A continuación, una cepa de *E. coli* (por ejemplo, cepa de *E. coli* DH 1, *E. coli* JM 109, *E. coli* HB 101 o similares) transformada con el vector de expresión se cultiva en un medio apropiado para obtener la proteína o el péptido objetivo a partir de las células resultantes. Alternativamente, cuando se usa un péptido señal bacteriano (por ejemplo, un péptido señal de pelB o similares), la proteína o el péptido objetivo de interés puede secretarse al espacio periplasmático. Adicionalmente, también puede producirse una proteína de fusión con otro polipéptido.

Además, cuando se expresa en levadura, se prepara un vector de expresión conectando un ADN que codifica para la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma en el sentido de 3' de un promotor apropiado (por ejemplo, promotor PHO5, promotor PGK, promotor GAP, promotor ADH o similares), e insertándolo en un vector que puede funcionar en levadura (por ejemplo, pSH19, pSH15 o similares). A continuación, se cultiva una cepa de levadura transformada con este vector de expresión (por ejemplo, *Saccharomyces cerevisiae* AH 22, AH 22R⁺ o 20B-12, *Shizosaccharomyces pombe* NCYC 1913, *Pichia pastoris* KM 71 o similares) en un medio apropiado para obtener la proteína o el péptido objetivo.

Además, cuando se expresa en una célula de insecto, se prepara un vector de expresión conectando un ADN que codifica para la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma en el sentido de 3' de un promotor apropiado (por ejemplo, promotor de polihedrina, promotor P10 o similares), e insertándolo en un vector de virus que puede funcionar en células de insecto. Como células de insecto, por ejemplo, cuando el virus es AcNPV, se usa una línea celular establecida derivada de larva de *Barathra* (célula Sf) o similares. Cuando el virus es BmNPV, se usa una línea celular establecida derivada de gusano de seda (célula BmN) o similares. Como célula Sf, por ejemplo, se usa célula Sf9 (ATCC CRL 1711) o célula Sf21 (*In vivo*, 13: 213-217 (1977)). Como insecto, se usan larvas de gusano de seda y similares. Cuando se transforma una célula de insecto o un insecto, por ejemplo, puede llevarse a cabo según el método descrito en Bio/Technology, 6: 47-55 (1988).

Además, cuando se expresa en una célula de mamífero, se prepara un vector de expresión insertando un ADN que codifica para la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma en el sentido de 3' de un promotor apropiado (por ejemplo, promotor de SV40, promotor LTR, promotor de metalotioneína o similares) en un vector apropiado (por ejemplo, un vector de retrovirus, un vector de *Papillomavirus*, un vector de virus vaccinia, un vector del sistema de SV40 o similares). A continuación, se transforma una célula de mamífero apropiada (por ejemplo, célula HEK 293T humana, célula COS-1 de mono, célula COS-7, célula CHO de hámster chino, célula L de ratón, célula NSO o similares) con el vector de expresión así obtenido, y se cultiva el transformante resultante usando un medio apropiado para expresar la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma. Adicionalmente, también puede producirse una proteína de fusión mediante ligación con un fragmento de ADNc que codifica para otro polipéptido tal como una región constante de anticuerpo (resto Fc).

Adicionalmente, como método para producir una proteína o un péptido haciendo uso de técnicas de recombinación genética, también puede usarse un sistema de síntesis libre de células (Sambrook J., Molecular Cloning 2^a ed. (1989)).

El método de síntesis de péptidos puede ser o bien un método de síntesis en fase sólida o bien un método de síntesis en fase líquida. La proteína objetivo puede producirse condensando péptidos parciales o aminoácidos que pueden constituir la proteína de la presente divulgación con las partes restantes y eliminando el grupo protector cuando el producto tiene un grupo protector. En este caso, la condensación y eliminación del grupo protector se llevan a cabo según los métodos descritos en, por ejemplo,

(i) M. Bodanszky, M. A. Ondetti, Peptide Synthesis, Interscience Publishers, Nueva York (1966),

(ii) Schroeder, Luebke, The Peptide, Academic Press, Nueva York (1965),

(iii) Nobuo Izumiya *et al.*, The foundation and Experiments of Peptide Synthesis (escrito en japonés), Maruzen Co., Ltd. (1975),

(iv) Naoaki Yajima y Shunpei Sakakibara, Biochemical Experimentation Course 1, Chemistry of Protein IV (escrito en japonés), 205, (1977), y

(v) editado por Naoaki Yajima, Development of Medical Supplies - a Second Series, volumen 14, Peptide Synthesis (escrito en japonés), Hirokawa Shoten.

La proteína o un péptido parcial de la misma obtenido mediante la manera anterior puede aislarse y purificarse mediante métodos bioquímicos generales tales como precipitación con sales, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía hidrófoba, cromatografía de afinidad, cromatografía de fase inversa, cromatografía de adsorción,

cromatofluore, precipitación isoelectrica, filtración en gel y ultrafiltración.

Adicionalmente, también es posible expresar la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma como proteína de fusión con otra proteína o una etiqueta (una región constante de anticuerpo, glutatión S-transferasa, proteína A, etiqueta FLAG, etiqueta de hexahistidina o similares). Puesto que la proteína de fusión puede purificarse mediante cromatografía de afinidad y/o digestión con una proteasa apropiada (por ejemplo, enterocinasa, trombina o similares), existe la ventaja de que puede purificarse eficazmente.

Método para preparar o producir polinucleótido

Un polinucleótido que codifica para la proteína relacionada con la presente divulgación y un polinucleótido que codifica para la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma puede obtenerse o producirse mediante métodos de preparación o producción y métodos de purificación conocidos convencionalmente, o mediante los métodos descritos en los ejemplos. Por ejemplo, puede obtenerse mediante síntesis química, o amplificándolo mediante el método de PCR usando un cebador de ADN sintético que codifica para la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma, o mediante un método de hibridación que usa un ADN sintético que codifica para la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma como sonda.

La célula o el tejido humano que va a usarse para obtener un polinucleótido que codifica para la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma mediante el método de PCR o el método de hibridación incluye bazo, ganglio linfático, médula ósea, leucocitos, monocitos, células B y similares. Separando el ARNm del tejido o de la célula mencionados anteriormente, se prepara una biblioteca de ADNc mediante técnicas convencionales de recombinación genética. El ADNc objetivo puede obtenerse examinando la biblioteca usando una sonda específica sintetizada basándose en una secuencia de nucleótidos seleccionada de las secuencias de nucleótidos representadas por SEQ ID NO: 7 a 12. Alternativamente, el ADNc objetivo puede amplificarse sintetizando cebadores sentido y antisentido para amplificar la secuencia de nucleótidos objetivo, que se basa en una secuencia de nucleótidos seleccionada de las secuencias de nucleótidos representadas por SEQ ID NO: 7 a 12, y llevando a cabo la PCR usando la biblioteca de ADNc como molde. Es deseable llevar a cabo la PCR usando un termociclador automático. La reacción puede completarse en presencia de una polimerasa termoestable (por ejemplo, Taq o similares), un ADN molde y cebadores, llevando a cabo desde aproximadamente 25 hasta 40 ciclos, en los que 1 ciclo incluye desnaturalización de ADN (por ejemplo, 98°C, de 10 a 30 segundos), apareamiento de los cebadores (por ejemplo, 56°C, de 30 segundos a 1 minuto) y reacción de elongación en presencia de 4 tipos de sustratos (dNTP) (por ejemplo, 72°C, de 30 segundos a 10 minutos), y posteriormente llevando a cabo calentamiento a de 70 a 75°C durante de 5 a 15 minutos. Adicionalmente, están disponibles comercialmente de manera reciente bibliotecas de ADNc de diversos tejidos humanos y, cuando se usan, puede llevarse a cabo la reacción según el método descrito en las instrucciones adjuntas a las mismas. El método de hibridación puede llevarse a cabo según el método descrito, por ejemplo, en Molecular Cloning (Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T., Cold Spring Harbor Laboratory Press) (1989) o Gene, 10: 63 (1980). Puede obtenerse una cantidad necesaria del ADN introduciendo un ADN vector que comprende el DNA en un huésped apropiado y permitiendo que prolifere.

Método para preparar o producir anticuerpo

Aunque el anticuerpo para una proteína o polipéptido que comprende una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación o el anticuerpo para la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma puede ser o bien un anticuerpo policlonal o bien un anticuerpo monoclonal, siempre que sea un anticuerpo que puede reconocer cada uno de la proteína o el polipéptido que comprende una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación y la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma, un anticuerpo monoclonal derivado de un mamífero es particularmente deseable. El anticuerpo monoclonal derivado de un mamífero incluye aquellos que se producen mediante un hibridoma y aquellos que se producen mediante un huésped transformado con un vector de expresión que comprende un gen de anticuerpo preparado mediante una técnica de ingeniería genética.

Puede prepararse un hibridoma que produce antígeno de la siguiente manera con el uso de técnicas conocidas convencionalmente. Concretamente, se usa una proteína o un polipéptido que comprende una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación, un péptido parcial de la proteína de la presente divulgación o una célula que expresa la proteína relacionada con la presente divulgación o la proteína de la presente divulgación (por ejemplo, una célula de expresión forzada o similares) se usa como antígeno sensibilizado, que se usa en la inmunización según un método de inmunización general. Las células inmunitarias así obtenidas se fusionan con una célula original conocida convencionalmente mediante un método de fusión de células general, y se clona una célula productora de anticuerpos monoclonales mediante un método de selección general. Aunque el mamífero que va a inmunizarse con el antígeno sensibilizado no está particularmente limitado, es deseable seleccionarlo tomando en consideración su compatibilidad con la célula original que va a usarse en la fusión de células (célula de mieloma), y se usa generalmente un animal de roedores, tales como ratón, rata y hámster. La inmunización del animal con un antígeno sensibilizado se lleva a cabo según un método conocido convencionalmente. Como célula de mieloma que va a fusionarse con la célula inmunizada mencionada anteriormente, pueden usarse diversas cepas de células conocidas convencionalmente. Puede llevarse a cabo la fusión de células de la célula inmunizada con la célula de mieloma según un método conocido convencionalmente

tal como el método de Milstein *et al.* (Methods Enzymol., 73: 3 - 46 (1981)). Las células fusionadas así obtenidas se seleccionan cultivándolas en un medio de selección general tal como medio HAT (un líquido de cultivo que contiene hipoxantina, aminopterina y timidina). El cultivo con este medio HAT se continúa durante generalmente desde varios días hasta varias semanas hasta que las células distintas de las de hibridoma (células no fusionadas) mueren. A continuación, la selección y la clonación de un hibridoma que produce un anticuerpo que se une a la proteína de la presente divulgación se lleva a cabo mediante el método de dilución limitante general. El anticuerpo puede obtenerse purificando el sobrenadante de cultivo del hibridoma obtenido de esta manera. La purificación puede llevarse a cabo combinando opcionalmente métodos bioquímicos generales tales como precipitación con sales, cromatografía de intercambio iónico y cromatografía de afinidad.

Puede producirse un anticuerpo policlonal mediante un método general en el que un mamífero (por ejemplo, conejo, cabra, oveja o similares) se inmuniza usando una proteína o un polipéptido que comprende una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación o la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma como antígeno de sensibilización, y se recupera antisuero y se purifica. La purificación puede llevarse a cabo combinando opcionalmente métodos bioquímicos generales tales como precipitación con sales, cromatografía de intercambio iónico y cromatografía de afinidad.

Adicionalmente, el anticuerpo también puede obtenerse usando técnicas de ingeniería genética. Concretamente, se prepara ARNm a partir de esplenocitos o linfocitos de un animal inmunizado usando una proteína o un polipéptido que comprende una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación, un péptido parcial de la proteína de la presente divulgación o una célula que expresa la proteína relacionada con la presente invención o la proteína de la presente invención (por ejemplo, célula que sobreexpresa), como antígeno de sensibilización, o a partir de un hibridoma productor de anticuerpo monoclonal, y se prepara una biblioteca de ADNc usando este ARNm como molde. Se selecciona un clon que produce un anticuerpo que reacciona con el antígeno de sensibilización y se cultiva el clon así obtenido. El anticuerpo objetivo puede purificarse a partir del sobrenadante de cultivo resultante combinando opcionalmente métodos bioquímicos generales tales como precipitación con sales, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de afinidad y similares. Cuando se usa el anticuerpo como medicamento, es deseable un anticuerpo humanizado o anticuerpo humano que tiene baja inmunogenicidad. El anticuerpo humanizado puede prepararse mediante técnicas de ingeniería genética usando la región hipervariable del anticuerpo monoclonal mencionado anteriormente (Method in Enzymology, 203: 99-121 (199)). El anticuerpo humano puede prepararse inmunizando un ratón cuyo sistema inmunitario está sustituido por su homólogo humano (Nat. Genet., 15: 146-156 (1997)).

Un anticuerpo para una proteína o polipéptido que comprende una región opcional en la región extracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación, como antagonista para la proteína relacionada con la presente divulgación, puede seleccionarse mediante el siguiente método. Concretamente, un anticuerpo para un receptor activado (por ejemplo, BCR o similares) que se expresa conjuntamente con la proteína relacionada con la presente divulgación, o un ligando de la proteína relacionada con la presente divulgación se inmoviliza simultáneamente sobre un portador tal como perlas de agarosa o una placa de cultivo. Cuando se añade una célula que expresa la proteína relacionada con la presente divulgación (por ejemplo, célula B, monocito, célula que sobreexpresa o similares) al portador o la placa inmovilizados mencionados anteriormente para llevar a cabo la estimulación, se añade un anticuerpo que va a someterse a prueba al mismo tiempo. Se evalúa si atenúa o inhibe o no la supresión de la transducción de señales intracelulares por la proteína relacionada con la presente divulgación, usando la concentración de Ca^{2+} intracelular, fosforilación de residuo de tirosina intracelular de la proteína relacionada con la presente divulgación, unión de una fosfatasa a la proteína relacionada con la presente divulgación, fosforilación de una molécula transductora de señales tal como una Erk2 o la cantidad producida de una citocina (por ejemplo, IL-2 o similares) como índice.

Un anticuerpo agonista para la proteína relacionada con la presente divulgación puede seleccionarse mediante el siguiente método. Es decir, un anticuerpo que va a someterse a prueba se inmoviliza simultáneamente sobre un portador tal como perlas de agarosa o una placa de cultivo. Añadiendo una célula que expresa la proteína de la presente divulgación (por ejemplo, célula B, monocito, célula que sobreexpresa o similares) al portador o la placa inmovilizados mencionados anteriormente, se evalúa si mantiene o refuerza o no la supresión de la transducción de señales intracelulares por la proteína relacionada con la presente divulgación, usando la concentración de Ca^{2+} intracelular, fosforilación de residuo de tirosina intracelular de la proteína de la presente divulgación, unión de una fosfatasa a la proteína relacionada con la presente divulgación, fosforilación de una molécula transductora de señales tal como una Erk2 o la cantidad producida de una citocina (por ejemplo, IL-2 o similares) como índice.

Aplicación en equipos médicos

Puesto que un antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación o una composición farmacéutica que comprende el mismo tiene una actividad de inmunoprecipitación, puede usarse para prevenir y/o tratar cánceres, enfermedades de inmunodeficiencia o enfermedades infecciosas.

Los ejemplos de cánceres o tumores, en los que su prevención y/o tratamiento puede esperarse mediante la administración de un antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación o una composición farmacéutica que comprende el mismo, incluyen cáncer lingual, cáncer gingival, linfoma maligno, melanoma maligno

(melanoma), cáncer maxilar, cáncer nasal, cáncer de la cavidad nasal, cáncer de laringe, cáncer de faringe, glioma, mieloma, glioma, neuroblastoma, carcinoma papilar de tiroides, carcinoma folicular de tiroides, carcinoma medular de tiroides, carcinoma pulmonar primario, carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, carcinoma alveolar, carcinoma no diferenciado de células grandes, carcinoma no diferenciado de células pequeñas, carcinoide, tumor testicular, cáncer protático, cáncer de mama (por ejemplo, adenocarcinoma papilar, comedocarcinoma, tumor de la mucosa, carcinoma medular, carcinoma lobular, carcinosarcoma cirroso, tumor metastásico), enfermedad de Paget mamaria, sarcoma mamario, tumor óseo, cáncer de glándula tiroides, cáncer gástrico, cáncer de hígado, leucemia mielocítica aguda, leucemia promielocítica aguda, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia monocítica aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia no diferenciada aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfocítica crónica, linfoma maligno (por ejemplo, linfosarcoma, sarcoma de células del retículo, enfermedad de Hodgkin o similares), mieloma múltiple, macroglobulinemia primaria, leucemia infantil, carcinoma esofágico, cáncer gástrico, leiomiomasarcoma gástrico, linfoma maligno gastrointestinal, cáncer de páncreas-vesícula biliar, cáncer duodenal, cáncer del intestino grueso, cáncer primario del hígado (por ejemplo, carcinoma hepatocelular, cáncer del conducto biliar o similares), hepatoblastoma, carcinoma intraepitelial uterino, carcinoma de células escamosas de cuello uterino, adenocarcinoma de útero, carcinoma adenoescamoso del útero, adenocarcinoma del cuerpo uterino, carcinosarcoma uterino, mola hidatiforme invasiva del útero, corioepitelioma maligno del útero, melanoma maligno del útero, cáncer de ovarios, tumor mixto mesodérmico, carcinoma renal, carcinoma de células de transición de pelvis renal, carcinoma de células de transición uretrales, carcinoma papilar de la vejiga urinaria, carcinoma de células de transición de la vejiga, carcinoma de células escamosas uretrales, adenocarcinoma uretral, tumor de Wilms, rabdomiosarcoma, fibrosarcoma, osteosarcoma, condrosarcoma, sarcoma sinovial, mixosarcoma, liposarcoma, sarcoma de Ewing, carcinoma de células escamosas cutáneo, carcinoma de células basales cutáneo, enfermedad de Bowen cutánea, enfermedad de Paget cutánea, melanoma maligno cutáneo, mesotelioma maligno, adenocarcinoma metastásico, carcinoma metastásico de células escamosas, sarcoma metastásico, mesotelioma (por ejemplo, mesotelioma pleural, mesotelioma peritoneal, mesotelioma pericárdico o similares) y similares.

Los ejemplos de las enfermedades de inmunodeficiencia, en las que su prevención y/o tratamiento puede esperarse mediante la administración de un antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación o una composición farmacéutica que comprende el mismo, incluyen síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) provocado por infección con el virus de inmunodeficiencia humana (por ejemplo, esofagitis por candidiasis, neumonía por *P. carinii*, toxoplasmosis, tuberculosis, infección compleja por *Mycobacterium avium*, criptosporidiosis, meningitis por criptococos, enfermedad de inclusión citomegálica, infección oportunista tal como leuco-encefalopatía multifocal progresiva, o similares), inmunodeficiencia y síndrome de inmunodeficiencia primario acompañado por una enfermedad grave (por ejemplo, cáncer, anemia hipoplástica, leucemia, mielofibrosis, insuficiencia renal, diabetes, enfermedad hepática o enfermedad esplénica) y similares.

Se considera que un virus usa un factor de supresión del acoplamiento de células inmunitarias como método para escapar de la inmunoprofilaxis del huésped infectado (Journal of Experimental Medicine, 191, 11: 1987-1997 (2000)). Puesto que la infección viral está provocada parcialmente por una función de escape de virus de este tipo, se considera que la reacción inmunitaria de células inmunitarias con virus puede mejorarse mediante la administración de un antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación o una composición farmacéutica que comprende el mismo.

Los ejemplos de las enfermedades infecciosas, en las que su prevención y/o tratamiento puede esperarse mediante la administración de un antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación o una composición farmacéutica que comprende el mismo, incluyen infecciones con virus de la hepatitis humana (por ejemplo, hepatitis B, hepatitis C, hepatitis A y hepatitis E), retrovirus humanos, virus de la inmunodeficiencia humana (por ejemplo, VIH1 y VIH2), virus de leucemia de células T humanas o virus linfotróficos de células T humanas (por ejemplo, VLTH 1 y VLTH 2), virus del herpes simple tipo 1 o tipo 2, virus de Epstein-Barr, citomegalovirus, virus de la varicela zóster, virus del herpes humano (por ejemplo, virus del herpes 6 humano y similares), virus de la polio, virus del sarampión, virus de la rubeola, virus de la encefalitis japonesa, virus de las paperas, virus influenza, virus del resfriado común (por ejemplo, adenovirus, enterovirus, rinovirus y similares), un virus que provoca síndrome de órganos respiratorios agudo grave (*serious acute respiratory organ syndrome* (SARS)), virus del Ébola, virus del Nilo occidental y similares.

Adicionalmente, se considera que también es eficaz para infecciones con protozoos patógenos (por ejemplo, *Trypanosoma*, parásito de la malaria y *Toxoplasma*), bacterias (por ejemplo, *Mycobacterium*, *Salmonella* y *Listeria*), hongos (por ejemplo, *Candida*) y similares.

Puesto que el agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación tiene actividad inmunosupresora, puede usarse para prevenir y/o tratar una enfermedad seleccionada de enfermedades autoinmunitarias, reacción de rechazo tras trasplante de órgano, enfermedades alérgicas y enfermedades inflamatorias.

Los ejemplos de la enfermedad autoinmunitaria, en la que su prevención y/o tratamiento puede esperarse mediante la administración de un agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación o una composición farmacéutica que comprende el mismo, incluyen artritis, hepatitis autoinmunitaria, glomerulonefritis autoinmunitaria, insulinitis autoinmunitaria, orquitis autoinmunitaria, ooforitis autoinmunitaria, colitis ulcerosa, síndrome de Sjogren,

enfermedad de Crohn, enfermedad de Behcet, granulomatosis de Wegner, vasculitis por hipersensibilidad, periarteritis nudosa, enfermedad de Hashimoto, mixoedema, enfermedad de Basedow, enfermedad de Addison, anemia hemolítica autoinmunitaria, trombocitopenia repentina, anemia perniciosa, miastenia grave, enfermedad desmielinizante, síndrome de aortitis, psoriasis, pénfigo, penfigoide, enfermedad de colágeno (por ejemplo, lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, esclerodermia difusa, esclerosis progresiva sistémica, dermatomiositis, poliarteritis nudosa, fiebre reumática o similares), síndrome de Guillain-Barre, síndrome autoinmunitario poliglandular de tipo II, cirrosis biliar primaria, vitiligo vulgar, diabetes mellitus tipo I, y similares. Adicionalmente, también puede citarse una enfermedad que tiene un valor alto de factor anticoagulante lúpico. En este sentido, puede mostrarse a modo de ejemplo que la enfermedad que tiene un valor alto de factor anticoagulante lúpico incluye lupus eritematoso sistémico, trombosis arterial (por ejemplo, infarto cerebral o similares), trombosis venosa, aborto habitual, trombocitopenia, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos y similares.

Los ejemplos de la reacción de rechazo tras trasplante de órgano, en la que su prevención y/o tratamiento puede esperarse mediante la administración de un agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación o una composición farmacéutica que comprende el mismo, incluyen reacción de rechazo tras trasplante renal, trasplante de hígado, trasplante de corazón y/o trasplante de pulmón, reacción de rechazo por trasplante de médula ósea, enfermedad de injerto contra huésped y similares.

Los ejemplos de la enfermedad alérgica, en la que su prevención y/o tratamiento puede esperarse mediante la administración de un agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación o una composición farmacéutica que comprende el mismo, incluyen asma, asma bronquial, dermatitis atópica, urticaria, rinitis alérgica (por ejemplo, polinosis o similares), conjuntivitis alérgica (por ejemplo, polinosis o similares), enterogastritis alérgica, choque anafiláctico, alergia alimentaria y similares.

Los ejemplos de la enfermedad inflamatoria, en la que su prevención y/o tratamiento puede esperarse mediante la administración de un agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación o una composición farmacéutica que comprende el mismo, incluyen dermatitis (por ejemplo, dermatitis por contacto, dermatitis atópica y similares), colitis (por ejemplo, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn y similares), vasculitis (por ejemplo, arteritis de Takayasu, arteritis de células gigantes (arteritis temporal), poliarteritis nudosa, granulomatosis de Wegener, síndrome de Churg-Strauss (vasculitis granulomatosa alérgica), vasculitis cutánea alérgica, púrpura de Henoch-Schonlein, vasculitis por hipersensibilidad, síndrome de vasculitis, trombovasculitis obstructiva (enfermedad de Buerger), vasculitis nodular y similares), artritis (por ejemplo, artritis reumatoide crónica, artritis reumatoide, osteoartritis, artritis tuberculosa, artritis supurativa, artritis psoriásica, trastorno interno de la articulación de la rodilla, osteonecrosis idiopática, osteoartritis y similares), hepatitis (por ejemplo, hepatitis viral, hepatitis autoinmunitaria y similares), nefritis (por ejemplo, nefritis aguda, glomerulonefritis crónica, síndrome nefrítico de progresión rápida, glomerulonefritis aguda tras infección hemolítica con estreptococos, glomerulonefritis membranoproliferativa, síndrome de Goodpasture, glomerulonefritis proliferativa mesangial (nefropatía por IgA), nefritis intersticial y similares), gastritis (por ejemplo, gastritis infecciosa aguda, gastritis alérgica, gastritis crónica y similares), pancreatitis, enteritis, laringitis, neuritis y similares.

Un antagonista o agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación puede administrarse como agente para su uso concomitante combinándolo con otro agente para

(1) compensar y/o reforzar el efecto preventivo y/o terapéutico del agente preventivo y/o terapéutico de la presente invención,

(2) mejorar la disposición y absorción, y reducir la dosis del agente preventivo y/o terapéutico de la presente invención y/o

(3) reducir los efectos secundarios del agente preventivo o agente terapéutico de la presente invención.

El agente para su uso concomitante de antagonista o agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación con otro agente puede administrarse en forma de un agente de combinación preparado formulando ambos componentes en una preparación farmacéutica o pueden tomar una forma para su administración como preparaciones farmacéuticas separadas. Cuando se administran como preparaciones farmacéuticas separadas, se incluyen en la misma administración simultánea y administración a diferentes tiempos. Adicionalmente, la administración a diferentes tiempos puede efectuarse administración en primer lugar el antagonista o agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación y administrando luego otro agente, o el otro agente puede administrarse en primer lugar, seguido por la administración del antagonista o agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación. Los respectivos métodos de administración pueden ser iguales o diferentes entre sí.

El otro agente mencionado anteriormente puede ser un compuesto de bajo peso molecular, o puede ser una proteína, polipéptido, polinucleótido (ADN, ARN o gen), antisentido, señuelo o anticuerpo de alto peso molecular, una vacuna o similares. La dosis del otro agente puede seleccionarse opcionalmente usando la dosis usada clínicamente como patrón. Además, la razón de combinación del antagonista o agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación con el otro agente puede seleccionarse opcionalmente basándose en la edad y el peso corporal del sujeto al que va a administrarse, el método administración, el tiempo de administración, la enfermedad o

el síntoma que va a tratarse o una combinación de los mismos. Por ejemplo, pueden usarse desde 0,01 hasta 100 partes en masa del otro agente basándose en 1 parte en peso del antagonista o agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación. El otro agente puede administrarse en combinación de dos o más especies opcionales a una razón opcional. Adicionalmente, basándose en el mecanismo mencionado anteriormente, también se incluyen

5 no sólo los que se han encontrado hasta ahora sino también los que se encontrarán en el futuro en el otro agente que compensa y/o refuerza el efecto preventivo y/o terapéutico del antagonista o agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación.

La enfermedad que se previene y/o trata mediante el agente mencionado anteriormente para su uso concomitante no está particularmente limitada, y puede ser cualquier enfermedad en la que el efecto preventivo y/o terapéutico del antagonista o agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación puede compensarse y/o reforzarse.

10

En quimioterapia y radioterapia para cánceres, no puede evitarse un efecto secundario de reducción grave de la proliferación de linfocitos. La administración del antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación o una composición farmacéutica que comprende el mismo muestra el efecto de estimular o proliferar los linfocitos reducidos y también puede suprimir los efectos secundarios graves que acompañan a la quimioterapia general al mínimo. Además, puede decirse lo mismo de la radioterapia. Adicionalmente, la dosis de un agente quimioterápico o la cantidad irradiada de radiación pueden reducirse desde la dosis o cantidad de radiación usada generalmente, mediante el uso concomitante con el antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación o una composición farmacéutica que comprende el mismo.

15

El antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación puede usarse de manera concomitante con un agente quimioterápico convencional o prepararse para dar un agente de combinación con el mismo. Como agente quimioterápico de este tipo, por ejemplo, un agente alquilante, un agente de nitrosourea, un antagonista metabólico, un antibiótico carcinostático, un alcaloide vegetal, un inhibidor de la topoisomerasa, un agente de terapia hormonal, un antagonista de hormonas, un inhibidor de aromatasa, un inhibidor de glicoproteína P, un derivado de complejo de platino, otros agentes de inmunoterapia y otros agentes antitumorales. Adicionalmente, también puede usarse de manera concomitante, o prepararse para dar un agente de combinación, con un agente de tratamiento de leuco(neutro)penia, un agente de tratamiento de trombocitopenia, un agente antiemético o un agente de tratamiento de dolor por cáncer, como agente auxiliar de tratamiento contra el cáncer.

20

25

El antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación puede usarse de manera concomitante, o prepararse para dar un agente de combinación, con otra sustancia de inmunopotenciación. Una sustancia de inmunopotenciación de este tipo incluye, por ejemplo, diversas citocinas, antígenos tumorales y similares. La citocina que estimula la reacción inmunitaria incluye GM-CSF, M-CSF, G-CSF, interferón- α , β o γ , IL-1, IL-2, IL-3, IL-12 y similares. Adicionalmente, un derivado de ligando B7, un anticuerpo frente a CD3, un anticuerpo frente a CD28 y un anticuerpo frente a CTLA-4 también pueden aumentar la reacción inmunitaria.

30

La administración de un antígeno de cáncer también puede mejorar la reacción inmunitaria específica de un inmunocito para una célula cancerosa, y puede proporcionar un refuerzo adicional o sinérgico mediante su uso concomitante con el antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación. El antígeno de cáncer puede prepararse como proteína purificada cuando su gen está claro, o como lisado de la propia célula cancerosa cuando no está claro. Un antígeno de cáncer de este tipo incluye, por ejemplo, péptidos asignados a HLA-A1 y HLA-A2 derivados de MAGE-1 y MAGE-3 de melanoma maligno, MART-1 y gp100. Adicionalmente, también puede citarse el péptido HER2/neu de cáncer de mama y cáncer de ovario y el péptido MUC-1 de adenocarcinoma, junto con NY-ESO-1 de cáncer metastásico.

35

40

El antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación puede usarse de manera concomitante, o prepararse para dar un agente de combinación, con un agente antiviral, una preparación de antibiótico, un agente antibacteriano o un agente de tratamiento de micosis visceral.

45

El agente antiviral incluye, por ejemplo, un agente contra VIH, un agente contra virus influenza, un agente contra virus del herpes, interferón- α o β y diversas especies de inmunoglobulinas.

El antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación puede usarse de manera concomitante, o prepararse para dar un agente de combinación, con una vacuna de un virus o patógeno. La vacuna incluye por ejemplo, la vacuna contra la poliomielitis, vacuna contra el virus del sarampión, vacuna contra la encefalitis japonesa, vacuna contra BCG, vacuna triple, vacuna contra las paperas, vacuna contra la varicela, vacuna contra la gripe, vacuna contra la hepatitis A, vacuna contra la hepatitis B y vacuna contra el cólera. En este sentido, el agente contra VIH incluye, por ejemplo, un inhibidor de la transcriptasa inversa (por ejemplo, AZT, ddI, 3TC, d4T o similares), un inhibidor de la proteasa (por ejemplo, saquinavir mesilato, ritonavir, nelfinavir mesilato, amprenavir, delavirdina mesilato, saquinavir, lopinavir/ritonavir o similares) o un antagonista del receptor CCR5. El agente contra virus influenza incluye, por ejemplo, vacuna contra la gripe, oseltamivir fosfato, zanamivir hidrato, amantadina clorhidrato y similares.

50

55

El otro agente para compensar y/o reforzar el efecto preventivo y/o terapéutico del agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación para una enfermedad autoinmunitaria, una reacción de rechazo tras

trasplante de órgano, una enfermedad alérgica o una enfermedad inflamatoria incluye, por ejemplo, un agente esteroideo, un agente antiinflamatorio no esteroideo, un agente inmunosupresor, un agente antialérgico (por ejemplo, un inhibidor de la liberación de transmisores químicos, un antihistamínico, un inhibidor de tromboxano sintasa, un antagonista de tromboxano, un inhibidor de citocina Th2 o similares), un inhibidor de fosfodiesterasa (PDE4), un inhibidor de la liberación de mediadores y similares.

Las preparaciones externas entre los agentes esteroideos incluyen, por ejemplo, clobetasol propionato, diflorasona acetato, fluocinonida, mometasona furancarboxilato, betametasona dipropionato, betametasona butirato propionato, betametasona valerato, difluprednato, budesonida, diflucortolona valerato, amcinonida, halcinonida, dexametasona, dexametasona propionato, dexametasona valerato, dexametasona acetato, hidrocortisona acetato, hidrocortisona butirato, hidrocortisona butirato propionato, deprodona propionato, prednisolona valerato acetato, flucinolona acetónido, beclometasona dipropionato, triamcinolona acetónido, flumetasona pivalato, alclometasona propionato, clobetasona butirato, prednisolona, peclometasona propionato, fludrocortida y similares.

Las preparaciones o inyecciones internas entre los agentes esteroideos incluyen, por ejemplo, cortisona acetato, hidrocortisona, hidrocortisona fosfato de sodio, hidrocortisona succinato de sodio, fludrocortisona acetato, prednisolona, prednisolona acetato, prednisolona succinato de sodio, prednisolona acetato de butilo, prednisolona fosfato de sodio, halopredona acetato, metilprednisolona, prednisolona acetato, prednisolona succinato de sodio, triamcinolona, triamcinolona acetato, triamcinolona acetónido, dexametasona, dexametasona acetato, dexametasona fosfato de sodio, dexametasona palmitato, parametasona acetato, betametasona y similares, y como inhalaciones incluyen, por ejemplo, betametasona propionato, fluticasona propionato, budesonida, flunisolida, triamcinolona, ST-126P, ciclesonida, dexametasona paromitonato, mometasona furanocarbonato, prasterona sulfonato, deflazacort, metilprednisolona suleptanato, metilprednisolona succinato de sodio y similares.

El agente antiinflamatorio no esteroideo incluye, por ejemplo, aspirina, Loxonin, diclofenaco, celecoxib, ácido tiaprofénico, alminoprofeno, flurbiprofeno axetilo, zaltoprofeno, suprofeno, ketoprofeno, pranoprofeno, fentiazaco, droxicum, ibuprofeno, aceclofenaco, amfenaco sodio, tenoxicam, oxaprozina, piroxicam, emorfazona, ácido tolfenámico, indometacina farnesilo, proglumetacina maleato, sulindaco, mofezolaco, etodolaco, lonazolaco calcio, ampiroxica, mesalazina, deflazacort, nimesulida, etoricoxib, ketorolaco, trometamol, palecoxib, lobenzarit disodio, auranofina, loxoprofeno sodio, buclamina, actarit, piroxicam cinamato, nabumetona, salazosulfapiridina, lormoxicam, meloxicam, diacereína, rofecoxib, valdecoxib y similares.

El agente antiinflamatorio no esteroideo básico incluye, por ejemplo, tiaramida clorhidrato, tinoridina clorhidrato, epirizol, emorfazona y similares.

El agente inmunosupresor incluye, por ejemplo, azatioprina, ascomicina, everolimús, ortoclona OKT3, corticosteroide, salazosulfapiridina, ciclosporina, ciclofosfamida, sirolimús, tacrolimús hidrato, desoxiespergualina, buclamina, prednisolona, micofenolato de mofetilo, mizoribina, metilprednisolona, metotrexato, leflunomida, globulina anti-linfocito humano y similares.

El inhibidor de la liberación de transmisores químicos entre los agentes antialérgicos incluye, por ejemplo, cromoglicato de sodio, tranilast, amlexanox, repirinast, ibudilast, pemirolast potasio, dazanolast, nedocromilo, cromoglicato, israpafant y similares.

El antihistamínico entre los agentes antialérgicos incluye, por ejemplo, difenhidramina, difenilpiralina clorhidrato, difenilpiralina teocato, clemastina fumarato, dimenhidrinato, dl-clorfeniramina maleato, d-clorfeniramina maleato, triprolidina clorhidrato, prometazina clorhidrato, alimemazina tartrato, isotipendilo clorhidrato, homoclorciclizina clorhidrato, hidroxizina, ciproheptadina, levocabastina clorhidrato, astemizol, hepotastina, desloratadina, TAK-427, ZCR-2060, NIP-530, mometasona furoato, mizolastina, BP-294, andolast, auranofina, acrivastina y similares.

El inhibidor de tromboxano sintasa entre los agentes antialérgicos incluye, por ejemplo, ozagrel clorhidrato, imitroduct sodio y similares. El antagonista de tromboxano incluye, por ejemplo, ceratrodust, lamatrobán, domitrobán calcio hidrato, KT-2-962 y similares. El inhibidor de citocina Th2 incluye, por ejemplo, suplatotost tosilo, sonatimod, T-614, SR-31747 y similares.

El inhibidor de fosfodiesterasa (PDE4) incluye, por ejemplo, cilomilast, roflumilast, alofirina, atizolam, cipamfilina, rolipram, OPC-6535, ONO-6126, IC-485, AWD-12-281, CC-10004, CC-1088, KW-4490, lirimilast, ZK-117137, YM-976, BY-61-9987, CC-7085, CDC-998, MEM-1414, ND-1251, Bay 19-8004, D-4396, PD-168787, NIK-616, SCH-351591, V-1294A y similares.

El inhibidor de la liberación de mediadores incluye, por ejemplo, amlexanox, ibudilast, cromoglicato de sodio, dazanolast, tranilast, pemirolast potasio, repirinast y similares.

Cuando el componente activo del antagonista o agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación se usa como medicamento, puede administrarse solo o como una composición farmacéutica mezclándolo con diversos adyuvantes de preparación farmacológicamente aceptables. En general, se administra según cada fin, en forma de una preparación farmacéutica adecuada para su uso tal como administración oral, administración intravenosa, administración tópica o administración percutánea.

La dosis de un componente de este tipo varía dependiendo de la edad, el peso corporal, el síntoma, el efecto terapéutico, el método de administración, el tiempo de tratamiento y similares. En general, se administra por vía oral dentro del intervalo de desde 1 ng hasta 10000 mg, por adulto por vez, desde una vez en varios días, una vez en 3 días, una vez en 2 días, una vez al día hasta varias veces, o se administra por vía parenteral (preferiblemente administración intravenosa) dentro del intervalo de desde 1 ng hasta 1000 mg, por adulto por vez, desde una vez en varios días, una vez en 3 días, una vez en 2 días, una vez al día hasta varias veces, o se administra de manera continua en una vena dentro del intervalo de desde 1 hora hasta 24 horas, un día.

Por norma general, puesto que la dosis cambia por diversas condiciones tal como se describe a continuación, existe un caso en el que una cantidad más pequeña que la dosis mencionada anteriormente es suficiente o un caso en el que es necesario que su administración supere el intervalo.

Cuando se administra una preparación concomitante del antagonista o agonista de la proteína relacionada con la presente divulgación con otro agente, se usa como preparaciones sólidas para uso interno o disoluciones para uso interno para su uso en su administración oral, o como inyecciones, preparaciones externas, supositorios, colirios, inhalaciones o similares para su uso en su administración parenteral.

Las preparaciones sólidas para uso interno para su uso en la administración oral incluyen comprimidos, pastillas, cápsulas, polvos, gránulos y similares. En las cápsulas se incluyen cápsulas duras y cápsulas blandas. Además, los comprimidos incluyen comprimidos sublinguales, comprimidos de parche bucal, comprimidos bucales de disgregación rápida y similares.

En tal preparación sólida para uso interno, se usan una o dos o más de las sustancias activas como tales o tras convertirlas en una preparación farmacéutica según el modo habitual mezclándolas con un excipiente (por ejemplo, lactosa, manitol, glucosa, celulosa microcristalina, almidón o similares), un aglutinante (por ejemplo, hidroxipropilcelulosa, polivinilpirrolidona, metasilicato de aluminio y magnesio o similares), un disgregante (por ejemplo, glicolato de celulosa cálcica o similares), un lubricante (por ejemplo, estearato de magnesio o similares), un estabilizador, un agente solubilizante (por ejemplo, ácido glutámico, ácido aspártico o similares) o similares. Adicionalmente, éstas pueden recubrirse con un agente de recubrimiento (por ejemplo, sacarosa, gelatina, hidroxipropilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa o similares) o recubrirse con dos o más capas, si es necesario. Además, también se incluyen cápsulas de la sustancia absorbible tal como gelatina en la misma.

Se producen comprimidos sublinguales según un método conocido convencionalmente. Por ejemplo, éstos se usan tras preparar una o dos o más de las sustancias activas para dar una preparación farmacéutica según el modo habitual mezclándolas con un excipiente (por ejemplo, lactosa, manitol, glucosa, celulosa microcristalina, sílice coloidal, almidón o similares), un aglutinante (por ejemplo, hidroxipropilcelulosa, polivinilpirrolidona, metasilicato de aluminio y magnesio o similares), un disgregante (por ejemplo, almidón, L-hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa, croscarmelosa sódica, glicolato de celulosa cálcica o similares), un lubricante (por ejemplo, estearato de magnesio o similares), un agente de hinchamiento (por ejemplo, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carbopol, carboximetilcelulosa, poli(alcohol vinílico), goma xantana, goma guar o similares), un adyuvante de hinchamiento (por ejemplo, glucosa, fructosa, manitol, xilitol, eritritol, maltosa, trehalosa, un fosfato, un citrato, un silicato, glicina, ácido glutámico, arginina o similares), un estabilizador, un agente solubilizante (por ejemplo, polietilenglicol, propilenglicol, ácido glutámico, ácido aspártico o similares) o un sabor (por ejemplo, naranja, fresa, menta, limón, vainilla o similares) o similares. Además, éstos pueden recubrirse con un agente de recubrimiento (por ejemplo, sacarosa, gelatina, hidroxipropilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa o similares) o recubrirse con dos o más capas, si es necesario. Adicionalmente, también pueden añadirse a los mismos agentes aditivos usados generalmente tales como un antiséptico, un antioxidante, un agente colorante, un edulcorante y similares, si es necesario. Se preparan comprimidos de parche bucal según un método conocido convencionalmente. Por ejemplo, éstos se usan tras preparar una o dos o más de las sustancias activas para dar una preparación farmacéutica según el modo habitual mezclándolas con un excipiente (por ejemplo, lactosa, manitol, glucosa, celulosa microcristalina, sílice coloidal, almidón o similares), un aglutinante (por ejemplo, hidroxipropilcelulosa, polivinilpirrolidona, metasilicato de aluminio y magnesio o similares), un disgregante (por ejemplo, almidón, L-hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa, croscarmelosa sódica, glicolato de celulosa cálcica o similares), un lubricante (por ejemplo, estearato de magnesio o similares), un agente adhesivo (por ejemplo, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carbopol, carboximetilcelulosa, poli(alcohol vinílico), goma xantana, goma guar o similares), un adyuvante de adhesión (por ejemplo, glucosa, fructosa, manitol, xilitol, eritritol, maltosa, trehalosa, un fosfato, un citrato, un silicato, glicina, ácido glutámico, arginina o similares), un estabilizador, un agente solubilizante (por ejemplo, polietilenglicol, propilenglicol, ácido glutámico, ácido aspártico o similares), un sabor (por ejemplo, naranja, fresa, menta, limón, vainilla o similares) y similares. Además, éstos pueden recubrirse con un agente de recubrimiento (por ejemplo, sacarosa, gelatina, hidroxipropilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa o similares) o recubrirse con dos o más capas, si es necesario. Adicionalmente, también pueden añadirse a los mismos agentes aditivos generalmente usados tales como un antiséptico, un antioxidante, un agente colorante, un edulcorante y similares, si es necesario. Se preparan comprimidos bucales de disgregación rápida según un método conocido convencionalmente. Por ejemplo, se usan una o más de las sustancias activas como tales o tras prepararlas para dar una preparación farmacéutica según el modo habitual mezclando las sustancias activas, preparadas previamente recubriendo las partículas a granel o a granel granuladas con un agente de recubrimiento apropiado (por ejemplo, etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, un copolímero de ácido acrílico-ácido

metacrílico o similares) y un plastificante (por ejemplo, polietilenglicol, citrato de trietilo o similares), con un excipiente (por ejemplo, lactosa, manitol, glucosa, celulosa microcristalina, sílice coloidal, almidón o similares), un aglutinante (por ejemplo, hidroxipropilcelulosa, polivinilpirrolidona, metasilicato de aluminio y magnesio o similares), un disgregante (por ejemplo, almidón, L-hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa, croscarmelosa sódica, glicolato de celulosa cálcica o similares), un lubricante (por ejemplo, estearato de magnesio o similares), un adyuvante de dispersión (por ejemplo, glucosa, fructosa, manitol, xilitol, eritritol, maltosa, trehalosa, un fosfato, un citrato, un silicato, glicina, ácido glutámico, arginina o similares), un estabilizador, un agente solubilizante (por ejemplo, polietilenglicol, propilenglicol, ácido glutámico, ácido aspártico o similares), un sabor (por ejemplo, naranja, fresa, menta, limón, vainilla o similares) o similares. Además, éstos pueden recubrirse con un agente de recubrimiento (por ejemplo, sacarosa, gelatina, hidroxipropilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa o similares) o recubrirse con dos o más capas, si es necesario. Adicionalmente, también pueden añadirse a los mismos agentes aditivos generalmente usados tales como un antiséptico, un antioxidante, un agente colorante, un edulcorante y similares, si es necesario.

Las disoluciones internas para la administración oral incluyen aguas, suspensiones, emulsiones, jarabes, elixires y similares farmacéuticamente aceptables. En tales disoluciones, una o dos o más de las sustancias activas se disuelven, suspenden o emulsionan en un diluyente usado de manera general (por ejemplo, agua purificada, etanol, un líquido mezclado de los mismos o similares). Adicionalmente, estas disoluciones pueden contener agentes humectantes, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, edulcorantes, sabores, agentes aromáticos, conservantes, agentes tamponantes o similares.

Por ejemplo, las preparaciones externas para la administración parenteral incluyen pomadas, geles, cremas, fomentos, parches, linimentos, aerosoles, inhalaciones, pulverizaciones, aerosoles, colirios, gotas nasales y similares. Éstas contienen una o dos o más de las sustancias activas y se preparan mediante un método conocido convencionalmente o una prescripción usada generalmente.

Se producen pomadas mediante un método conocido convencionalmente o usado generalmente. Por ejemplo, se preparan mezclando o fundiendo una o dos o más de las sustancias activas en una base. La base de la pomada se selecciona de las que se conocen convencionalmente o se usan generalmente. Por ejemplo, se usan solas o como mezcla de dos o más las que se seleccionan de un ácido graso superior o éster de ácido graso superior (por ejemplo, ácido adípico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico, éster de ácido adípico, éster de ácido mirístico, éster de ácido palmítico, éster de ácido esteárico, éster de ácido oleico o similares), ceras (por ejemplo, cera de abejas amarilla, cera de espermaceti, ceresina o similares), un tensioactivo (por ejemplo, éster del ácido fosfórico de polioxietilén alquil éter o similares), un alcohol superior (por ejemplo, cetanol, alcohol estearílico, alcohol cetoestearílico o similares), un aceite de silicio (por ejemplo, dimetilpolisiloxano o similares), hidrocarburos (por ejemplo, vaselina hidrófila, vaselina blanca, lanolina purificada, parafina líquida o similares), glicoles (por ejemplo, etilenglicol, dietilenglicol, propilenglicol, polietilenglicol, macrogol o similares), un aceite vegetal (por ejemplo, aceite de ricino, aceite de oliva, aceite de sésamo, aceite de trementina o similares), un aceite animal (por ejemplo, aceite de visón, aceite de yema de huevo, escualano, eculeno o similares), agua, un acelerador de la absorción y un agente que previene erupciones. Adicionalmente, pueden contener agentes que mantienen la humedad, conservantes, estabilizadores, antioxidantes, sabores o similares.

Se producen geles mediante un método conocido convencionalmente o usado generalmente. Por ejemplo, se preparan fundiendo una o dos o más de las sustancias activas en una base. La base del gel se selecciona de las que se conocen convencionalmente o se usan generalmente. Por ejemplo, se usan solas o como mezcla de dos o más las que se seleccionan de un alcohol inferior (por ejemplo, etanol, alcohol isopropílico o similares), un agente gelificante (por ejemplo, carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, etilcelulosa o similares), un agente neutralizante (por ejemplo, trietanolamina, diisopropanolamina o similares), un tensioactivo (por ejemplo, monostearato de polietilenglicol o similares), gomas, agua, un acelerador de la absorción y un agente que previene erupciones. Adicionalmente, pueden contener conservantes, antioxidantes, sabores o similares.

Se producen cremas mediante un método conocido convencionalmente o usado generalmente. Por ejemplo, se preparan fundiendo o emulsionando una o dos o más de las sustancias activas en una base. La base de la crema se selecciona de las que se conocen convencionalmente o se usan generalmente. Por ejemplo, se usan solas o como mezcla de dos o más las que se seleccionan de un éster de ácido graso superior, un alcohol inferior, hidrocarburos, un alcohol polihidroxilado (por ejemplo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol o similares), un alcohol superior (por ejemplo, 2-hexildecanol, cetanol o similares), un agente emulsionante (por ejemplo, polioxietilén alquil éteres, ésteres de ácidos grasos o similares), agua, un acelerador de la absorción y un agente que previene erupciones. Adicionalmente, pueden contener conservantes, antioxidantes, sabores o similares.

Se producen fomentos mediante un método conocido convencionalmente o usado generalmente. Por ejemplo, se producen fundiendo una o dos o más de las sustancias activas en una base, y extendiéndolas y recubriéndolas sobre un soporte como material amasado. La base del fomento se selecciona de las que se conocen convencionalmente o se usan generalmente. Por ejemplo, se usan solas o como mezcla de dos o más las que se seleccionan de un espesante (por ejemplo, poli(ácido acrílico), polivinilpirrolidona, goma arábiga, almidón, gelatina, metilcelulosa o similares), un agente humectante (por ejemplo, urea, glicerol, propilenglicol o similares), un agente de carga (por ejemplo, caolín, óxido de zinc, talco, calcio, magnesio o similares), agua, un agente solubilizante, un

agente de pegajosidad y un agente que previene erupciones. Adicionalmente, pueden contener conservantes, antioxidantes, sabores o similares.

Se producen parches mediante un método conocido convencionalmente o usado generalmente. Por ejemplo, se preparan fundiendo una o dos o más de las sustancias activas en una base, y extendiéndolas y recubriéndolas sobre un soporte. La base del parche se selecciona de las que se conocen convencionalmente o se usan generalmente. Por ejemplo, se usan solas o como mezcla de dos o más las que se seleccionan de una base de alto peso molecular, una grasa, un ácido graso superior, un agente de pegajosidad y un agente que previene erupciones. Adicionalmente, también pueden estar contenidos en el mismo conservantes, antioxidantes, sabores o similares.

Se producen linimentos mediante un método conocido convencionalmente o usado generalmente. Por ejemplo, se preparan disolviendo, suspendiendo o emulsionando una o dos o más de las sustancias activas en uno o dos o más de los materiales seleccionados de agua, un alcohol (por ejemplo, etanol, polietilenglicol o similares), un ácido graso superior, glicerol, jabón, un agente emulsionante y un agente de suspensión. Adicionalmente, pueden contener conservantes, antioxidantes, sabores o similares.

Los aerosoles, inhalaciones y pulverizaciones pueden contener un estabilizador tal como hidrogenosulfito de sodio y un agente de tampón que proporciona tonicidad, que es un agente de tonicidad tal como cloruro de sodio, citrato de sodio o ácido cítrico, además del diluyente usado generalmente. Se describen métodos de producción de pulverizaciones en detalle, por ejemplo, en las patentes estadounidenses n.ºs 2.868.691 y 3.095.355.

Las inyecciones para la administración parenteral incluyen todas las inyecciones y también incluyen infusiones de goteo. Por ejemplo, incluyen inyecciones intramusculares, inyecciones subcutáneas, inyecciones intradérmicas, inyecciones intraarteriales, inyecciones intravenosas, inyecciones intraperitoneales, inyecciones espinales, infusiones de goteo intravenosas y similares.

Las inyecciones para la administración parenteral incluyen disoluciones, suspensiones, emulsiones e inyecciones sólidas que se usan disolviendo o suspendiendo en un disolvente cuando se usan. Las inyecciones se usan disolviendo, suspendiendo o emulsionando una o dos o más de las sustancias activas en un disolvente. Como disolvente, por ejemplo, se usa agua destilada para inyección, solución salina fisiológica, aceites vegetales, alcoholes tales como propilenglicol, polietilenglicol o etanol, y similares y una combinación de los mismos. Adicionalmente, tales inyecciones pueden contener un agente estabilizante, un agente solubilizante (por ejemplo, ácido glutámico, ácido aspártico, Polysorbate 80 (marca comercial registrada) o similares), un agente de suspensión, un agente emulsionante, un agente calmante, un agente de tampón, un conservante o similares. Estos se esterilizan en el procedimiento final o se preparan mediante una operación aséptica. Alternativamente, es posible producir una preparación sólida aséptica tal como un producto liofilizado, y usarla disolviéndola en agua destilada esterilizada o aséptica para inyección u otro disolvente antes de su uso.

Los colirios para la administración parenteral incluyen disoluciones oftálmicas, disoluciones oftálmicas de tipo suspensión, disoluciones oftálmicas de tipo emulsión, disoluciones oftálmicas de tipo que se disuelven cuando se usan y pomadas oftálmicas.

Estos colirios se producen según métodos conocidos convencionalmente. Por ejemplo, éstos se usan disolviendo, suspendiendo o emulsionando una o dos o más de las sustancias activas en un disolvente. Como disolvente de colirios se usan, por ejemplo, agua purificada aséptica, solución salina fisiológica, otro disolvente acuoso o disolvente no acuoso para inyección (por ejemplo, un aceite vegetal o similares) y similares y una combinación de los mismos. Los colirios pueden contener agentes de tonicidad (por ejemplo, cloruro de sodio, glicerol concentrado y similares), agentes de tampón (por ejemplo, fosfato de sodio o acetato de sodio y similares), tensioactivos (por ejemplo, Polysorbate 80 (marca comercial registrada), estearato de polioxilo 40, por ejemplo, aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno y similares), estabilizadores (por ejemplo, citrato de sodio o edetato de sodio y similares), antisépticos (por ejemplo, cloruro de benzalconio o parabeno y similares), seleccionándolos opcionalmente, si es necesario. Estos se esterilizan en el procedimiento final o se preparan mediante una operación aséptica. Alternativamente, es posible producir una preparación sólida aséptica tal como un producto liofilizado, y usarla disolviéndola en agua destilada esterilizada o aséptica para inyección u otro disolvente antes de su uso.

Las inhalaciones para la administración parenteral incluyen aerosoles, polvos para inhalación o disoluciones para inhalación, y las disoluciones para inhalación pueden estar en tal forma que se usan disolviéndolas o suspendiéndolas en agua u otro disolvente apropiado en el momento de su uso.

Estas inhalaciones se producen según métodos conocidos convencionalmente.

Por ejemplo, en el caso de disoluciones para inhalación, se preparan seleccionando opcionalmente antisépticos (por ejemplo, cloruro de benzalconio o parabeno y similares), agentes colorantes, agentes de tampón (por ejemplo, fosfato de sodio o acetato de sodio y similares), agentes de tonicidad (por ejemplo, cloruro de sodio o glicerol concentrado y similares), espesantes (por ejemplo, polímero de carboxivinilo y similares), promotores de la absorción y similares, si es necesario.

En el caso de polvos para inhalación, se preparan seleccionando opcionalmente lubricantes (por ejemplo, ácido

esteárico y sales del mismo y similares), aglutinantes (por ejemplo, almidón, dextrina y similares), excipientes (por ejemplo, lactosa o celulosa y similares), agentes colorantes, antisépticos (por ejemplo, cloruro de benzalconio o parabeno y similares), agentes aceleradores de la absorción y similares, si es necesario.

- 5 Cuando se administran las disoluciones para inhalación, se usa generalmente un pulverizador (por ejemplo, un atomizador o nebulizador), y se usa generalmente un inhalador para agentes de polvo cuando se administran los polvos para inhalación.

Otras composiciones para la administración parenteral incluyen supositorios para la administración rectal, óvulos vaginales para la administración vaginal y similares, que comprenden una o dos o más sustancias activas y se prescriben del modo habitual.

10 Ejemplos

La presente invención se describe a continuación en más detalle con referencia a los ejemplos, aunque la presente invención no se limita a los mismos.

Ejemplo 1: Perfil de expresión de BIR1 humano

- 15 Con el fin de examinar la expresión de ARNm de BIR1 en tejidos normales humanos, células sanguíneas y cepas de células, se diseñaron cebadores específicos de BIR1, y se llevó a cabo PCR usando TaKaRa Ex Taq (fabricado por TaKaRa). Las secuencias de los cebadores usados en la misma se muestran a continuación.

5'-GAACAGGCTCCTCTTCTGGAG-3' (SEQ ID NO: 13)

5'-GGTTCACCTTTTCCATCCTGG-3' (SEQ ID NO: 14)

- 20 Se llevó a cabo la PCR manteniendo en primer lugar a 96°C durante 1 minuto, repitiendo posteriormente 35 ciclos de una operación de temperatura de 98°C durante 10 segundos, 56°C durante 30 segundos y 72°C durante 30 segundos, y manteniendo finalmente a 72°C durante 10 minutos.

- 25 Se usaron el panel I de MTC humano, el panel II de MTC humano, el panel de MTC de sistema inmunitario humano y el panel de MTC de fracciones sanguíneas humanas (fabricados por BD Clontech) en el análisis de expresión de tejidos normales humanos y células sanguíneas, y se usó ADNc preparado a partir de ARN total mediante reacción de transcripción inversa según el modo habitual en el análisis de expresión de líneas celulares humanas. Se sometió cada uno de los productos de PCR a electroforesis en gel de agarosa, y entonces se tiñó el gel con bromuro de etidio para obtener datos de imágenes mediante el sistema BioDoc-It (fabricado por UVP). Se muestran los resultados en la figura 1.

- 30 Se expresaba BIR1 a alto nivel en tejidos de sistema inmunitario tales como bazo y ganglios linfáticos y en células positivas para CD14 (monocitos) y células positivas para CD19 (células B). Adicionalmente, en el caso de líneas celulares humanas, se encontró expresión de BIR1 en K562 y HL-60 que tienen la capacidad de diferenciación en monocitos, las cepas de células del sistema de monocitos U937 y THP-1, y las cepas de células B Raji, CCRF-SB y FLEB-14-14.

Ejemplo 2: Expresión de BIR1 humano mediante diversos estímulos de inflamación

- 35 Se examinó la expresión de BIR1 mediante diversos estímulos de inflamación usando cepas de células del sistema de monocitos humanos. A una densidad de 1×10^6 células/2 ml, se estimularon cada una de las células THP-1 y las células U937 con lipopolisacárido (LPS) (1 µg/ml), miristato acetato de forbol (PMA) (100 ng/ml), IFN-γ (100 ng/ml), TNF-α (10 ng/ml) o LPS + IFN-γ (1 µg/ml + 100 ng/ml), durante 1, 3, 8, 24, 48 ó 120 horas, y se recuperó el ARN total. Se determinó la cantidad de ARN de BIR1 mediante el sistema de detección de secuencias ABI PRISM 7000 (fabricado por Applied Biosystems) usando cebadores específicos de BIR1; 5'-CACAGCCATGGAAGTTGGAATC-3' (SEQ ID NO: 15) y 5'-GAGTGTTTGGCCTCATCTTGG-3' (SEQ ID NO: 16) y el kit de RT-PCR QuantiTect SYBR Green (fabricado por QIAGEN). Se llevó a cabo la PCR manteniendo en primer lugar a 50°C durante 30 minutos y luego a 95°C durante 15 minutos. A continuación, se repitió una operación de temperatura de 94°C durante 10 segundos, 56°C durante 30 segundos y 72°C durante 1 minuto 45 veces. Como resultado, tal como se muestra en la figura 2, aumentó la expresión génica de BIR1 en de 8 a 48 horas tras la estimulación distinta de TNF-α en células THP-1, y aumentó en de 24 a 48 horas tras cualquiera de los estímulos en células U937.

Ejemplo 3: Expresión de BIR1 en células sanguíneas derivadas de pacientes con enfermedad autoinmunitaria

- 50 Se detectó la expresión de BIR1 en diversas células sanguíneas derivadas de pacientes con enfermedad autoinmunitaria usando el alineamiento de obtención del perfil de enfermedad autoinmunitaria (fabricado por BD Clontech). Se preparó una sonda específica de BIR1 marcada con [α -³²P] dCTP (fabricado por Perkin Elmer) usando el kit de marcaje de ADN de cebador al azar ver. 2 (fabricado por TaKaRa), usando un fragmento de ADNc de longitud parcial de BIR1 humano como molde. El fragmento de ADNc de longitud parcial usado en el mismo se muestra en SEQ ID NO: 17.

Se llevaron a cabo las operaciones de prehibridación, hibridación y lavado tras la preparación de la sonda según las instrucciones adjuntas a la misma. Obteniendo datos de imágenes usando BAS 2000 (fabricado por FUJIFILM), se calculó el valor de PSL (luminiscencia fotoestimulada; proporcional a la dosis de radiación) de cada punto a partir de los datos de imágenes usando el analizador de imágenes II de BASTation ver. 2.21, y se expresó numéricamente la cantidad expresada de BIR1 en cada muestra. Como análisis estadístico, se llevó a cabo la prueba de Wilcoxon (Mann-Whitney) en personas sanas. Se muestran los resultados en la figura 3.

En comparación con personas sanas, la expresión de BIR1 estaba significativamente aumentada en monocitos de pacientes con factor anticoagulante lúpico y células B de los pacientes de reumatismo articular, esclerosis múltiples y arteritis de Takayasu.

Ejemplo 4: Identificación de variantes de corte y empalme de BIR1 humano

Se llevó a cabo PCR usando ADNc humano derivado de células positivas para CD14 (monocitos) y derivado de células positivas para CD19 (células B) (panel de MTC de fracciones sanguíneas humanas) (fabricado por BD Clontech) como molde y usando TaKaRa LA Taq (fabricado por TaKaRa). Se muestran a continuación los cebadores diseñados específicos para BIR1 humano.

5'-ATGTGGAGCCATTTGAACAGGCTCCTC-3' (SEQ ID NO: 18)

5'-TCAGAAAGTTGAGTTCAGAATAGAC-3' (SEQ ID NO: 19)

Se llevó a cabo la PCR manteniendo en primer lugar a 96°C durante 1 minuto, repitiendo posteriormente 35 ciclos de una operación de temperatura de 98°C durante 10 segundos, 56°C durante 30 segundos y 72°C durante 1 minuto y 30 segundos, y finalmente manteniendo a 72°C durante 10 minutos. Se sometieron los productos de PCR a electroforesis en gel de agarosa y luego se aislaron y subclonaron en el vector T/A. Según las instrucciones adjuntas al kit de secuenciación de ciclo BigDye Terminator v3.1 (fabricado por Applied Biosystems), se determinó la secuencia de cada fragmento de ADNc mediante el analizador genético ABI PRISM 3100 (fabricado por Applied Biosystems).

Como resultado, además de la isoforma conocida (están presentes dos dominios de inmunoglobulina (Ig); BIR1L) (SEQ ID NO: 1 y 2), se identificaron por primera vez una isoforma en la que el dominio de Ig en el lado C-terminal está delecionado (BIR1S1) (SEQ ID NO: 3), una isoforma en la que el dominio de Ig en el lado N-terminal está delecionado (BIR1S2) (SEQ ID NO: 4), una isoforma en la que ambos dominios de Ig están delecionados (BIR1ΔIg) (SEQ ID NO: 5) y una isoforma en la que una parte de la región intracelular de BIR1S1 está delecionada (BIR1ΔCyt) (SEQ ID NO: 6). El dominio de Ig en el lado N-terminal es una parte que corresponde a los números de aminoácido 41 a 122 de la secuencia de aminoácidos descrita en SEQ ID NO: 1, y el dominio de Ig en el lado C-terminal es una parte que corresponde a los números de aminoácido 138 a 203 de la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1.

Ejemplo 5: Preparación de una célula que expresa de manera estable proteína quimérica de FcγRIIB de ratón-BIR1 humano

Se llevó a cabo el examen de si BIR1 transmite o no una señal inhibidora. Se prepararon los siguientes materiales según los métodos notificados en Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 98: 13866-13871 (2001), J. Immunol., 162: 3168-3175 (1999) y similares. Se construyó un vector de expresión de proteína quimérica de FcR insertando un ADN que codifica para una proteína quimérica de FcR-hBIR1 (silvestre) (SEQ ID NO: 20), que se preparó conectando la región intracelular de BIR1 (números de aminoácido 251 a 343 de SEQ ID NO: 1) con el lado C-terminal de la región extracelular, la región transmembrana y 6 aminoácidos de la región intracelular (números de aminoácido 1 a 252) de FcγRIIB (FcR) de ratón, en el sentido de 3' del promotor de β-actina. Además, se preparó un vector de expresión de una (FcR-hBIR1 (YWF)) mutante (SEQ ID NO: 21), en la que los 6 residuos de tirosina de la región intracelular de BIR1 se reemplazaron por residuos de fenilalanina, usando el kit de mutagénesis dirigida a múltiples sitios QuickChange (fabricado por Stratagene). Se introdujeron estos vectores de expresión de proteína quimérica de FcR y un vector de expresión para una proteína quimérica de FcR de un receptor inhibidor conocido KIR2DL3 humano (FcR-hKIR2DL3) (SEQ ID NO: 22) en una cepa de células B de ratón A20IIA1.6 (una cepa de células deficientes en FcγRIIB de ratón) (J. Immunol., 136: 348-356 (1986)) usando el sistema de electroporación Gene Pulser Xcell (fabricado por BIO-Rad). Se tiñó cada una de las células en las que se realizó la introducción con un anticuerpo anti-CD16/CD32 de ratón marcado con FITC (2.4G2) (fabricado por BD Pharmingen), y entonces se examinó el nivel de expresión de la proteína quimérica de FcR mediante FACSCalibur (fabricado por BD Biosciences).

Tal como se muestra en la figura 4, éstas eran células que expresan de manera estable la proteína quimérica de FcR a casi el mismo nivel.

Ejemplo 6: Inhibición del aumento de la concentración de Ca²⁺ intracelular por BIR1 humano por medio del receptor de células B

Se permitió que la célula que expresa de manera estable la proteína quimérica de FcR incorporara Fura2-AM (concentración final: 5 μmol/l) (fabricado por Wako Pure Chemical Industries) a 37°C durante 30 minutos en

presencia de 2,5 mmol/l de probenecid. Tras eliminar Fura2-AM, se permitió que reposara a 37°C durante 30 minutos en tampón de Hanks/HEPES que contenía 2,5 mmol/l de probenecid. Tras desechar el sobrenadante mediante centrifugación, se suspenden las células en tampón de Hanks/HEPES que contiene 2,5 mmol/l de probenecid a una densidad de 5×10^6 células/ml y se inoculan en una placa de 96 pocillos para la medición de Ca^{2+} a 100 μl /pocillo. En una prueba en ausencia de Ca^{2+} extracelular, se llevó a cabo la misma operación usando tampón de Hanks/HEPES que contenía EGTA 1 mmol/l/probenecid 2,5 mmol/L preparado usando tampón de Hanks libre de Ca^{2+} . Tras reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos, se midió una razón de intensidad de fluorescencia de 340 nm/380 nm usando el espectrofluorómetro FDSS-4000 (fabricado por Hamamatsu Photonics), y se detectó un cambio en la concentración de Ca^{2+} intracelular. Tras 30 segundos del comienzo de la medición, se añadió a lo mismo F(ab')_2 (33 $\mu\text{g/ml}$) de o anticuerpo intacto de conejo anti-Ig de ratón (H + L) (49,5 $\mu\text{g/ml}$) (fabricado por Zymed) en porciones de 10 μl /pocillo.

Tal como se muestra en la figura 5, se encontró que, cuando la proteína quimérica de BIR1 se reticulaba con BCR mediante la adición del anticuerpo intacto, la proteína quimérica de BIR1 inhibía el aumento de la concentración de Ca^{2+} intracelular, por medio de BCR. Por otro lado, el aumento de la concentración de Ca^{2+} intracelular no se inhibía en el mutante en el que se reemplazaron residuos de tirosina intracelulares de BIR1 por residuos de fenilalanina. Adicionalmente, el patrón de inhibición del aumento de la concentración de Ca^{2+} intracelular era diferente de el del control positivo KIR2DL3. Cuando se compararon los patrones de inhibición del aumento de la concentración de Ca^{2+} intracelular de BIR1 y KIR2DL3 en ausencia de Ca^{2+} extracelular, KIR2DL3 inhibió completamente el aumento de la concentración de Ca^{2+} intracelular en ausencia de Ca^{2+} extracelular, mientras que BIR1 no podía inhibirlo. BIR1 mostró resultados similares de un receptor inhibidor conocido $\text{Fc}\gamma\text{RIIB}$ (Cell, 90: 293-301 (1997)).

Basándose en los resultados anteriores, se mostró que el BIR1 como proteína relacionada con la presente invención funciona como receptor inmunosupresor.

Ejemplo 7: Fosforilación de residuo de tirosina intracelular de BIR1 humano e identificación de fosfatasa reclutada, en la transducción de señales inhibitorias

Se llevó a cabo el examen de si se fosforila o no un residuo de tirosina intracelular y de si se recluta o no una fosfatasa cuando se activa BIR1. Se estimularon con 30 $\mu\text{g/ml}$ de F(ab')_2 de anticuerpo de conejo anti-IgG de ratón (H + L) o 45 $\mu\text{g/ml}$ de anticuerpo intacto del mismo (fabricado por Zymed) 3×10^7 células de las células que expresan de manera estable proteína quimérica de $\text{Fc}\gamma\text{R}$ suspendidas en tampón de Hanks/HEPES que contiene Ca^{2+} a 37°C durante 3 minutos. Después de eso, se lisaron las células con un tampón de lisis (NP-40 al 1%, Tris-HCl 50 mmol/l, pH 8,0, NaCl 150 mmol/l, NaF 50 mmol/l, glicerol al 10%, Na_3VO_4 1 mmol/l, PMSF 1 mol/l, comprimido de cóctel inhibidor de proteinasas (fabricado por Roche Diagnostics)). Se permitió que el lisado celular reaccionara con proteína A/G PLUS-agarosa (fabricado por Santacruz) al que se le une un anticuerpo de rata anti-CD16/CD32 de ratón (2.4G2) (fabricado por BD Pharmingen), a 4°C durante 5 horas o más. Se inmunoprecipitan la proteína quimérica de $\text{Fc}\gamma\text{R}$ y las moléculas de unión de la misma y entonces se llevó a cabo inmunotransferencia de tipo Western del modo habitual. Se permitió que la membrana reaccionara con fosfotirosina (4G10) (fabricada por Upstate) y anticuerpos primarios para SHP-1, SHP-2 y SHIP-1 (fabricados por Santacruz), seguido por la reacción con un anticuerpo secundario marcado por peroxidasa del rábano (HRP) (fabricado por Santacruz) para detectar las bandas mediante un sistema de detección ECL (fabricado por Amersham Biosciences).

Como resultado, tal como se muestra en la figura 6, el residuo de tirosina intracelular de la proteína quimérica de BIR1 se fosforilaba cuando se reticulaba la proteína quimérica de BIR1 con BCR provocada por la adición del anticuerpo intacto. Adicionalmente, se reclutaban SHP-1, SHP-2 y SHIP-1 en la región intracelular de la proteína quimérica de BIR1 en ese momento. Por otro lado, no se reclutaba la fosfatasa en el mutante en el que se reemplazó el residuo de tirosina intracelular de BIR1 por un residuo de fenilalanina.

Ejemplo 8: Inhibición de la fosforilación de Erk2 por BIR1 humano

Se llevó a cabo el examen de si BIR1 inhibe o no la fosforilación de la molécula de transducción de señales posteriores por medio de BCR. Se estimularon con 30 $\mu\text{g/ml}$ de F(ab')_2 de anticuerpo de conejo anti-IgG de ratón (H + L) o 45 $\mu\text{g/ml}$ de anticuerpo intacto del mismo (fabricado por Zymed) 6×10^6 células que expresan de manera estable la proteína quimérica de $\text{Fc}\gamma\text{R}$ suspendida en tampón de Hanks/HEPES que contiene Ca^{2+} a 37°C durante 3 minutos. Se preparó un lisado celular (500 ng/ μl) usando una disolución de lisado (kit de lisis celular; fabricado por BIO-RAD). Se determinó la fosforilación de cada molécula de transducción de señales usando el ensayo Bio-Plex Fosfo 7-Plex (fabricado por BIO-RAD).

Como resultado, tal como se muestra en la figura 7, la proteína quimérica de BIR1 inhibía la fosforilación mediada por BCR de Erk2 cuando la proteína quimérica de BIR1 se reticulaba con BCR mediante la adición del anticuerpo intacto, similar al caso de KIR2DL3. Por otro lado, el mutante en el que se reemplazó el residuo de tirosina intracelular de BIR1 por un residuo de fenilalanina no inhibía la fosforilación de Erk2.

Ejemplo 9: Inhibición de la producción de interleucina 2 (IL-2) por BIR1 humano

Se llevó a cabo el examen de si BIR1 inhibe o no la producción mediada por BCR de IL-2. Tras la inoculación en

placas de 96 pocillos, se estimularon 1×10^5 células que expresan de manera estable la proteína quimérica de FcR con $10 \mu\text{g/ml}$ de F(ab')_2 de anticuerpo de conejo anti-IgG de ratón (H + L) o $5 \mu\text{g/ml}$ de anticuerpo intacto del mismo (fabricado por Zymed) a 37°C durante 24 horas. Se midió la cantidad de IL-2 en cada sobrenadante de cultivo usando el kit de ELISA de IL-2 de ratón Quantikine Immunoassay (fabricado por R & D Systems). Como resultado, tal como se muestra en la figura 8, la proteína quimérica de BIR1 inhibía la producción mediada por BCR de IL-2 cuando la proteína quimérica de BIR1 se reticulaba con BCR mediante la adición del anticuerpo intacto. Por otro lado, el mutante en el que se reemplazó el residuo de tirosina intracelular de BIR1 por un residuo de fenilalanina no inhibía la producción de IL-2. Adicionalmente, tal como se ha notificado anteriormente, KIR2DL3 también inhibía la producción de IL-2.

Ejemplo 10: Identificación del dominio ITIM de BIR1 humano y unión a fosfatasa

Se identificaron el dominio ITIM que es una secuencia importante para que BIR1 transmita la señal inhibitoria y la unión a fosfatasa. Se sintetizaron péptidos (Y3: biotina-HSQELQ³¹³YATPVF (SEQ ID NO: 23), Y5: biotina-DSYKSG³³⁶YVYSEL (SEQ ID NO: 24), Y6: biotina-YKSGYV³³⁸YSELNF (SEQ ID NO: 25)) que contenían tirosina intracelular de BIR1 (SEQ ID NO: 1) y sus correspondientes péptidos fosforilados (pY3: biotina-HSQELQ³¹³(pY)ATPVF (SEQ ID NO: 26), pY5: biotina-DSYKSG³³⁶(pY)VYSEL (SEQ ID NO: 27), pY6: biotina-YKSGYV³³⁸(pY)SELNF (SEQ ID NO: 28)) (encomendado a Sigma Genosys). Se sintetizaron un péptido que contenía la secuencia de ITIM de PIR-B de ratón y su péptido fosforilado (Y3: biotina-ESQDVT⁷⁹⁴YAQLCS (SEQ ID NO: 29) y pY3: biotina-ESQDVT⁷⁹⁴(pY)AQLCS (SEQ ID NO: 30)) como controles positivos. Se conectaron estos péptidos a proteína A/G PLUS-agarosa (fabricado por Santacruz) por medio de un anticuerpo anti-biotina (fabricado por Sigma) y entonces se permitió que reaccionaran con un lisado de células A20IIA1.6 a 4°C durante 2 horas. Tras la inmunoprecipitación, se llevó a cabo inmunotransferencia de tipo Western del modo habitual. Se permitió que la membrana reaccionara con anticuerpos primarios para SHP-1, SHP-2 y SHIP-1 (fabricados por Santacruz), y entonces se permitió que reaccionara con un anticuerpo secundario marcado con (HRP) (fabricado por Santacruz), y se detectaron las bandas usando un sistema de detección de inmunotransferencia de tipo Western ECL (fabricado por Amersham Biosciences).

Como resultado, tal como se muestra en la figura 9, pY3 de BIR1 se unía a SHP-1 y SHP-2, y pY6 se unía a SHP-1, SHP-2 y SHIP-1. Por otro lado, pY5 no se unía a estas fosfatasas. Aunque no está presente una secuencia que coincida con la secuencia consenso del ITIM convencional (I/V/L/SXYXXL/V) en la región intracelular de BIR1, se encontró que los residuos de tirosina 313 y 338 de BIR1 humano funcionan como ITIM nuevo.

Ejemplo 12: Preparación de anticuerpo anti-BIR1 humano

(1) Sensibilización con antígeno usando proteína quimérica de Fc/BIR1L humano solubilizada

Tras mezclar con adyuvante TiterMax (fabricado por Sigma), se administró una porción de $60 \mu\text{g}$ de proteína quimérica de Fc/BIR1L humano solubilizada en la cavidad intraperitoneal de un ratón BALB/c. Dos semanas después de la administración inicial, se mezcló el antígeno ($60 \mu\text{g}$) con adyuvante TiterMax y se administró en la cavidad intraperitoneal del ratón. Tras aproximadamente 10 días tras el refuerzo, se administró finalmente el antígeno ($40 \mu\text{g}$) en la cavidad intraperitoneal del ratón. Tres días después de eso, se extrajo el bazo del ratón.

(2) Preparación de anticuerpo monoclonal anti-BIR1 humano

Se separaron linfocitos del bazo obtenido en el punto (1) mencionado anteriormente y se mezclaron con el mieloma de ratón P3U1 a una razón de aproximadamente 4:1 para llevar a cabo la fusión celular usando polietilenglicol. Se seleccionaron hibridomas usando medio RPMI 1640/FCS/HAT al 15%, y se llevó a cabo la selección de hibridomas que producían el anticuerpo objetivo mediante un ELISA usando la proteína quimérica de Fc/BIR1L humano soluble y una citometría de flujo usando una célula CHO que expresa de manera estable BIR1L humano. Se clonaron hibridomas positivos mediante dilución limitante para obtener un hibridoma productor de anticuerpo monoclonal anti-BIR1 humano. Se inoculó el hibridoma obtenido de esta manera en la cavidad intraperitoneal de un ratón BALB/c para recoger líquido peritoneal 2 semanas o más después de eso. Se purificó el anticuerpo producido en el líquido peritoneal usando una columna Prosep-G (fabricada por Millipore) y similares.

Tal como se muestra en la figura 10, el anticuerpo monoclonal anti-BIR1 humano así preparado reconocía BIR1 humano (en el dibujo, el clon n.º 170, n.º 68, n.º 95 y n.º 31 representan el clon respectivo del anticuerpo monoclonal anti-BIR1 humano, y el 2º Ac representa un control negativo, y M2 anti-FLAG representa un control positivo).

(3) Preparación de anticuerpo policlonal anti-BIR1 humano

Se mezcló la proteína quimérica de Fc/BIR1L humano solubilizada ($100 \mu\text{g}/0,5 \text{ ml}$) con la misma cantidad de adyuvante completo de Freund (fabricado por DIFCO) y se administró bajo la piel dorsal de un conejo. Dos semanas después de eso, se mezcló el antígeno ($100 \mu\text{g}/0,5 \text{ ml}$) con la misma cantidad de adyuvante incompleto de Freund (fabricado por DIFCO) y se administró bajo la piel dorsal del conejo. Dos semanas después de eso, se recogió sangre de prueba de la vena caudal, y se verificó el aumento en el título de anticuerpo mediante citometría de flujo usando células CHO que expresan el BIR1L humano. Cuando el título de anticuerpo era bajo, se preparó antisuero

llevando a cabo adicionalmente un refuerzo una o dos veces.

Ejemplo 13: Selección de un compuesto que cambia la transducción de señales de BIR1 humano

Del modo habitual, se inmovilizaron 10 µg/ml de anticuerpo de conejo anti-IgG de ratón (H + L) (fabricado por Zymed) y 10 µg/ml del anticuerpo monoclonal anti-BIR1 humano preparado en el ejemplo 3 sobre una placa de 96 pocillos. Se añadió a lo mismo un compuesto sometido a prueba (un compuesto de bajo peso molecular, un péptido, un anticuerpo o similares), y se inocularon células A20IIA1.6 que expresan de manera estable el BIR-1 humano a una densidad de 1×10^5 células/100 µl/pocillo. Tras cultivar a 37°C durante 24 horas, se midió la cantidad de IL-2 en cada sobrenadante de cultivo usando el kit de ELISA de IL-2 de ratón Quantikine Immunoassay (fabricado por R & D Systems). Se selecciona un compuesto que reduce la cantidad de IL-2, o un compuesto que aumenta la misma, en comparación con un control negativo en el que no se añadió el compuesto sometido a prueba, como compuesto que cambia la transducción de señales de BIR1 humano.

Ejemplo 14: Selección de un compuesto que controla la unión de fosfatasa

Se unieron los péptidos fosforilados (biotina-HSQELQ³¹³(pY)ATPVF (SEQ ID NO: 26) o biotina-YKSGV³³⁸(pY)SELNF (SEQ ID NO: 28)) derivados de 2 regiones ITIM de BIR1 humano a una placa de 96 pocillos inmovilizados con un anticuerpo anti-biotina (fabricado por Sigma). Se añadió a lo mismo un compuesto sometido a prueba (un compuesto de bajo peso molecular, un péptido, un anticuerpo o similares), y entonces se añadió a lo mismo un lisado de células A20IIA1.6, seguido por incubación a 4°C durante 2 horas. Tras lavar con PBS 5 veces, se añadieron a lo mismo anticuerpos primarios para SHP-1, SHP-2 y SHIP-1 (fabricados por Santacruz). Tras permitir que reaccionaran a temperatura ambiente durante 2 horas y el posterior lavado con PBS 5 veces, se añadió a lo mismo un anticuerpo secundario marcado por HRP (fabricado por Santacruz). Tras llevar a cabo adicionalmente la reacción a temperatura ambiente durante 2 horas, se midió la cantidad de fosfatasa unida al péptido fosforilado usando un kit de desarrollo de color para peroxidasa (fabricado por Sumitomo Bakelite Co., Ltd.). Se seleccionó un compuesto que reduce la cantidad de fosfatasa, o un compuesto que aumenta la misma, en comparación con un control negativo en el que no se añadió el compuesto que va a someterse a prueba.

Ejemplo 15: Selección de un compuesto que cambia la cantidad expresada de BIR1 humano

Se añadió un compuesto sometido a prueba (un compuesto de bajo peso molecular, un péptido, un anticuerpo o similares) a células THP-1 de la cepa de monocitos humanos (1×10^6 células/2 ml) en presencia o ausencia de LPS (1 µg/ml) y/o IFN-γ (100 ng/ml) y se cultivaron a 37°C durante 24 horas. Extrayendo el ARN total de las células respectivas, se determinó el ARN de BIR1 mediante el sistema de detección de secuencias ABI PRISM 7000 (fabricado por Applied Biosystems) usando cebadores específicos para BIR1 humano; 5'-CACAGCCATGGAAGTTGGAATC-3' (SEQ ID NO: 15) y 5'-GAGTGTGTTGGCCTCATCTTGG-3' (SEQ ID NO: 16) y el kit de RT-PCR QuantiTect SYBR Green (fabricado por QIAGEN). Se seleccionó un compuesto que reduce la cantidad de ARN o un compuesto que aumenta la misma en presencia de LPS y/o IFN-γ, en comparación con un control negativo en el que no se añadió el compuesto sometido a prueba. Alternativamente, se seleccionó un compuesto que reduce la cantidad de ARN o un compuesto que aumenta la misma en ausencia de LPS e IFN-γ, en comparación con un control negativo en el que no se añadió el compuesto sometido a prueba.

Aplicabilidad industrial

La presente divulgación es notablemente útil en el desarrollo de medicamentos. Es decir, un antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación es útil en la prevención y/o el tratamiento de un cáncer, una enfermedad de inmunodeficiencia o una enfermedad infecciosa. Además, un antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación es útil en la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria, una reacción de rechazo tras trasplante de órgano, una enfermedad alérgica o una enfermedad inflamatoria. El método de selección de la presente divulgación es útil en la selección de un antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación.

La proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma y un anticuerpo para la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial del mismo son útiles en la prevención y/o el tratamiento de un cáncer, una enfermedad de inmunodeficiencia o una enfermedad infecciosa como antagonista de la proteína relacionada con la presente divulgación. Adicionalmente, la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial de la misma puede usarse como antígeno en la producción del anticuerpo para la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial del mismo. El polinucleótido de la presente divulgación puede usarse en la producción de la proteína de la presente divulgación o un péptido parcial del mismo.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra el nivel de expresión del ARNm de BIR1 en tejidos normales humanos, células sanguíneas y líneas celulares.

La figura 2 muestra los cambios en la expresión de BIR1 humano mediante diversos estímulos de inflamación.

- La figura 3 muestra un resultado del análisis de los cambios en la expresión de BIR1 humano en células B y monocitos derivados de pacientes con enfermedad autoinmunitaria (DN: donante normal, EvW: enfermedad de von Willebrand, LES: lupus eritematoso sistémico, AR: reumatismo articular, EM: esclerosis múltiple, AL: una enfermedad que tiene un alto valor de factor anticoagulante lúpico, AT: arteritis de Takayasu, PTI: púrpura trombocitopénica idiopática). *, $p < 0,05$, **, $p < 0,01$, ***, $p < 0,005$.
- La figura 4 muestra el nivel de expresión de proteína quimérica de FcR en células que expresan de manera estable FcR-hBIR1 (silvestre), FcR-hBIR1 (YWF) y FcR-hKIR2DL3.
- La figura 5 muestra la inhibición del aumento mediado por BCR de la concentración de Ca^{2+} intracelular por BIR1 humano.
- La figura 6 muestra la fosforilación del residuo de tirosina intracelular de BIR1 humano y la fosfatasa reclutada, en la transducción de señales inhibitoras (U: no estimulado, F: $F(ab')_2$, I: intacto).
- La figura 7 muestra la inhibición de la fosforilación mediada por BCR de Erk2 por BIR1 humano.
- La figura 8 muestra la inhibición de la producción mediada por BCR de IL-2 por BIR1 humano.
- La figura 9 muestra la identificación del dominio ITIM de BIR1 humano y la unión a fosfatasa.
- La figura 10 muestra la reacción de unión a antígeno del anticuerpo monoclonal frente a BIR1 humano.

Lista de secuencias

- <110> Ono Pharmaceutical Co., Ltd.
- 5 <120> Receptor 1 de inmunoglobulina de células B y uso del mismo
- <130> ONF-5785PCT
- <140> Documento EP05795461.2
- 10 <141> 20-10-2005
- <150> Documento PCT/JP2005/019272
- <151> 20-10-2005
- <150> Documento JP2004-307331
- 15 <151> 21-10-2004
- <160> 28
- <170> PatentIn versión 3.1
- 20 <210> 1
- <211> 343
- <212> PRT
- 25 <213> *Homo sapiens*
- <400> 1

Met Trp Ser His Leu Asn Arg Leu Leu Phe Trp Ser Ile Phe Ser Ser
1 5 10 15

Val Thr Cys Arg Lys Ala Val Leu Asp Cys Glu Ala Met Lys Thr Asn
20 25 30

Glu Phe Pro Ser Pro Cys Leu Asp Ser Lys Thr Lys Val Val Met Lys
35 40 45

Gly Gln Asn Val Ser Met Phe Cys Ser His Lys Asn Lys Ser Leu Gln
50 55 60

Ile Thr Tyr Ser Leu Phe Arg Arg Lys Thr His Leu Gly Thr Gln Asp
65 70 75 80

Gly Lys Gly Glu Pro Ala Ile Phe Asn Leu Ser Ile Thr Glu Ala His
85 90 95

Glu Ser Gly Pro Tyr Lys Cys Lys Ala Gln Val Thr Ser Cys Ser Lys
100 105 110

Tyr Ser Arg Asp Phe Ser Phe Thr Ile Val Asp Pro Val Thr Ser Pro
115 120 125

Val Leu Asn Ile Met Val Ile Gln Thr Glu Thr Asp Arg His Ile Thr
130 135 140

Leu His Cys Leu Ser Val Asn Gly Ser Leu Pro Ile Asn Tyr Thr Phe
145 150 155 160

Phe Glu Asn His Val Ala Ile Ser Pro Ala Ile Ser Lys Tyr Asp Arg
165 170 175

Glu Pro Ala Glu Phe Asn Leu Thr Lys Lys Asn Pro Gly Glu Glu Glu
180 185 190

Glu Tyr Arg Cys Glu Ala Lys Asn Arg Leu Pro Asn Tyr Ala Thr Tyr
195 200 205

Ser His Pro Val Thr Met Pro Ser Thr Gly Gly Asp Ser Cys Pro Phe
210 215 220

Cys Leu Lys Leu Leu Leu Pro Gly Leu Leu Leu Leu Val Val Ile
225 230 235 240

Ile Leu Ile Leu Ala Phe Trp Val Leu Pro Lys Tyr Lys Thr Arg Lys
245 250 255

Ala Met Arg Asn Asn Val Pro Arg Asp Arg Gly Asp Thr Ala Met Glu
260 265 270

Val Gly Ile Tyr Ala Asn Ile Leu Glu Lys Gln Ala Lys Glu Glu Ser
275 280 285

Val Pro Glu Val Gly Ser Arg Pro Cys Val Ser Thr Ala Gln Asp Glu
290 295 300

Ala Lys His Ser Gln Glu Leu Gln Tyr Ala Thr Pro Val Phe Gln Glu
305 310 315 320

Val Ala Pro Arg Glu Gln Glu Ala Cys Asp Ser Tyr Lys Ser Gly Tyr
325 330 335

Val Tyr Ser Glu Leu Asn Phe
340

<210> 2

<211> 343

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 2

5

ES 2 481 641 T3

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

Leu His Cys Leu Ser Val Asn Gly Ser Leu Pro Ile Asn Tyr Thr Phe
 145 150 155 160
 Phe Glu Asn His Val Ala Ile Ser Pro Ala Ile Ser Lys Tyr Asp Arg
 165 170 175
 Glu Pro Ala Glu Phe Asn Leu Thr Lys Lys Asn Pro Gly Glu Glu Glu
 180 185 190
 Glu Tyr Arg Cys Glu Ala Lys Asn Arg Leu Pro Asn Tyr Ala Thr Tyr
 195 200 205
 Ser His Pro Val Thr Met Pro Ser Thr Gly Gly Asp Ser Cys Pro Phe
 210 215 220
 Cys Leu Lys Leu Leu Leu Pro Gly Leu Leu Leu Leu Val Val Ile
 225 230 235 240
 Ile Leu Ile Leu Ala Phe Trp Val Leu Pro Lys Tyr Lys Thr Arg Lys
 245 250 255
 Ala Met Arg Asn Asn Val Pro Arg Asp Arg Gly Asp Thr Ala Met Glu
 260 265 270
 Val Gly Ile Tyr Ala Asn Ile Leu Glu Lys Gln Ala Lys Glu Glu Ser
 275 280 285
 Val Pro Glu Val Gly Ser Arg Pro Cys Val Ser Thr Ala Gln Asp Glu
 290 295 300
 Ala Lys His Ser Gln Glu Leu Gln Tyr Ala Thr Pro Val Phe Gln Glu
 305 310 315 320
 Val Ala Pro Arg Glu Gln Glu Ala Cys Asp Ser Tyr Lys Ser Gly Tyr
 325 330 335
 Val Tyr Ser Glu Leu Asn Phe
 340

<210> 3
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 3

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

<210> 4
<211> 253
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 4

Met Trp Ser His Leu Asn Arg Leu Leu Phe Trp Ser Ile Phe Ser Ser
1 5 10 15

Val Thr Cys Arg Lys Ala Val Leu Asp Cys Glu Ala Met Lys Thr Asn
20 25 30

Asp Pro Val Thr Ser Pro Val Leu Asn Ile Met Val Ile Gln Thr Glu
35 40 45

Thr Asp Arg His Ile Thr Leu His Cys Leu Ser Val Asn Gly Ser Leu
50 55 60

Pro Ile Asn Tyr Thr Phe Phe Glu Asn His Val Ala Ile Ser Pro Ala
65 70 75 80

Ile Ser Lys Tyr Asp Arg Glu Pro Ala Glu Phe Asn Leu Thr Lys Lys
85 90 95

Asn Pro Gly Glu Glu Glu Tyr Arg Cys Glu Ala Lys Asn Arg Leu
100 105 110

Pro Asn Tyr Ala Thr Tyr Ser His Pro Val Thr Met Pro Ser Thr Gly
115 120 125

Gly Asp Ser Cys Pro Phe Cys Leu Lys Leu Leu Leu Pro Gly Leu Leu
130 135 140

Leu Leu Leu Val Val Ile Ile Leu Ile Leu Ala Phe Trp Val Leu Pro
145 150 155 160

Lys Tyr Lys Thr Arg Lys Ala Met Arg Asn Asn Val Pro Arg Asp Arg
165 170 175

Gly Asp Thr Ala Met Glu Val Gly Ile Tyr Ala Asn Ile Leu Glu Lys
180 185 190

Gln Ala Lys Glu Glu Ser Val Pro Glu Val Gly Ser Arg Pro Cys Val
195 200 205

Ser Thr Ala Gln Asp Glu Ala Lys His Ser Gln Glu Leu Gln Tyr Ala
210 215 220

Thr Pro Val Phe Gln Glu Val Ala Pro Arg Glu Gln Glu Ala Cys Asp
225 230 235 240

Ser Tyr Lys Ser Gly Tyr Val Tyr Ser Glu Leu Asn Phe
245 250

<210> 5
<211> 158
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 5

ES 2 481 641 T3

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

5

<210> 6
 <211> 176
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 6

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

<210> 7
 <211> 1029
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 7
 atgtggagcc atttgaacag gtcctcttc tggagcatat tttcttctgt cacttgtaga 60
 aaagctgtat tggattgtga ggcaatgaaa acaaatgaat tcccttctcc atgtttggac 120
 tcaaagacta aggtggttat gaagggtcaa aatgtatcta tgttttgttc ccataagaac 180
 aaatcactgc agatcaccta ttcattgttt cgacgtaaga cacacctggg aaccaggat. 240
 ggaaaagggtg aacctgcgat ttttaaccta agcatcacag aagcccatga atcaggcccc 300
 tacaaatgca aagcccaagt taccagctgt tcaaaataca gtcgtgactt cagcttcacg 360
 attgtcgacc cggtgacttc cccagtgtg aacattatgg tcattcaaac agaaacagac 420

cgacatataa cattacattg cctctcagtc aatggctcgc tgcccatcaa ttacactttc 480
 ttgaaaacc atgttgccat atcaccagct atttccaagt atgacaggga gcctgctgaa 540
 tttaacttaa ccaagaagaa tcctggagaa gaggaagagt ataggtgtga agctaaaaac 600
 agattgccta actatgcaac atacagtcac cctgtcacca tgccctcaac aggcggagac 660
 agctgtcctt tctgtctgaa gctactactt ccagggttat tactgttgct ggtggtgata 720
 atcctaattc tggctttttg ggtactgccc aaatacaaaa caagaaaagc tatgagaaat 780
 aatgtgccc a gggaccgtgg agacacagcc atggaagttg gaatctatgc aaatatcctt 840
 gaaaaacaag caaaggagga atctgtgcca gaagtgggat ccaggccgtg tgtttccaca 900
 gcccagatg aggcacaaca ctcccaggag ctacagtatg ccacccccgt gttccaggag 960
 gtggcaccaa gagagcaaga agcctgtgat tcttataaat ctggatatgt ctattctgaa 1020
 ctcaacttc 1029

<210> 8
 <211> 1029
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 8
 atgtggagcc atttgaacag gctcctcttc tggagcatat tttcttctgt cacttgtaga 60
 aaagctgtat tggattgtga ggcaatgaaa acaaatgaat tcccttctcc atgtttggac 120

 tcaaaagacta aggtggttat gaagggtcaa aatgtatcta tgttttgttc ccataagaac 180
 aaatcactgc agatcaccta ttcattgttt cgacgtaaga cacaccggg aaccaggat 240
 ggaaaagggtg aacctgcat ttttaacct a gcatcacag aagcccatga atcaggcccc 300
 taCaaatgca aagcccaagt taccagctgt tcaaaataca gtcgtgactt cagcttcacg 360
 attgtcgacc cggtgacttc cccagtgtg aacattatgg tcattcaaac agaaacagac 420
 cgacatataa cattacattg cctctcagtc aatggctcgc tgcccatcaa ttacactttc 480
 ttgaaaacc atgttgccat atcaccagct atttccaagt atgacaggga gcctgctgaa 540
 tttaacttaa ccaagaagaa tcctggagaa gaggaagagt ataggtgtga agctaaaaac 600
 agattgccta actatgcaac atacagtcac cctgtcacca tgccctcaac aggcggagac 660
 agctgtcctt tctgtctgaa gctactactt ccagggttat tactgttgct ggtggtgata 720
 atcctaattc tggctttttg ggtactgccc aaatacaaaa caagaaaagc tatgagaaat 780
 aatgtgccc a gggaccgtgg agacacagcc atggaagttg gaatctatgc aaatatcctt 840
 gaaaaacaag caaaggagga atctgtgcca gaagtgggat ccaggccgtg tgtttccaca 900
 gcccagatg aggcacaaca ctcccaggag ctacagtatg ccacccccgt gttccaggag 960
 gtggcaccaa gagagcaaga agcctgtgat tcttataaat ctggatatgt ctattctgaa 1020
 ctcaacttc 1029

<210> 9
 <211> 744
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 9

atgtggagcc atttgaacag gctcctcttc tggagcatat tttcttctgt cacttgtaga	60
aaagctgtat tggattgtga ggcaatgaaa acaaatgaat tcccttctcc atgtttggac	120
tcaaagacta aggtgggttat gaaggggtcaa aatgtatcta tgttttgttc ccataagaac	180
aaatcactgc agatcaccta ttcattgttt cgacgtaaga cacacctggg aacctcaggat	240
ggaaaagggtg aacctgcat ttttaacctt agcatcacag aagcccatga atcaggcccc	300
tacaaatgca aagcccaagt taccagctgt tcaaaatata gtcgtgactt cagcttcacg	360
attgtcggcg gagacagctg tcctttctgt ctgaagctac tacttccagg gttattactg	420
ttgctgggtg tgataatcct aattctggct ttttgggtac tgcccaaata caaaacaaga	480
aaagctatga gaaataatgt gcccagggac cgtggagaca cagccatgga agttggaatc	540
tatgcaaata tccttgaaaa acaagcaaag gaggaatctg tgccagaagt gggatccagg	600
ccgtgtgttt ccacagcccc agatgaggcc aaacactccc aggagctaca gtatgccacc	660
cccgtgttcc aggaggtggc accaagagag caagaagcct gtgattctta taaatctgga	720
tatgtctatt ctgaactcaa cttc	744

<210> 10
 <211> 759
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 10	
atgtggagcc atttgaacag gctcctcttc tggagcatat tttcttctgt cacttgtaga	60
aaagctgtat tggattgtga ggcaatgaaa acaaatgacc cggtgacttc cccagtgtctg	120
aacattatgg tcattcaaac agaaacagac cgacatataa cattacattg cctctcagtc	180
aatggctcgc tgcccatcaa ttacactttc ttgaaaacc atgttgccat atcaccagct	240
atctccaagt atgacagggg gcctgctgaa ttttaactta ccaagaagaa tcctggagaa	300
gaggaagagt atagggtgtg agctaaaaac agattgccta actatgcaac atacagtcac	360
cctgtcacca tgccctcaac aggcggagac agctgtcctt tctgtctgaa gctactactt	420
ccagggttat tactgttgct ggtgggtgata atcctaattc tggctttttg ggtactgccc	480
aaatacaaaa caagaaaagc tatgagaaat aatgtgcca gggaccgtgg agacacagcc	540
atggaagttg gaatctatgc aaatatcctt gaaaaacaag caaaggagga atctgtgcca	600
gaagtgggat ccaggccgtg tgtttccaca gcccaagatg aggccaaaca ctcccaggag	660
ctacagtatg cccccccgt gttccaggag gtggcaccaa gagagcaaga agcctgtgat	720
tcttataaat ctggatatgt ctattctgaa ctcaacttc	759

<210> 11
 <211> 474
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 11

atgtggagcc atttgaacag gctcctcttc tggagcatat tttcttctgt cacttgtaga 60
aaagctgtat tggattgtga ggcaatgaaa acaaattggcg gagacagctg tcctttctgt 120
ctgaagctac tacttccagg gttattactg ttgctggtgg tgataatcct aattctggct 180
ttttgggtac tgcccaaata caaaacaaga aaagctatga gaaataatgt gcccagggac 240
cgtggagaca cagccatgga agttggaatc tatgcaaata tccttgaaaa acaagcaaag 300
gaggaatctg tgccagaagt gggatccagg ccgtgtgttt ccacagccca agatgaggcc 360
aaacactccc aggagctaca gtatgccacc cccgtgttcc aggaggtggc accaagagag 420
caagaagcct gtgattctta taaatctgga tatgtctatt ctgaactcaa cttc 474

<210> 12
<211> 528
<212> ADN
<213> *Homo sapiens*

<400> 12
atgtggagcc atttgaacag gctcctcttc tggagcatat tttcttctgt cacttgtaga 60
aaagctgtat tggattgtga ggcaatgaaa acaaattgaat tcccttctcc atgtttggac 120
tcaaagacta aggtggttat gaagggcaca aatgtatcta tgttttggtc ccataagaac 180
aaatcactgc agatcaccta ttcatgtttt cgacgtaaga cacacctggg aaccaggat 240
ggaaaagggtg aacctgcgat ttttaaccta agcatcacag aagcccatga atcaggcccc 300
tacaaatgca aagcccaagt taccagctgt tcaaaatata gtcgtgactt cagcttcacg 360
attgtcggcg gagacagctg tcctttctgt ctgaagctac tacttccagg gttattactg 420
ttgctggtgg tgataatcct aattctggct ttttgggtac tgcccaaata caaaacaaaa 480
gcctgtgatt cttataaaatc tggatatgtc tattctgaac tcaacttc 528

<210> 13
<211> 21
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> cebador

<400> 13
gaacaggctc ctctctgga g

<210> 14
<211> 21
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> cebador

<400> 14
ggttcacctt ttccatcctg g

<210> 15
<211> 22
<212> ADN
<213> Artificial

<220>

	<223> cebador	
5	<400> 15 cacagccatg gaagttggaa tc	22
	<210> 16 <211> 21 <212> ADN <213> Artificial	
10	<220> <223> cebador	
15	<400> 16 gagtgttgg cctcatcttg g	21
20	<210> 17 <211> 615 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> molde	
25	<400> 17 gcctgctgaa ttttaacttaa ccaagaagaa tcctggagaa gaggaagagt ataggtgtga agctaaaaac agattgccta actatgcaac atacagtcac cctgtcacca tgccctcaac aggcggagac agctgtcctt tctgtctgaa gctactactt ccagggttat tactgttgct ggtggtgata atcctaattc tggctttttg ggtactgccc aaatacaaaa caagaaaagc tatgagaaat aatgtgcccc gggaccgtgg agacacagcc atggaagtig gaatctatgc aaatatcctt gaaaaacaag caaaggagga atctgtgcc aagtgggat ccaggccgtg tgtttccaca gcccaagatg aggccaaaca ctcccaggag ctacagtatg ccacccccgt gttccaggag gtggcaccaa gagagcaaga agcctgtgat tcttataaat ctggatatgt ctattctgaa ctcaacttct gaaatttaca gaaacaaact acatctcagg gtaagatgct ttttatgaag ctgatttcca tgaacaaaaa gcaaacttga ggctgaggcg ggtggatcac agggtcagga gatca	60 120 180 240 300 360 420 480 540 600 615
30	<210> 18 <211> 27 <212> ADN <213> Artificial	
	<220> <223> cebador	
35	<400> 18 atgtggagcc attgaacag gctcctc	27
40	<210> 19 <211> 24 <212> ADN <213> Artificial	
45	<220> <223> cebador	
	<400> 19 tcagaagtg agtcagaat agac	24

<210> 20
 <211> 345
 <212> PRT
 5 <213> Artificial

 <220>
 <223> proteína quimérica
 10 <400> 20
 Met Gly Ile Leu Pro Phe Leu Leu Ile Pro Met Glu Ser Asn Trp Thr
 1 5 10 15
 Val His Val Phe Ser Arg Thr Leu Cys His Met Leu Leu Trp Thr Ala
 20 25 30
 Val Leu Asn Leu Ala Ala Gly Thr His Asp Leu Pro Lys Ala Val Val
 35 40 45
 Lys Leu Glu Pro Pro Trp Ile Gln Val Leu Lys Glu Asp Thr Val Thr
 50 55 60
 Leu Thr Cys Glu Gly Thr His Asn Pro Gly Asn Ser Ser Thr Gln Trp
 65 70 75 80
 Phe His Asn Gly Arg Ser Ile Arg Ser Gln Val Gln Ala Ser Tyr Thr

	85		90		95
Phe Lys Ala Thr Val Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Met Glu	100		105		110
Gln Thr Arg Leu Ser Asp Pro Val Asp Leu Gly Val Ile Ser Asp Trp	115		120		125
Leu Leu Leu Gln Thr Pro Gln Leu Val Phe Leu Glu Gly Glu Thr Ile	130		135		140
Thr Leu Arg Cys His Ser Trp Arg Asn Lys Leu Leu Asn Arg Ile Ser	145		150		155
Phe Phe His Asn Glu Lys Ser Val Arg Tyr His His Tyr Ser Ser Asn	165		170		175
Phe Ser Ile Pro Lys Ala Asn His Ser His Ser Gly Asp Tyr Tyr Cys	180		185		190
Lys Gly Ser Leu Gly Arg Thr Leu His Gln Ser Lys Pro Val Thr Ile	195		200		205
Thr Val Gln Gly Pro Lys Ser Ser Arg Ser Leu Pro Val Leu Thr Ile	210		215		220
Val Ala Ala Val Thr Gly Ile Ala Val Ala Ala Ile Val Ile Ile Leu	225		230		235
Val Ser Leu Val Tyr Leu Lys Lys Lys Gln Val Pro Lys Tyr Lys Thr	245		250		255
Arg Lys Ala Met Arg Asn Asn Val Pro Arg Asp Arg Gly Asp Thr Ala	260		265		270
Met Glu Val Gly Ile Tyr Ala Asn Ile Leu Glu Lys Gln Ala Lys Glu	275		280		285
Glu Ser Val Pro Glu Val Gly Ser Arg Pro Cys Val Ser Thr Ala Gln	290		295		300
Asp Glu Ala Lys His Ser Gln Glu Leu Gln Tyr Ala Thr Pro Val Phe	305		310		315
Gln Glu Val Ala Pro Arg Glu Gln Glu Ala Cys Asp Ser Tyr Lys Ser	325		330		335
Gly Tyr Val Tyr Ser Glu Leu Asn Phe	340		345		

<210> 21

<211> 345

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> proteína quimérica

ES 2 481 641 T3

<400> 21

Met	Gly	Ile	Leu	Pro	Phe	Leu	Leu	Ile	Pro	Met	Glu	Ser	Asn	Trp	Thr
1				5					10					15	

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

		325		330		335
	Gly	Phe	Val	Phe	Ser	Glu
				340		
					Leu	Asn
						345
						Phe
5	<210>	22				
	<211>	330				
	<212>	PRT				
	<213>	Artificial				
	<220>					
10	<223>	proteína quimérica				
	<400>	22				

Met Gly Ile Leu Pro Phe Leu Leu Ile Pro Met Glu Ser Asn Trp Thr
1 5 10 15

Val His Val Phe Ser Arg Thr Leu Cys His Met Leu Leu Trp Thr Ala
20 25 30

Val Leu Asn Leu Ala Ala Gly Thr His Asp Leu Pro Lys Ala Val Val
35 40 45

Lys Leu Glu Pro Pro Trp Ile Gln Val Leu Lys Glu Asp Thr Val Thr
50 55 60

Leu Thr Cys Glu Gly Thr His Asn Pro Gly Asn Ser Ser Thr Gln Trp
65 70 75 80

Phe His Asn Gly Arg Ser Ile Arg Ser Gln Val Gln Ala Ser Tyr Thr
85 90 95

Phe Lys Ala Thr Val Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Met Glu
100 105 110

Gln Thr Arg Leu Ser Asp Pro Val Asp Leu Gly Val Ile Ser Asp Trp
115 120 125

Leu Leu Leu Gln Thr Pro Gln Leu Val Phe Leu Glu Gly Glu Thr Ile
130 135 140

Thr Leu Arg Cys His Ser Trp Arg Asn Lys Leu Leu Asn Arg Ile Ser
145 150 155 160

Phe Phe His Asn Glu Lys Ser Val Arg Tyr His His Tyr Ser Ser Asn
165 170 175

Phe Ser Ile Pro Lys Ala Asn His Ser His Ser Gly Asp Tyr Tyr Cys
180 185 190

Lys Gly Ser Leu Gly Arg Thr Leu His Gln Ser Lys Pro Val Thr Ile
195 200 205

Thr Val Gln Gly Pro Lys Ser Ser Arg Ser Leu Pro Val Leu Thr Ile
210 215 220

Val Ala Ala Val Thr Gly Ile Ala Val Ala Ala Ile Val Ile Ile Leu
225 230 235 240

Val Ser Leu Val Tyr Leu His Arg Trp Cys Cys Asn Lys Lys Asn Ala

	245	250	255
	Val Val Met	Asp Gln Glu Pro Ala Gly	Asn Arg Thr Val Asn Arg Glu
		260	265
	Asp Ser Asp	Glu Gln Asp Pro Gln Glu Val Thr Tyr Ala	Gln Leu Asn
		275	280
	His Cys Val Phe Thr Gln Arg Lys Ile Ser Arg Pro Ser Gln Arg Pro		
		290	300
	Lys Thr Pro Pro Thr Asp Ile Ile Val Tyr Thr Glu Leu Pro Asn Ala		
		305	315
	Glu Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys		
		325	330
5	<210> 23 <211> 12 <212> PRT <213> Artificial		
10	<220> <223> péptido biotinilado		
	<400> 23 His Ser Gln Glu Leu Gln Tyr Ala Thr Pro Val Phe 1 5 10		
15	<210> 24 <211> 12 <212> PRT <213> Artificial		
20	<220> <223> péptido biotinilado		
	<400> 24 Asp Ser Tyr Lys Ser Gly Tyr Val Tyr Ser Glu Leu 1 5 10		
25	<210> 25 <211> 12 <212> PRT <213> Artificial		
30	<220> <223> péptido biotinilado		
	<400> 25 Tyr Lys Ser Gly Tyr Val Tyr Ser Glu Leu Asn Phe 1 5 10		
35	<210> 26 <211> 12 <212> PRT <213> Artificial		
40	<220> <223> péptido biotinilado y fosforilado		
	<400> 26		

His Ser Gln Glu Leu Gln Tyr Ala Thr Pro Val Phe
 1 5 10
 <210> 27
 <211> 12
 5 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 10 <223> péptido biotinilado y fosforilado
 <400> 27
 Asp Ser Tyr Lys Ser Gly Tyr Val Tyr Ser Glu Leu
 1 5 10
 <210> 28
 15 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> péptido biotinilado y fosforilado
 <400> 28
 Tyr Lys Ser Gly Tyr Val Tyr Ser Glu Leu Asn Phe
 1 5 10

REIVINDICACIONES

- 5
1. Anticuerpo para su uso en el tratamiento de una enfermedad alérgica, en el que el anticuerpo reconoce tanto una proteína que consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 3 a 6, como Fcε RI sobre una célula que expresa dicha proteína.
2. Anticuerpo para su uso en el tratamiento de una enfermedad alérgica según la reivindicación 1, en el que la enfermedad alérgica se selecciona del grupo que consiste en asma bronquial, dermatitis atópica, urticaria, rinitis alérgica, conjuntivitis alérgica, enterogastritis alérgica, choque anafiláctico y alergia alimentaria.
- 10
3. Anticuerpo para su uso en el tratamiento de una enfermedad alérgica según la reivindicación 1, en el que la enfermedad alérgica es choque anafiláctico.
4. Anticuerpo para su uso en el tratamiento de una enfermedad alérgica según la reivindicación 1, en el que la proteína consiste en la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 3 ó 4.

Fig. 1

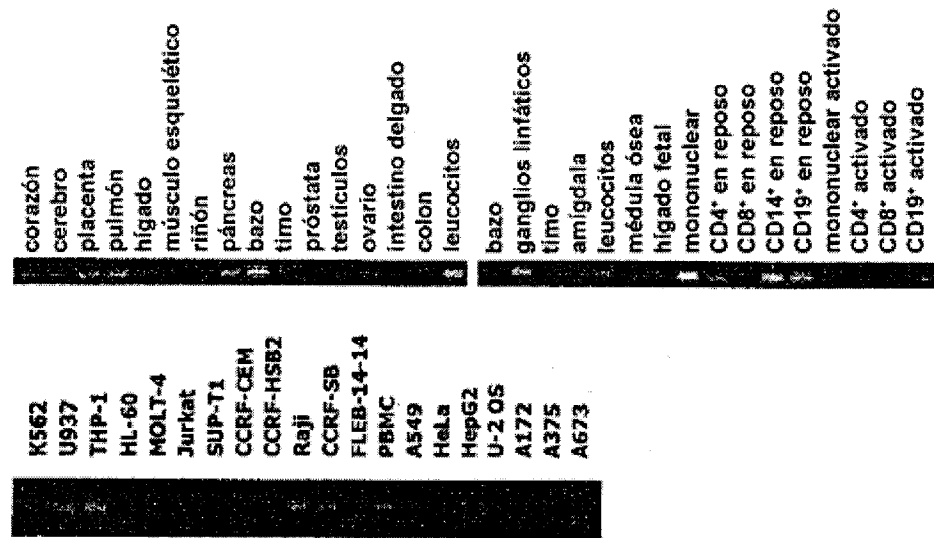


Fig. 2

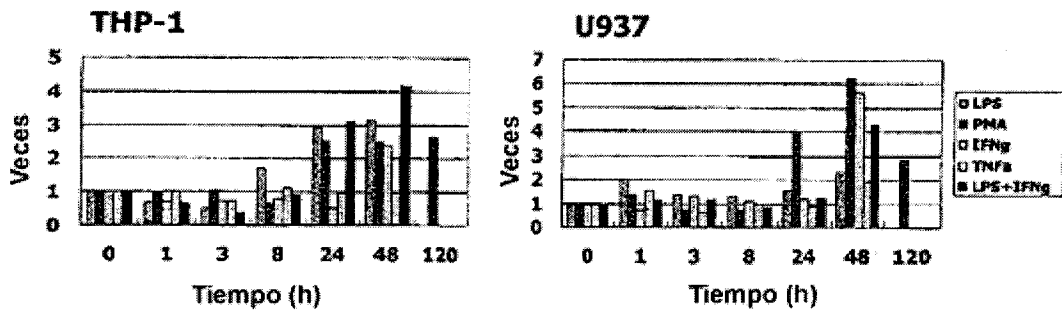


Fig. 3

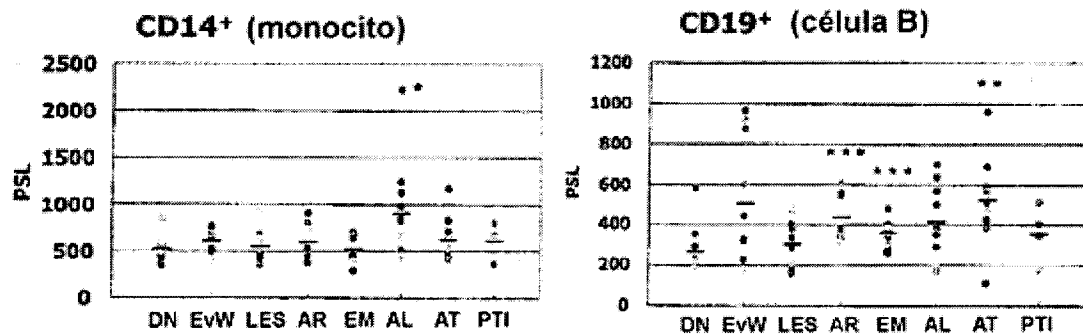


Fig. 4

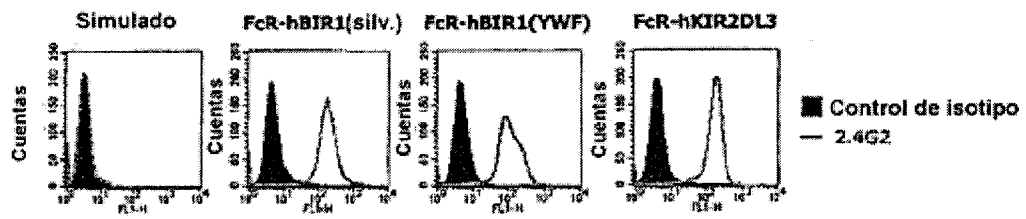


Fig. 5

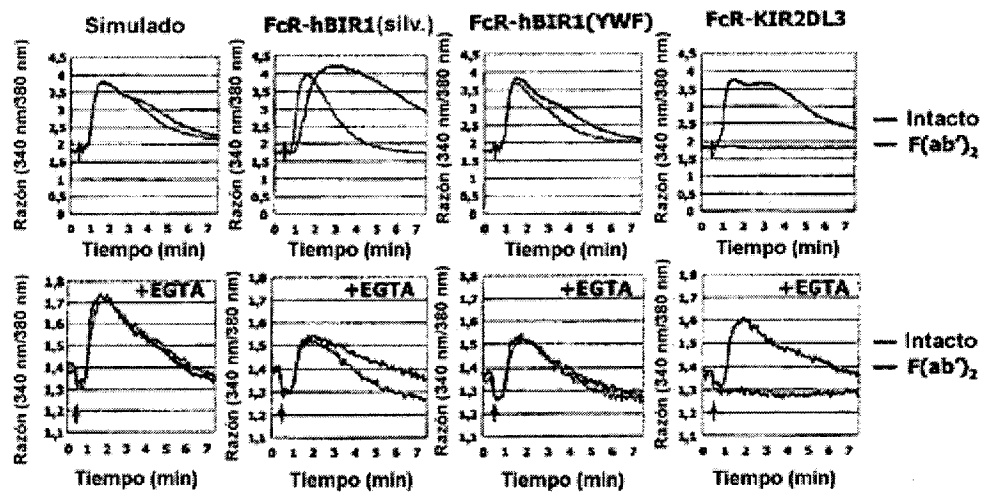


Fig. 6

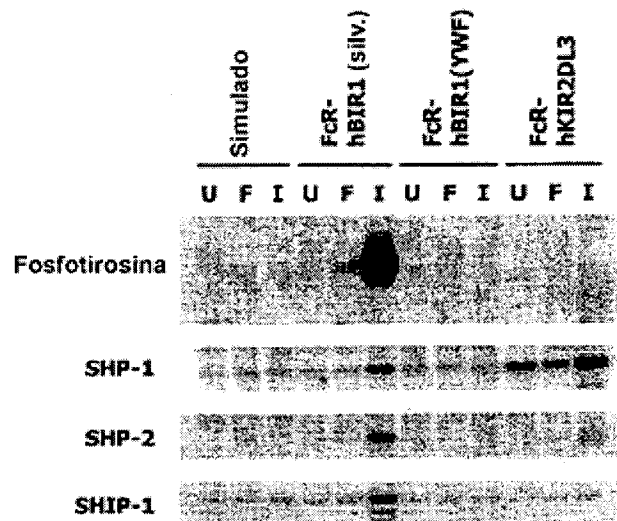


Fig. 7

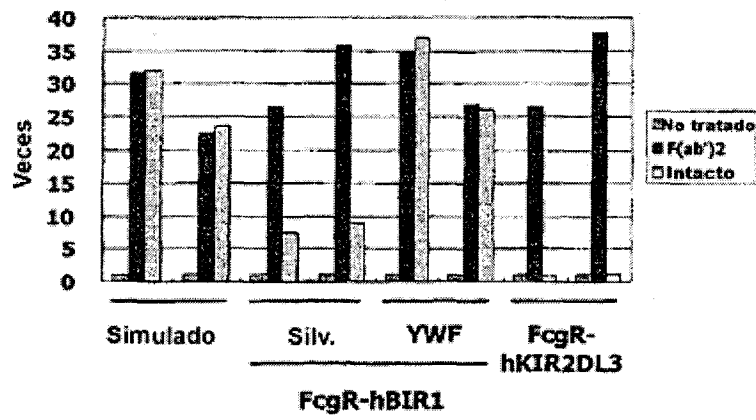


Fig. 8

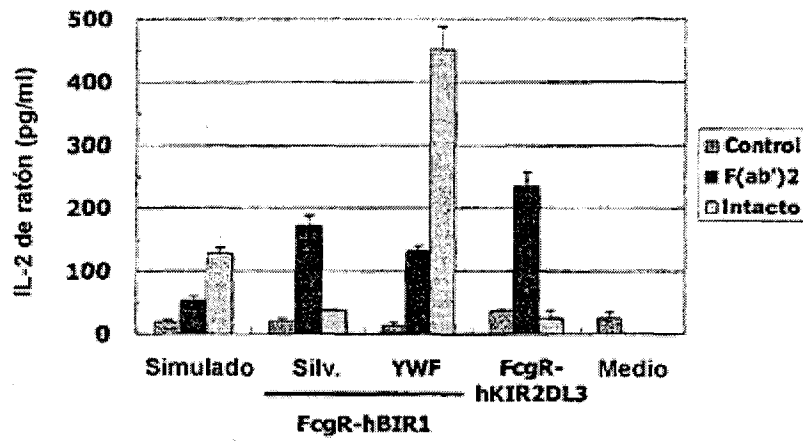


Fig. 9



Fig. 10

