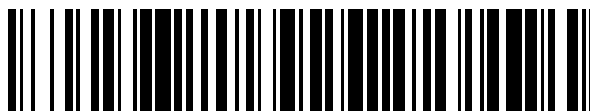


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 694 165**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/40** (2006.01)

**C07K 16/28** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.01.2013** **PCT/JP2013/052781**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.08.2013** **WO13115410**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.01.2013** **E 13705843 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.10.2018** **EP 2809683**

54 Título: **Anticuerpo anti-fosfolipasa D4**

30 Prioridad:

**31.01.2012 JP 2012018266**

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

**18.12.2018**

73 Titular/es:

**SBI BIOTECH CO., LTD. (100.0%)**

**1-6-1, Roppongi**

**Minato-kuTokyo 106-6018, JP**

72 Inventor/es:

**CHO, MINKWON;**

**YAMAZAKI, TOMOHIDE;**

**ENDO, MAYUKI y**

**ISHIDA, KOJI**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

ES 2 694 165 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

**Anticuerpo anti-fosfolipasa D4****5 Campo técnico**

La presente invención se refiere a un anticuerpo que se une a la fosfolipasa D4. De aquí en adelante, "fosfolipasa D" se puede abreviar como PLD, y "fosfolipasa D4" se puede abreviar como PLD4.

**10 Técnica anterior**

El interferón (de aquí en adelante, el "interferón" puede abreviarse como IFN) es la citocina más importante en la respuesta inmunitaria anti-viral. La célula productora de interferón en la sangre humana (IPC: IPC es una célula dendrítica basada en linfocitos indiferenciados posicionada como una célula precursora de la célula dendrítica (DC). La IPC también puede denominarse célula dendrítica plasmocitoide o célula dendrítica plasmocitoide (pDC). De aquí en adelante, en la presente memoria descriptiva, IPC y pDC son sinónimos, y son referidos de manera uniforme con el término pDC en principio a continuación.) expresa CD4 y la proteína de complejo mayor de histocompatibilidad de clase II. Sin embargo, el aislamiento o la caracterización particular de las células no se han realizado hasta ahora debido a un número insuficiente de tales células, apoptosis rápida y carencia de marcador de linaje (sistema). Se ha revelado que pDC es célula precursora de tipo CD4<sup>+</sup>CD11c<sup>2</sup> de la célula dendrítica, y se encontró que pDC produce IFN más de 200 a 1000 veces más que otras células sanguíneas después de la estimulación por un microorganismo. Por consiguiente, pDC es una célula efectora concluyente del sistema inmunitario en una respuesta inmunitaria anti-viral/antitumoral.

IFN $\alpha$  y IFN $\beta$  se conocen como IFN de tipo I que tienen actividad antiviral o actividad antitumoral. Por otro lado, se ha revelado que el IFN $\alpha$  está asociado con enfermedades autoinmunitarias. Por ejemplo, se ha informado sobre una producción anormal de IFN $\alpha$  en pacientes con enfermedades autoinmunitarias tales como lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide crónica. Además, se ha informado de un caso en el que los síntomas de la enfermedad autoinmunitaria se expresan o agravan después de la administración de un IFN $\alpha$ 2 o IFN recombinantes. También se ha sugerido que los síntomas autoinmunes pueden aliviarse mediante la neutralización de IFN $\alpha$ .

Además, también se ha revelado que el IFN $\alpha$  induce la diferenciación de las células dendríticas (DC). Se ha contemplado que la inducción de la diferenciación de una célula dendrítica constituye un mecanismo importante en una enfermedad autoinmunitaria ya que una célula dendrítica es una célula presentadora de antígenos. De hecho, se ha sugerido que la inducción de la diferenciación de una célula dendrítica de IFN $\alpha$  está profundamente asociada con el desarrollo del lupus eritematoso sistémico. Como se describió anteriormente, se ha señalado la estrecha relación del IFN $\alpha$  con las enfermedades autoinmunitarias y la actividad antitumoral. Además, el IFN $\alpha$  también está profundamente asociado con el desarrollo de psoriasis.

Sólo existen en la sangre unas pocas pDC. Se contempla que la proporción de pDC que ocupa el linfocito de sangre periférica es de 1% o menos. Sin embargo, la pDC tiene una capacidad de producción de IFN muy alta. La capacidad de producción de IFN de pDC alcanza, por ejemplo, 3.000 pg/mL/10<sup>4</sup> células. Es decir, se puede decir que la mayor parte del IFN $\alpha$  o IFN $\beta$  en la sangre producida en el momento de la infección del virus es causada por pDC, aunque el número de células es pequeño.

La pDC se diferencia a una célula dendrítica por estimulación mediante virus, e induce la producción de IFN- $\gamma$  o interleucina (IL)-10 por las células T. Además, la pDC también se diferencia a una célula dendrítica por la estimulación con IL-3. Las células dendríticas diferenciadas tras la estimulación con IL-3 inducen la producción de citocinas Th2 (IL-4, IL-5, IL-10) por parte de las células T. Como se describió anteriormente, la pDC tiene la propiedad de que se diferencia a diferentes células dendríticas dependiendo de la diferencia de estimulaciones.

Por consiguiente, la pDC es una célula que tiene dos vertientes, es decir, una vertiente como célula productora de IFN, y la otra vertiente como célula precursora de una célula dendrítica. Cualquiera de las células juega un papel importante en el sistema inmunológico. Es decir, la pDC es una de las células importantes que apoyan el sistema inmunológico en varios aspectos.

En la regulación de la actividad de un factor humoral como el IFN, es eficaz la administración de un anticuerpo que reconoce el factor. Por ejemplo, estuvo en uso práctico un intento de tratar enfermedades autoinmunitarias con un anticuerpo contra IL-1 o IL-4. Además, también para el IFN, el anticuerpo de neutralización se considera un agente terapéutico para enfermedades autoinmunitarias. Se puede esperar que un enfoque similar sea eficaz para IFN que produce pDC. Sin embargo, tal enfoque se basa en la inhibición de la acción de un factor humoral después de producirse. Si la producción de un factor humoral previsto puede controlarse directamente, se pueden lograr otros efectos terapéuticos esenciales.

Se ha informado sobre anticuerpos que reconocen pDC humana. Por ejemplo, el anticuerpo monoclonal anti-BDCA-2 es un anticuerpo monoclonal humano específico de pDC (Dzionek, A. et al. J. Immunol, 165: 6037-6046, 2000). Se ha revelado que el anticuerpo monoclonal anti-BDCA-2 tiene la acción de suprimir la producción de IFN de la pDC humana (J. Exp. Med. 194: 1823-1834, 2001). Además, también se ha informado de que un anticuerpo monoclonal que reconoce a las células productoras de interferón de ratón suprime la producción de interferón (Blood 1 de junio de 2004; 103/11: 4201-4206. Epub dic. 2003). También se ha informado de que el número de células dendríticas disminuye por un anticuerpo monoclonal para pDC de ratón (J. Immunol. 2003, 171: 6466-6477).

De manera similar, resultaría útil proporcionar un anticuerpo que pueda reconocer la pDC humana y regular su actividad. Por ejemplo, los autores de la presente invención revelaron que un anticuerpo que reconoce Ly49Q se une específicamente a pDC de ratón. Sin embargo, el anticuerpo para Ly49Q no interfirió en la actividad de pDC de ratón (Blood, 1 de abril de 2005, vol. 105, No. 7, pág. 2787-2792).

La PLD es una enzima que cataliza una reacción de hidrólisis de la fosfatidilcolina para producir ácido fosfatídico y colina, y causa la señalización en varias células. Se contempla que el ácido fosfatídico producido funciona como una molécula de señal lipídica.

La PLD1 y PLD2 se conocen convencionalmente como dos tipos de PLD de mamíferos, y contienen el dominio de homología Phox (dominio PX), que es unible a fosfatidil inositido, y el dominio de homología de pleckstrina (dominio PH) en la región N terminal del mismo. Ambos dominios están implicados en la elección como diana de la membrana PLD.

La PLD1 y PLD2 contienen además dos secuencias His-x-Lys-x-x-x-Asp (motivo HKD). Este motivo HKD es un dominio esencial en la actividad de PLD.

Se ha contemplado que el ácido fosfatídico producido por PLD1 y PLD2 está implicado en la reconstitución del esqueleto celular, exocitosis, fagocitosis, cáncer, adhesión celular, quimiotaxis y similares, y actúa centralmente en el sistema nervioso, el sistema inmunitario y similares.

Aunque Hu-K4 humana y SAM9 de ratón se nombran oficialmente como PLD3 hasta ahora, carecen de los dominios PX y PH, y no muestran actividad PLD a pesar de que tienen dos motivos HKD. Además, aunque hay tres miembros de la familia PLD, es decir, PLD4, PLD5 y PLD6, estos PLD no clásicos son poco conocidos.

Se buscó en la base de datos de transcriptomas de desarrollo cerebeloso (CDT-DB) para determinar el patrón de expresión génica en el desarrollo del cerebelo de ratón y, como resultado de ello, se identificó PLD4, que era un producto de transcripción que se controló en el momento del desarrollo (véase Tao et al., Nat. Methods 2(8), 591-598 (2005)). Las características básicas de PLD4 no han sido referidas. Se considera que se debe determinar a partir de ahora si PLD4 exhibe o no actividad enzimática, y si una forma desglicosilada de PLD4 tiene actividad PLD o no.

La PLD4 es una secuencia de 506 aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 1 (Tao et al., Nat. Methods 2(8), 591-598 (2005) y Clark et al., Genome Res. 13(10), 2265-2270 (2003)). La proteína PLD4 tiene dos regiones PDE inciertas (motivo fosfodiesterasa), que están constituidas por dos motivos HKD (secuencia de aminoácidos de His-x-Lys-xxxx-Asp, en donde x son los otros aminoácidos) conservados en la región C-terminal, y un sitio de presunta fosforilación (Thr 472). La estructura de la proteína PLD4 se predice como una proteína transmembrana monotrópica de tipo II. Además, la región N terminal de la proteína PLD4 no tiene la región PX y la región PH, que son poseídas por PLD1 y PLD2 que son la familia PLD clásica (FIG. 1 y 2).

Por otro lado, aunque PLD4 pertenece a la familia PLD por el hecho de que tiene dos motivos HKD, PLD4 carece de dominio PX y dominio PH, pero en cambio tiene un supuesto dominio transmembrana.

La expresión de ARNm de PLD4, que fue característicamente de un nivel bajo a un nivel medio, se encontró en una subpoblación celular que se localizó preferentemente en el cuerpo calloso y la periferia de la región de la materia blanca, incluida la materia blanca del cerebelo de un ratón 1 semana después del nacimiento. Estas células que expresan el ARNm de PLD4 se han identificado como microglía Ibal positiva (véase Tao et al., Nat. Methods 2(8), 591-598 (2005)).

El período de 1 semana después del nacimiento es un período en el que la activación de la formación de mielina comienza en el cuerpo calloso y en la sustancia blanca cerebelosa de un ratón. En este período, el PLD4 se expresa altamente en la microglía ameboide (estado activado) que existe en la materia blanca. A partir de estos hechos, se contempla la posibilidad de que la célula de expresión de PLD4 en la materia blanca esté involucrada en la formación de mielina en este período. Particularmente, se hace evidente la acumulación de PLD4 en la vesícula fagocítica, y se sugiere la posibilidad de que la célula de expresión de PLD4 esté involucrada en la fagocitosis. Desde la microglía ameboide en el estado activado, se secretan varias citocinas o factores de crecimiento, y la

fagocitosis también se activa. Se contempla que el oligodendrocito adicional (célula de la glía en el sistema nervioso central, que forma la mielina a medida que se enrolla y se une al axón) causa la apoptosis en la materia blanca del cerebro en la etapa de desarrollo. Se ha contemplado la posibilidad de que el oligodendrocito extra se degrade y se elimine de la microglía ameboide para secretar una molécula señal, por medio de lo cual se organiza el entorno para la formación de mielina en la materia blanca. Se sugiere que la PLD4 está implicada en estos procesos, incluida la formación de mielina.

La expresión del ARNm de PLD4 también se observa universalmente en tejidos no nerviosos, pero se distribuye principalmente en el bazo. La fuerte expresión de PLD4 se detecta en la periferia de la zona limítrofe de la pulpa roja del bazo, y la proteína PLD4 esplénica recolectada de la fracción de membrana en la célula está altamente N-glicosilada. Cuando PLD4 se expresó en un sistema celular heterogéneo, se localizó en el retículo endoplásmico y el cuerpo de Golgi. La PLD4 expresada de forma heteróloga no mostró la actividad enzimática de PLD (Plos ONE www.plosone.org, noviembre de 2010, Volumen 5, Número 11, e13932).

A partir del patrón de expresión de PLD4 limitado en términos de tiempo y ubicación, se sugiere que PLD4 desempeña un papel en las funciones comunes en la microglía o en la célula en la región limítrofe del bazo en el momento del desarrollo cerebral en la etapa inicial después del nacimiento.

La expresión del ARNm de PLD4 y la distribución de PLD4 en el tejido nervioso y en el tejido no nervioso se han analizado anteriormente. Sin embargo, los autores de la presente invención descubrieron que el ARNm de PLD4 se expresa sumamente de manera específica en una célula pDC en la etapa de reposo (pDC en reposo) a nivel de una especie celular descrita a continuación.

El anticuerpo policlonal de ratón anti-PLD4 humana contra la proteína PLD4 humana completa está disponible comercialmente (anticuerpo policlonal de ratón MaxPab purificado contra PLD4 (B01P), número de catálogo H00122618-B01P, fabricado por Abnova Corporation). Sin embargo, no se ha obtenido un anticuerpo monoclonal que se una solo a un determinado sitio de PLD4, o un anticuerpo monoclonal que pueda unirse específicamente a PLD4.

## Lista de referencias

### Literatura no relacionada con patentes

- (1) Tao et al., Nat. Methods 2(8), 591-598 (2005)
- (2) Clark et al., Genome Res. 13(10), 2265-2270 (2003)
- (3) Plos ONE www.plosone.org, noviembre de 2010, Volumen 5, Tema 11, e13932
- (4) Catalog of mouse PLD4 polyclonal antibody against full length human PLD4 protein (Abnova, número de catálogo H00122618-B01P)
- (5) Dzionek, A. et al. J.Immunol. 165: 6037-6046, 2000
- (6) J. Exp. Med.194: 1823-1834, 2001
- (7) Blood 1 de junio de 2004; 103/11: 4201-4206. Epub dic. 2003
- (8) J. Immunol. 2003, 171: 6466-6477
- (9) Blood, 1 de abril de 2005, vol. 105, Núm. 7, pág. 2787-2792
- (10) Nat. Methods 2(8), 591-598 (2005)

### Compendio de la invención

#### Problema técnico

Un problema a resolver por la invención es proporcionar un anticuerpo que se una a PLD4, y detectar, identificar o aislar la pDC. Además, un problema a resolver por la invención es regular la actividad de las pDC.

#### Solución al problema

Los autores de la presente invención confirmaron a través de una investigación para PLD4 que la expresión de PLD4 aumenta específicamente en pDC, particularmente pDC en la etapa de reposo, además de pDC en la etapa activa. En consecuencia, los autores de la presente invención probaron la preparación del anticuerpo contra PLD4 y el esclarecimiento de su acción.

Con el fin de obtener un anticuerpo que reconozca una ligera cantidad de una proteína derivada de un organismo vivo, se utiliza generalmente como inmunógeno una proteína preparada mediante tecnología de genes recombinantes. Los autores de la presente invención probaron la expresión de PLD4 basándose en la información de la secuencia de bases del ADNc de PLD4, y una secuencia de aminoácidos (Núm. Acceso GenBank NM\_138790.2) codificada por la misma, que ya ha sido revelada (Nat. Methods 2(8), 591-598 (2005)).

Con el fin de obtener un anticuerpo de una proteína, a menudo se intenta el uso de una secuencia parcial de aminoácidos de una proteína natural como inmunógeno. Sin embargo, para que un anticuerpo reconozca una molécula en la superficie celular, es necesario seleccionar una región que constituya una parte reconocida por el anticuerpo tal como un epítipo en la superficie celular. Por consiguiente, se ha contemplado que no es realista utilizar una secuencia de aminoácidos fragmento como un inmunógeno para obtener un anticuerpo específico para PLD4.

Bajo tales circunstancias, los autores de la presente invención revelaron que el uso de un inmunógeno especial permite obtener un anticuerpo que se une a pDC. Además, los autores de la presente invención confirmaron que el anticuerpo así obtenido reconoce específicamente la pDC humana, y además tiene una acción de regulación de su actividad, y completaron la invención. Es decir, la invención se refiere a un anticuerpo anti-PLD4, a un método de preparación del mismo, y a su uso descrito a continuación.

La invención es la siguiente:

- (1) Un anticuerpo monoclonal, o un fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína de la fosfolipasa D4 humana (PLD4) en una célula dendrítica plasmocitoide.
- (2) El anticuerpo monoclonal, o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo como se describe en el apartado (1) mencionado anteriormente,

(a) que tiene la secuencia SYWMH (SEQ ID NO: 2) como CDR1, la secuencia DIYPGSDSTNYNEKFKS (SEQ ID NO: 3) como CDR2, y la secuencia GGWLDAMDY (SEQ ID NO: 4) como CDR3 en la región variable de cadena pesada;

(b) que tiene la secuencia RASQDISNYLN (SEQ ID NO: 5) como CDR1, la secuencia YTSRLHS (SEQ ID NO: 6) como CDR2, y la secuencia QQGNTLPW (SEQ ID NO: 7) como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(c) que tiene la secuencia SYWMH como CDR1, la secuencia DIYPGSDSTNYNEKFKS como CDR2 y la secuencia GGWLDAMDY como CDR3 en la región variable de cadena pesada, y tiene la secuencia RASQDISNYLN como CDR1, la secuencia YTSRLHS como CDR2, y la secuencia QQGNLLPWC en la región variable de cadena ligera;

(d) que tiene la secuencia TYWMH (SEQ ID NO: 8) como CDR1, la secuencia AIYPGNSETSYNQKFKG (SEQ ID NO: 9) como CDR2, y la secuencia GYSDFDY (SEQ ID NO: 10) como CDR3 en la región variable de cadena pesada (anticuerpo 8C11);

(e) que tiene la secuencia HASQGIRSNIG (SEQ ID NO: 11) como CDR1, la secuencia HGTLNED (SEQ ID NO: 12) como CDR2 y la secuencia VQYVQFP (SEQ ID NO: 13) como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(f) que tiene la secuencia TYWMH como CDR1, la secuencia AIYPGNSETSYNQKFKG como CDR2, y la secuencia GYSDFDY como CDR3 en la región variable de cadena pesada, y tiene la secuencia HASQGIRSNIG como CDR1, la secuencia HGTLNED como CDR2, y la secuencia VQVVVQQQ en la región variable de cadena ligera;

(g) que tiene la secuencia DYNLH (SEQ ID NO: 14) como CDR1, la secuencia YIYPYNGNTGYNQKFKR (SEQ ID NO: 15) como CDR2, y la secuencia GGIYDDYYDYAIDID (SEQ ID NO: 16) como CDR3 en la región de la cadena de la cadena pesada;

(h) que tiene la secuencia RASENIYSHIA (SEQ ID NO: 17) como CDR1, la secuencia GATNLAH (SEQ ID NO: 18) como CDR2 y la secuencia QHFWGTP (SEQ ID NO: 19) como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(i) que tiene la secuencia DYNLH como CDR1, la secuencia YIYPYNGNTGYNQKFKR como CDR2, y la secuencia GGIYDDYYDYAIDY como CDR3 en la región variable de cadena pesada, y tiene la secuencia RASENIYSHIA como CDR1, la secuencia GATNLAH como CDR2, y la secuencia QHFWGTP como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(j) que tiene la secuencia SYLY (SEQ ID NO: 20) como CDR1, la secuencia LINPTNSDTIFNEKFKS (SEQ ID NO: 21) como CDR2, y la secuencia EGGYGYGPFAY (SEQ ID NO: 22) como CDR3 en la región variable de cadena pesada;

(k) que tiene la secuencia TSSQTLVHNSNGNTYLH (SEQ ID NO: 23) como CDR1, la secuencia KVSRRFS (SEQ ID NO: 24) como CDR2, y la secuencia HSTHVP (SEQ ID NO: 25) como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(l) que tiene la secuencia SYLY como CDR1, la secuencia LINPTNSDTIFNEKFKS como CDR2, y la secuencia EGGYGYGPFAY como CDR3 en la región variable de cadena pesada, y tiene la secuencia TSSQTLVHNSNGNTYLH como CDR1, la secuencia KVSRRFS como CDR2, y la secuencia HSTHVP como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(m) que tiene la secuencia SYGMS (SEQ ID NO: 26) como CDR1, la secuencia TISSGGSYIYPESVKG (SEQ ID NO: 27) como CDR2 y la secuencia LYGGRRGYGLDY (SEQ ID NO: 28) como CDR3 en la región variable de cadena pesada;

(n) que tiene la secuencia RSSKSLHSDGITYLY (SEQ ID NO: 29) como CDR1, la secuencia QMSNLAS

(SEQ ID NO: 30) como CDR2, y la secuencia AQNLEL (SEQ ID NO: 31) como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(o) que tiene la secuencia SYGMS como CDR1, la secuencia TISSGGSYIYPESVKG como CDR2, y la secuencia LYGGRRGYGLDY como CDR3 en la región variable de cadena pesada, y tiene la secuencia RSSKSLHSDGITYLY como CDR1, la secuencia QMSNLAS como CDR2, y la secuencia AQNLEL como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(p) que tiene la secuencia SHYYWT (SEQ ID NO: 32) como CDR1, la secuencia YISYDGSNNYNPSLKN (SEQ ID NO: 33) como CDR2, y la secuencia EGPLYYGPNPYWYFDV (SEQ ID NO: 34) como CDR3 en la región variable de cadena de la cadena pesada;

(q) que tiene la secuencia RASQDIDNYLN (SEQ ID NO: 35) como CDR1, la secuencia YTSRLHS (SEQ ID NO: 36) como CDR2 y la secuencia QQFNTLP (SEQ ID NO: 37) como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(r) que tiene la secuencia SHYYWT como CDR1, la secuencia YISYDGSNNYNPSLKN como CDR2, y la secuencia EGPLYYGPNPYWYFDV como CDR3 en la región variable de cadena pesada, y tiene la secuencia RASQDIDNYLN como CDR1, la secuencia YTSRLHS, como CDR2, y la secuencia QQFNTLP como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(s) que tiene la secuencia SHYYWS (SEQ ID NO: 38) como CDR1, la secuencia YISYDGSNNYNPSLKN (SEQ ID NO: 39) como CDR2, y la secuencia EGPLYYGPNPYWYFDV (SEQ ID NO: 40) como CDR3 en la región variable de cadena pesada;

(t) que tiene la secuencia RASQDIDNYLN (SEQ ID NO: 41) como CDR1, la secuencia YTSRLHS (SEQ ID NO: 42) como CDR2 y la secuencia QQFNTLP (SEQ ID NO: 43) como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(u) que tiene la secuencia SHYYWS como CDR1, la secuencia YISYDGSNNYNPSLKN como CDR2, y la secuencia EGPLYYGPNPYWYFDV como CDR3 en la región variable de cadena pesada, y tiene la secuencia RASQDIDNYLN como CDR1, la secuencia YTSRLHS como CDR2, y la secuencia QQFNTLP como CDR3 en la región variable de cadena ligera.

(3) El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contienen la región de unión a antígeno del mismo como se describe en el apartado (2) mencionado anteriormente, que tiene una cadena pesada expuesta en SEQ ID: 121 y una cadena ligera expuesta en SEQ ID: 123.

(4) El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo como se describe en cualquiera de los apartados (1) a (3) mencionados anteriormente, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo suprimen una actividad de la célula dendrítica plasmocitoide.

(5) El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo como se describe en el apartado (4) mencionado anteriormente, en donde la actividad es la producción de interferón (IFN) y/o la supervivencia de la célula dendrítica plasmocitoide.

(6) El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo como se describe en cualquiera de los apartados (1) a (5) mencionados anteriormente, en donde el anticuerpo es un anticuerpo quimérico o un anticuerpo humanizado.

(7) Un anticuerpo monoclonal, o un fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo, producido por cualquiera de los hibridomas mp5B7, mp7B4, mp13D4 y mp13H11 que se depositan bajo los Números de Acceso: NITE BP-1211, NITE BP-1212, NITE BP-1213, y NITE BP-1214.

(8) Un método para preparar una célula que produce un anticuerpo monoclonal que se une a PLD4 como se describe en cualquiera de los apartados (1), (4) y (5) mencionados anteriormente, que contienen los siguientes procedimientos;

1) un procedimiento de administración de la proteína de fusión PLD4-Ig recombinante que codifica una secuencia de aminoácidos que contiene un dominio extracelular de PLD4, para inmunizar a un animal, y

2) un procedimiento de selección de una célula productora de anticuerpos que produce un anticuerpo que se une a PLD4 a partir de células productoras de anticuerpos del animal inmunizado mediante la unión de dicho anticuerpo de unión a PLD4 a una célula que expresa PLD4; y opcionalmente

3) un procedimiento de clonación de las células productoras de anticuerpos obtenidas de forma gradual.

(9) El método descrito en el apartado (8) mencionado anteriormente, en el que la célula que expresa PLD4 es una célula que retiene un polinucleótido extrínseco que codifica una secuencia de aminoácidos que contiene el dominio extracelular de PLD4 de una manera expresable.

(10) Un método para preparar un anticuerpo monoclonal que se une a un dominio extracelular de PLD4, que comprende cultivar células productoras de anticuerpos obtenidas mediante el método descrito en el apartado (9) mencionado anteriormente, y recoger un anticuerpo monoclonal del cultivo.

(11) El anticuerpo monoclonal, o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo como se describe en cualquiera de los apartados (1), (4) y (5) mencionados anteriormente, que pueden obtenerse mediante los siguientes procedimientos;

1) administrando una proteína de fusión PLD4-Ig recombinante que codifica una secuencia de

aminoácidos que contiene un dominio extracelular de PLD4, para inmunizar a un animal,

2) seleccionando una célula productora de anticuerpos que produce un anticuerpo que se une a PLD4 a partir de células productoras de anticuerpos del animal inmunizado, y

3) cultivando las células productoras de anticuerpos seleccionadas en el procedimiento 2), y recolectando un anticuerpo que reconoce PLD4 del cultivo.

(12) Un método *ex vivo* un para detectar una célula dendrítica plasmocitoide, que comprende poner en contacto con una célula de prueba el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno como se describe en cualquiera de los apartados (1) a (7) mencionados anteriormente, y detectar el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo que se une a la célula.

(13) El uso del anticuerpo monoclonal, o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo como se describe en cualquiera de los apartados (1) a (7) mencionados anteriormente como un reactivo para la detección de una célula dendrítica plasmocitoide *ex vivo*

(14) Un método para suprimir una actividad de una célula dendrítica plasmocitoide humana, *ex vivo* que comprende poner en contacto con la célula cualquiera de los componentes descritos a continuación:

(a) el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo como se describe en cualquiera de los apartados (1) a (7) mencionados anteriormente, y

(b) una inmunoglobulina o un fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno en la que se transplantan las regiones determinantes de complementariedad del anticuerpo monoclonal de cualquiera de los apartados (1) a (7) mencionados anteriormente.

(15) Cualquiera de:

(a) el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo como se describe en cualquiera de los apartados (1) a (7) mencionados anteriormente, y

(b) una inmunoglobulina o un fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo, en los que las regiones determinantes de la complementariedad del anticuerpo monoclonal de cualquiera de los apartados (1) a (7) mencionados anteriormente se trasplantan para su uso en un método de suprimir una actividad de una célula dendrítica plasmocitoide humana en un organismo vivo, que comprende administrar cualquiera de (a) y (b) al ser humano vivo.

## Efectos de la invención

La invención proporciona un anticuerpo monoclonal que se une a PLD4 humana en una célula dendrítica plasmocitoide. PLD4 es una proteína de membrana que pertenece a la familia PLD. Los autores de la presente invención revelaron que se puede obtener fácilmente un anticuerpo que reconoce específicamente PLD4. El anticuerpo anti-PLD4 que se puede obtener mediante la invención es un anticuerpo que tiene una alta especificidad, que distingue la pDC humana de una célula que expresa otras familias de PLD.

El anticuerpo anti-PLD4 proporcionado por la invención se une a pDC humana. Además, el anticuerpo de la invención reconoce específicamente la pDC humana. Por consiguiente, el anticuerpo de la invención es útil para la detección o el aislamiento de pDC. La pDC es una célula que produce la mayoría de IFN tipo 1. En consecuencia, tal detección o aislamiento es importante en el diagnóstico o la investigación de enfermedades asociadas con la pDC, tales como las enfermedades autoinmunitarias.

Además, en un aspecto preferido, el anticuerpo anti-PLD4 proporcionado por la invención tiene una acción de regulación de la actividad de pDC humana. Por consiguiente, el anticuerpo anti-PLD4 de la invención se puede utilizar para suprimir la actividad de pDC. Por consiguiente, si se emplea la supresión de la actividad de pDC utilizando el anticuerpo de la invención, se pueden esperar efectos terapéuticos para un paciente de una enfermedad autoinmunitaria en la que ha aumentado la expresión de IFN $\alpha$ .

La pDC produce una gran cantidad de IFN en un pequeño número de células. En la neutralización de IFN, es necesario un anticuerpo, que depende del número de moléculas de IFN. Sin embargo, en la invención, la actividad de la célula de producción se suprime directamente. Como resultado de ello, se puede esperar un potente efecto de supresión de IFN con menos cantidad de anticuerpo en comparación con la neutralización de un anticuerpo anti-IFN. Además, en caso de que el IFN se produzca de manera continua, se espera que la neutralización por el anticuerpo contra IFN se mantenga como supresión transitoria. Sin embargo, en la invención, la actividad de pDC se suprime, y de esto, se puede esperar un efecto de supresión de la producción de IFN durante un tiempo prolongado.

## Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1 es un diagrama que ilustra la secuencia de aminoácidos de la proteína PLD4 (C14orf175) humana

(506 residuos). Se contempla que los 31 a 53 residuos del extremo N-terminal son un dominio transmembrana como se analiza utilizando el "programa SOSUI ([http://bp.nuap.nagoya-u.ac.jp/sosui/sosui\\_submit.html](http://bp.nuap.nagoya-u.ac.jp/sosui/sosui_submit.html))", que es el sistema de predicción para una región transmembrana. Los residuos 54 a 506 contienen dos motivos fosfodiesterasa, y se predice que esta proteína es una proteína transmembrana de tipo II;

La FIG. 2 es un diagrama esquemático que representa una estructura predicha de la proteína PLD4 humana. La estructura tiene dos motivos HKD (HxKxxxxD) en los residuos del aminoácido 506, y el residuo de treonina 472 es posiblemente un sitio de fosforilación;

La FIG. 3 es un gráfico que ilustra la homología de la proteína PLD4 humana con especies moleculares homólogas en un animal heterogéneo. La proteína PLD4 se ha conservado en el procedimiento de evolución de un ratón a un ser humano;

La FIG. 4 es un gráfico que ilustra la homología con la familia de proteínas PLD4 humana (paróloga);

La FIG. 5 es un gráfico que ilustra la expresión específica de pDC humana del gen PLD4 en una célula responsable de la inmunidad humana. La expresión del gen PLD4 es alta en pDC en la etapa de reposo, y la expresión es baja en células B CD19<sup>+</sup>;

La FIG. 6 es un gráfico que ilustra el patrón de expresión tisular del ARNm de PLD4 humana. La expresión es alta en el bazo y en los leucocitos de sangre periférica;

La FIG. 7 es un diagrama esquemático que ilustra la estructura de la proteína de fusión PLD4-Ig humana recombinante. Un fragmento de ADNc que corresponde al dominio extracelular de PLD4 humana (56-506 aminoácidos) se amplificó mediante PCR. Este fragmento se insertó en el sitio de clonación BamHI-EcoRI del vector de expresión pcDNA3.1 de N-Flag que contiene el segmento líder de IgK de ratón y la región Fc constante de cadena pesada de IgG2a de ratón (bisagra + CH2 + CH3) en el extremo N terminal. La célula 293F se transfectó temporalmente con un plásmido y se recogió el sobrenadante del cultivo;

La FIG. 8 es un diagrama de análisis FACS que ilustra la especificidad de unión a PLD4 humana. Los anticuerpos mp11G9.6 y ch11G9.6 reconocen específicamente PLD4 humana, pero no reconocen transfectantes PLD3-293T o PLD5-293T humanos;

La FIG. 9 es un diagrama de análisis FACS que ilustra la reactividad cruzada con PLD4 de mono cinomolgo. Los anticuerpos mp11G9.6 y ch11G9.6 fueron capaces de reconocer PLD4 de mono cinomolgo en el transfectante 293T;

La FIG. 10 es un diagrama de medición FACS que ilustra la tinción en el anticuerpo mp11G9.6 de PBMC humanas. El anticuerpo mp11G9.6 reconoció fuertemente pDC BDCA2<sup>+</sup> en PBMC humanas;

La FIG. 11 es un diagrama de análisis FACS que ilustra la tinción en el anticuerpo anti-PLD4 purificado de células CAL-1;

La FIG. 12 es un diagrama de análisis FACS que ilustra la tinción en el anticuerpo anti-PLD4 de la cepa de células estable PLD4-CT125 humana;

La FIG. 13 es un diagrama de análisis FACS que ilustra la tinción en el anticuerpo anti-PLD4 de las PBMC humanas. Todos los anticuerpos anti-PLD4 fueron capaces de reconocer pDC BDCA2<sup>+</sup> en PBMC humanas;

La FIG. 14 es un diagrama que representa la alineación múltiple y la homología de las proteínas de PLD humana, PLD4 de mono cinomolgo, PLD4 de mono rhesus y PLD4 de ratón;

La FIG. 15 es un diagrama de análisis FACS que ilustra la tinción en el anticuerpo anti-PLD4 con la introducción del gen transitorio del vector de expresión PLD4 del mono cinomolgo etiquetado con Flag en células PLD4-293T humanas. La expresión en la superficie celular de la proteína PLD4 de mono cinomolgo se confirmó en el anticuerpo anti-Flag;

La FIG. 16 es un diagrama de medición FACS que ilustra la tinción en el anticuerpo anti-PLD4 de células PLD4-CT125 de mono cinomolgo. Entre los anticuerpos anti-PLD4, siete (3B4, 5B7, 7B4, 13D4, 13H11, 14C1 y 11G9.6) pueden unirse al transfectante estable PLD4-CT125 del mono cinomolgo;

La FIG. La Fig. 17 es un diagrama de análisis FACS que ilustra la tinción en el anticuerpo anti-PLD4, con la introducción transitoria del gen del vector de expresión PLD4 del mono rhesus etiquetado con Flag en la célula PLD4-293T humana. La expresión en la superficie celular de la proteína PLD4 del mono rhesus se confirmó en el anticuerpo anti-Flag;

La FIG. 18-1 y la FIG. 18-2 son diagramas de análisis FACS que ilustran la tinción en el anticuerpo anti-PLD4 de las PBMC de monos rhesus. Entre los anticuerpos anti-PLD4, cinco (5B7, 7B4, 13D4, 13H11 y 14C1) se unieron específicamente a la población de células pDC (Linaje-CD123 + HLA-DR+) de mono cinomolgo en PBMC de mono rhesus;

La FIG. 19 es un gráfico que ilustra la concentración molar de la constante de disociación (unidad nM, valor Kd) del anticuerpo anti-PLD4 contra la cepa celular estable PLD4-CT125 humana;

La FIG. 20 es un gráfico que ilustra la actividad CDC de diez tipos de anticuerpos anti-PLD4. Célula diana: PLD4-CT125 humana (linfocito de células T 2B4 de ratón), concentración de anticuerpo transfectante estable: 10 µg/mL, efector: complemento de conejo inmaduro al 1%;

La FIG. 21 es un gráfico que ilustra la actividad de CDC de los anticuerpos anti-PLD4 (anticuerpo mp11G9.6 y anticuerpo ch11G9.6). Célula diana: PLD4-CT125 humana (linfocito de células T 2B4 de ratón), concentración de anticuerpo transfectante estable: 0,1 µg/mL a 30 µg/ml, efector: complemento de conejo inmaduro al 1%;

La FIG. 22 es un gráfico que ilustra la actividad ADCC del anticuerpo quimérico anti-PLD4. Célula diana: PLD4-CHO humana, concentración de anticuerpo transfectante estable: 10 µg/ml;

La FIG. 23 es un gráfico que ilustra la medición con ELISA de la inhibición de la secreción de IFN-α mediante



tratamiento con anticuerpo quimérico anti-PLD4 (ch11G9.6) en PBMC humanas aisladas de tres individuos sanos; y

La FIG. 24 es un diagrama que ilustra la pérdida de pDC humana después del tratamiento con anticuerpo quimérico anti-PLD4.

La FIG. 25 es un resultado del ensayo ADCC con Ab quiméricos anti-PLD4 contra pDC primarias humanas.

La FIG. 26 es la producción de IFN $\alpha$  a partir de PBMC por CpG2216 en presencia de Ab anti-PLD4 quiméricos.

#### Modo de llevar a cabo la invención.

Los autores de la presente invención encontraron que PLD4 es una molécula que se expresa específicamente a nivel de ARNm y a nivel de proteína en una célula dendrítica plasmocitoide en la etapa de reposo (pDC en reposo). No se ha establecido un método para preparar un anticuerpo que reconozca PLD4.

Existe un informe de que la PLD4 de ratón es una molécula que se expresa en microglia ameboide (estado activado) en la etapa de desarrollo en el cerebelo o en el cuerpo calloso en la etapa inicial después del nacimiento. Sin embargo, la expresión de PLD4 humana no se conoce hasta ahora. Particularmente, la expresión en el sistema inmunológico, la ubicación intracelular, la estructura, la función y similares de PLD4 humana no se han referido hasta ahora. La invención confirmó que la PLD4 humana, que hasta ahora se contemplaba que solo se expresaba en el citoplasma, es un marcador de la superficie celular que se expresa en células plasmocitoides dendríticas (pDC) como proteína transmembrana de tipo II. En consecuencia, es posible la unión del anticuerpo contra PLD4 a pDC, y se ha demostrado que el anticuerpo contra PLD4 es útil como diana molecular de un anticuerpo terapéutico destinado a regular las funciones de las células B y las células pDC.

Los autores de la presente invención confirmaron mediante análisis de expresión génica que PLD4 se expresa específicamente en pDC humana. Se considera que si se obtiene un anticuerpo que pueda distinguir PLD4 inmunológicamente de otras moléculas, éste sería útil para la investigación de pDC. Sin embargo, existen muchas moléculas en la familia PLD, incluyendo PLD4, que tienen una estructura muy similar entre sí. Moléculas tales como PLD1, PLD2, PLD3 y PLD5, incluyendo PLD que es PLD4, abarcan una secuencia de aminoácidos que tiene una homología particularmente alta (Figura 4). Por consiguiente, se consideró que es difícil obtener un anticuerpo que distinga mutuamente estas moléculas utilizando un inmunógeno de un péptido que emplea una secuencia de aminoácidos (una secuencia parcial) que constituye PLD4 (o dominio extracelular). En consecuencia, los autores de la presente invención intentaron la adquisición de un anticuerpo contra PLD4 utilizando una proteína de fusión PLD4-Ig recombinante como inmunógeno, que codifica una secuencia de aminoácidos que abarca el dominio extracelular de PLD4.

Los autores de la presente invención repitieron las investigaciones para adquirir un anticuerpo que reconoce PLD4 y revelaron que el anticuerpo deseado se obtiene utilizando una proteína de fusión PLD4-Ig recombinante como inmunógeno, y completaron la invención. Es decir, la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal que se une a un dominio extracelular de PLD4, o un fragmento que contiene una región de unión a antígeno del mismo.

En la invención, PLD4 es una molécula natural que se expresa en pDC humana, o una molécula inmunológicamente equivalente a PLD4 que se expresa en pDC humana. En la invención, la unión de un anticuerpo a PLD4 se puede confirmar, por ejemplo, como se describe a continuación.

Confirmación basada en la reactividad con células humanas:

De acuerdo con los hallazgos obtenidos por los autores de la presente invención, se contempla que se puede utilizar PLD4 como marcador de pDC, debido al hecho de que exhibe expresión específica en pDC humana.

Basándose en dicho perfil de expresión de PLD4, la actividad de unión a al menos un subconjunto parcial de pDC es una de las características importantes del anticuerpo que se une a PLD4 en la invención. El hecho de que alguna célula sea pDC puede confirmarse mediante un marcador de superficie celular inherente en cada familia de células. Por ejemplo, la unión a una célula deseada se confirma mediante doble tinción de un anticuerpo que se une a un marcador de la superficie celular y se confirma que un anticuerpo confirma la actividad de unión. Es decir, pDC en la invención abarca células que expresan, por ejemplo, BDCA2.

Confirmación basada en la reactividad con células transformadas que expresan el gen PLD4:

Los autores de la presente invención confirmaron que las características inmunológicas de PLD4 que se expresan en pDC humana se reconstituyen cuando el gen de PLD4 se expresa en ciertas condiciones. Por consiguiente, la reactividad con PLD4 también puede confirmarse basándose en la reactividad de un anticuerpo para una célula en la que se introduce artificialmente un gen que codifica PLD4. Es decir, la invención se refiere a un anticuerpo monoclonal que se une a una molécula que contiene una secuencia de aminoácidos que constituye el dominio extracelular de PLD4 como dominio extracelular, o un fragmento que contiene una región de unión a antígeno del mismo. Paralelamente, el dominio extracelular está constituido

por una secuencia de aminoácidos que corresponde a 54 a 506 desde el extremo N-terminal en SEQ ID NO 1 (FIG. 1) de la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO 1.

Por ejemplo, en una célula que se transforma con un vector de expresión que abarca el ADN que codifica PLD4, se mantienen las características inmunológicas de PLD4 que se expresan en pDC humana. Por consiguiente, una célula transformada que expresa PLD4 es preferible como célula para confirmar la propiedad de unión de un anticuerpo al dominio extracelular de PLD4 en la invención. Cuando la reactividad de un anticuerpo por una célula transformada se confirma en la invención, se utiliza deseablemente como control una célula no transformada.

A continuación, el anticuerpo que se une a PLD4 en la invención puede ser un anticuerpo que muestra propiedades cruzadas con una familia celular que se sabe que expresa una familia de PLD diferente a PLD4, o puede ser un anticuerpo que no muestra dicha propiedad cruzada. El anticuerpo que no muestra ninguna propiedad cruzada es preferible como anticuerpo que se une a PLD4 en la invención. Específicamente, el anticuerpo que se une a PLD4 en la invención es preferiblemente un anticuerpo cuya unión a una familia de células que se sabe que expresan una familia de PLD distinta de PLD4 puede no estar confirmada, en las mismas condiciones que las condiciones en las que se confirma la unión a pDC.

Es decir, el anticuerpo monoclonal que se une a un dominio extracelular de PLD4 en la invención preferiblemente abarca un anticuerpo monoclonal que tiene las características inmunológicas descritas a continuación.

a) Unión a pDC humana,

b) La unión a una o varias especies de células seleccionadas de un grupo que consiste en monocitos, macrófagos, células CD34 positivas y células dendríticas derivadas de estas células puede no estar confirmada, en condiciones que permiten la unión a la pDC humana.

Particularmente, el anticuerpo monoclonal de la invención es preferiblemente un anticuerpo cuya unión a monocitos, macrófagos, células B, células CD34 positivas y células dendríticas derivadas de estas células puede no estar confirmada, en condiciones que permiten la unión a pDC humana.

Alternativamente, el anticuerpo monoclonal que se une a un dominio extracelular de PLD4 en la invención preferiblemente abarca un anticuerpo monoclonal que tiene características inmunológicas que se describen a continuación.

c) Unión a una célula transformada que se transforma con un vector de expresión que retiene el ADN que codifica PLD4 de una manera expresable,

d) La unión a la célula anfitriona de c) antes de ser transformada puede no estar confirmada, en condiciones que permitan la unión a la célula transformada c).

El hecho de que el anticuerpo monoclonal anti-PLD4 no se cruce con otras moléculas de la familia PLD en la invención, puede confirmarse empleando una célula en la que cada familia PLD se expresó obligatoriamente. Es decir, la expresión obligatoria se realiza mediante la introducción de ADNc que codifica la secuencia de aminoácidos de cada familia PLD en una célula anfitriona apropiada. La célula transformada obtenida se pone en contacto con el anticuerpo monoclonal anti-PLD4 para confirmar la propiedad cruzada. Si no se muestra la unión a una célula que exprese moléculas de la familia PLD distintas de PLD4, se puede confirmar que el anticuerpo puede distinguir inmunológicamente PLD4 de otras moléculas de la familia PLD. Por ejemplo, se confirma en los ejemplos que se describen a continuación que la mayoría de los anticuerpos monoclonales anti-PLD4 obtenidos por la invención no se cruzan con PLD3 y PLD5 que tienen una homología particularmente alta con PLD4, y adicionalmente con PLD1 y PLD2. Por consiguiente, el anticuerpo monoclonal en la invención es preferiblemente un anticuerpo monoclonal que se une a PLD4, pero cuya unión a PLD3, PLD5, PLD1 o PLD2 no se puede detectar en las mismas condiciones. Si se utiliza un anticuerpo que puede distinguir inmunológicamente estas moléculas de la familia PLD de PLD4, se puede detectar específicamente el cambio en la expresión de PLD4.

La unión de un anticuerpo monoclonal cuya actividad de unión se debe confirmar, a cada especie de una célula, se puede confirmar, por ejemplo, en el principio de citometría de flujo. Con el fin de confirmar la reactividad de un anticuerpo mediante el principio de citometría de flujo, es ventajoso marcar el anticuerpo con una molécula o grupo de átomos que produce una señal detectable. Generalmente, se utiliza una etiqueta fluorescente o una etiqueta luminiscente. Para analizar la unión de un anticuerpo marcado con fluorescencia a una célula mediante el principio de citometría de flujo, se puede utilizar un clasificador de células activadas por fluorescencia (FACS). Al utilizar FACS, se pueden confirmar eficazmente los enlaces múltiples de un anticuerpo a una célula.

Específicamente, por ejemplo, un anticuerpo A que se sabe preliminarmente que es capaz de identificar pDC, y un anticuerpo B que se debe analizar para determinar las características de unión a pDC, se hacen reaccionar al mismo tiempo con una familia de células que abarca pDC. El anticuerpo A y el anticuerpo B están en la marca con una señal fluorescente que puede distinguirlos entre sí. Si ambas señales se detectan en la misma familia de células, se

puede confirmar que dichos anticuerpos se unen a la misma familia de células. Es decir, se encuentra que el anticuerpo A y el anticuerpo B tienen las mismas características de unión. Si el anticuerpo A y el anticuerpo B se unen a una familia celular diferente, es evidente que las características de unión de ellos son diferentes entre sí.

- 5 Los ejemplos de anticuerpos monoclonales preferidos en la invención incluyen, por ejemplo, anticuerpos monoclonales producidos por hibridomas mp5B7, mp7B4, mp13D4 y mp13H11.

10 Los hibridomas mp5B7, mp7B4, mp13D4 y mp13H11 se depositaron bajo los Números de Acceso: NITE BP-1211, NITE BP-1212, NITE BP-1213 y NITE BP-1214 en el National Institute of Technology and Evaluation (NITE) Patent Microorganisms Depositary el 27 de enero de 2012. Los contenidos para especificar el depósito se describirán a continuación.

(1) Nombre y dirección de la autoridad de depósito

15 Nombre: National Institute of Technology and Evaluation (NITE) Advanced Industrial Science and Technology Patent Microorganisms Depositary  
Dirección: 2-5-8 Kazusakamatari, Kisarazu-shi, Chiba-ken, 292-0818 JAPÓN

(2) Fecha de depósito: 27 de enero de 2012

20 (3) Números de acceso NITE BP-1211 (hibridoma mp5B7)

NITE BP-1212 (hibridoma mp7B4)

NITE BP-1213 (hibridoma mp13D4)

25 NITE BP-1214 (hibridoma mp13H11)

El anticuerpo monoclonal de la invención puede ser un fragmento que contiene una región de unión a antígeno del mismo. Por ejemplo, como anticuerpo en la invención se puede utilizar un fragmento de anticuerpo que abarca un sitio de unión a antígeno que se produce mediante digestión enzimática de IgG. Específicamente, mediante digestión con papaína o pepsina, se puede obtener un fragmento de anticuerpo tal como Fab o F(ab')<sub>2</sub>. Además, un fragmento de inmunoglobulina que abarca una región variable en la que se transplanta una región de determinación de la complementariedad (CDR) de algún anticuerpo monoclonal, está incluido en el fragmento que contiene la región de unión al antígeno. Es ampliamente conocido que estos fragmentos de anticuerpos se pueden utilizar como una molécula de anticuerpo que tiene afinidad de unión a un antígeno. Alternativamente, se puede utilizar un anticuerpo construido por recombinación de genes siempre que mantenga la actividad necesaria para la unión al antígeno. Los ejemplos del anticuerpo construido mediante recombinación génica incluyen, por ejemplo, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo con CDR transplantada, un Fv de cadena única, un diacuerpo (diacuerpos), un anticuerpo lineal y un anticuerpo poliespecífico formado por fragmentos de anticuerpos. Se conoce un método para obtener tales anticuerpos basándose en un anticuerpo monoclonal o una célula productora de anticuerpos que lo produce.

El anticuerpo monoclonal de la invención se puede obtener utilizando la proteína de fusión PLD4-Ig recombinante, o una célula transformada que expresa PLD4 humana como inmunógeno. Es decir, la presente invención se refiere a un método para preparar una célula que produce un anticuerpo monoclonal que se une a un dominio extracelular de PLD4, que contiene los procedimientos siguientes.

- 45 (1) Procedimiento de administración de la proteína de fusión PLD4-Ig recombinante que codifica una secuencia de aminoácidos que contiene el dominio extracelular de PLD4 para inmunizar a un animal, y  
(2) procedimiento de selección de una célula productora de anticuerpos que produce un anticuerpo que se une a PLD4 de células productoras de anticuerpos del animal inmunizado mediante la unión de dicho anticuerpo de unión a PLD4 a una célula que expresa PLD4.

Las células productoras de anticuerpos obtenidas de este modo, o las células inmortalizadas de las células productoras de anticuerpos pueden cultivarse, y se puede recoger del cultivo un anticuerpo monoclonal deseado. Se conocen varios métodos como método para inmortalizar la célula productora de anticuerpos.

55 La célula transformada utilizada como inmunógeno en la invención se puede obtener, por ejemplo, preparando una célula en la que se conserva de manera expresable un polinucleótido extrínseco (a) que codifica la secuencia de aminoácidos que contiene el dominio extracelular de PLD4 descrito a continuación.

60 El polinucleótido extrínseco en la presente invención se refiere a un polinucleótido que se introduce artificialmente en una célula anfitriona. En caso de que se utilice una célula humana como célula, se introduce un gen humano en la célula humana. En dicha combinación, el polinucleótido introducido artificialmente también se conoce como el polinucleótido extrínseco. Por consiguiente, la expresión ectópica de PLD4 se engloba en la expresión de polinucleótido extrínseco.

El dominio extracelular de PLD4 en la invención se refiere a una secuencia de aminoácidos de las posiciones 54-506 que corresponde al dominio extracelular en la secuencia de aminoácidos descrita en SEQ ID NO 1. Por ejemplo, son preferibles secuencias de aminoácidos que contienen cada una de las regiones en el orden siguiente desde el lado N-terminal como secuencia de aminoácidos que contiene el dominio extracelular de PLD4 en la invención.

[Región intracelular + dominio transmembrana + dominio extracelular]

Alternativamente, también se incluye en la secuencia de aminoácidos que contiene el dominio extracelular de PLD4 en la presente invención una secuencia de aminoácidos que carece parcialmente de la región intracelular como se describe a continuación.

[Región intracelular parcial + dominio transmembrana + dominio extracelular]

Además, en la secuencia de aminoácidos que contiene el dominio extracelular de PLD4 en la presente invención se incluye una estructura que carece de la región intracelular como se describe a continuación.

[Dominio transmembrana + dominio extracelular]

Otras regiones que el dominio extracelular en la estructura mencionada anteriormente pueden ser una secuencia seleccionada entre la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO 1, o pueden ser una combinación con otra secuencia de aminoácidos homóloga. Por ejemplo, se puede utilizar una secuencia de aminoácidos que constituye una secuencia señal, un dominio transmembrana y una región intracelular como secuencia de aminoácidos de moléculas de la familia PLD distintas de PLD4. Alternativamente, también se puede combinar la secuencia de aminoácidos de la familia PLD de otras especies que no sean humanas. Además, la secuencia de aminoácidos que constituye otras regiones distintas del dominio extracelular puede contener mutación dentro de un rango en el que se pueden mantener cada una de las funciones de las regiones. Además, se pueden interponer otras regiones entre cada una de las regiones. Por ejemplo, entre la secuencia señal y el dominio extracelular, también se puede insertar una etiqueta epitópica tal como FLAG. Particularmente, la secuencia señal es una región que se somete a procesamiento en la etapa de transporte a la superficie de la membrana celular después de la traducción de la proteína, y se elimina. Por consiguiente, se puede utilizar una secuencia de aminoácidos arbitraria que induzca el paso de la proteína traducida a través de la membrana celular. Más específicamente, una secuencia de aminoácidos de PLD4 (SEQ ID NO 1) es preferible como secuencia de aminoácidos que contiene el dominio extracelular de PLD4.

Por consiguiente, el polinucleótido (a) mencionado anteriormente en la invención puede ser una secuencia de bases arbitraria que codifica la secuencia de aminoácidos que constituye la estructura mencionada anteriormente [región intracelular + dominio transmembrana + dominio extracelular]. Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO 1 está codificada por la secuencia de bases de ADNc descrita en SEQ ID NO 44.

La proteína de fusión PLD4-Ig recombinante como inmunógeno en la invención se puede obtener introduciendo un vector de expresión que retiene el polinucleótido mencionado anteriormente de una manera expresable, en una célula anfitriona apropiada. La secuencia de bases de ADNc de la proteína de fusión PLD4-Ig recombinante está representada por SEQ ID NO 125, y la secuencia de aminoácidos está representada por SEQ ID NO 126.

La célula anfitriona en la invención es preferiblemente una célula de mamífero. Específicamente, una célula derivada de un ser humano, un mono, un ratón o una rata se puede utilizar como célula anfitriona. Particularmente, la célula derivada de seres humanos es preferible como célula anfitriona. Por ejemplo, la célula HEK-293T es una cepa de células renales derivadas de embriones humanos que se puede utilizar preferiblemente como la célula anfitriona en la invención. La célula HEK-293T está disponible como ATCC CRL-11268. Además de eso, se puede utilizar una célula derivada de un animal inmunizado como célula anfitriona. Si se utiliza una célula derivada de un animal inmunizado como inmunógeno, la respuesta inmunitaria contra la célula anfitriona es pequeña. Por lo tanto, se puede obtener de manera eficaz un anticuerpo contra el dominio extracelular de PLD4, que se expresa de forma extrínseca. Por consiguiente, por ejemplo, cuando se utiliza un ratón como el animal inmunizado, también se puede utilizar una célula derivada del ratón como célula anfitriona.

El polinucleótido mencionado anteriormente se puede cargar en un vector que puede inducir la expresión en una célula anfitriona para transformar la célula. Se puede utilizar un vector disponible comercialmente que puede inducir la expresión en una célula de mamífero. Por ejemplo, se puede utilizar un vector de expresión tal como pCMV-Script Vector, pSG5 Vector (fabricado por Stratagene), pcDNA3.1 (fabricado por Invitrogen) y el vector retroviral pMXs-IP (fabricado por Cell BioLabs) para la invención.

La célula transformada así obtenida se administra a un animal inmunizado, con un componente adicional como coadyuvante si fuera necesario. Como coadyuvante, por ejemplo, se puede utilizar el coadyuvante completo de Freund. En caso de que se utilice un ratón como animal inmunizado, se administra la proteína de fusión PLD4-Ig

recombinante purificada al ratón BALB/c. Como coadyuvante, se utilizaron coadyuvante completo e incompleto de Freund (fabricado por SIGMA), y se administraron en 200 µg/ratón la primera vez, y 50 µg/ratón la segunda vez hasta la cuarta vez. En general, un inmunógeno se administra múltiples veces a intervalos hasta que aumenta el título de anticuerpo. Por ejemplo, en caso de un método de inmunización a corto plazo, una célula transformada se administra en un intervalo de 2 a 4 días, más específicamente 3 días, y después de administrarla de 2 a 3 veces, se pueden recolectar células productoras de anticuerpos. Además, las células productoras de anticuerpos también se pueden recolectar después de administrarla 5 a 6 veces a un intervalo de una vez a la semana más o menos.

Con el fin de obtener el anticuerpo monoclonal en la invención, la célula productora de anticuerpo recogida se clona. Para la clonación, la célula productora de anticuerpos se inmortaliza preferiblemente. Por ejemplo, se puede utilizar un método de fusión celular representado por un método de hibridoma, o transformación por el virus de Epstein-Barr (EBV) como método para inmortalizar la célula productora de anticuerpos.

Una célula productora de anticuerpos produce un tipo de anticuerpo por célula. Por consiguiente, si se puede establecer una población celular derivada de una célula (es decir, clonación), se puede obtener un anticuerpo monoclonal. El método de hibridoma se refiere a un método en el que una célula productora de anticuerpos se fusiona con una cepa celular apropiada, se inmortaliza y a continuación se clona. La célula productora de anticuerpos inmortalizada puede clonarse mediante un método tal como el método de dilución limitante. Se conocen muchas cepas celulares que son útiles en el método del hibridoma. Estas cepas celulares tienen una eficacia de inmortalización excelente de una célula basada en linfocitos y tienen varios marcadores genéticos que son necesarios para seleccionar las células que han tenido éxito en la fusión celular. Además, en un caso en el que se pretende la adquisición de la célula productora de anticuerpos, también se puede utilizar una cepa celular que carece de capacidad de producción de anticuerpos.

Por ejemplo, el mieloma de ratón P3x63Ag8.653 (ATCC CRL-1580) o P3x63Ag8U.1 (ATCC CRL-1597) se utiliza universalmente como cepa celular útil para un método de fusión celular de ratón o rata. Generalmente, un hibridoma se prepara por fusión de células homogéneas. Sin embargo, también se puede adquirir un anticuerpo monoclonal a partir de un heterohibridoma entre especies heterogéneas cercanas.

Se conoce un protocolo específico de la fusión celular. Es decir, una célula productora de anticuerpos de un animal inmunizado se mezcla con un compañero de fusión apropiado y se somete a fusión celular. Como célula productora de anticuerpos, por ejemplo, se puede utilizar una célula esplénica, una célula linfocítica recolectada del ganglio linfático o una célula B de sangre periférica. Como compañero de fusión, se pueden utilizar diversas cepas celulares descritas anteriormente. Para la fusión celular, se utiliza un método con polietilenglicol o un método de fusión eléctrica.

A continuación, las células que han tenido éxito en la fusión celular se seleccionan en función de un marcador de selección que posee la célula de fusión. Por ejemplo, en caso de que se utilice una cepa celular sensible a HAT en la fusión celular, las células que han tenido éxito en la fusión celular se seleccionan seleccionando las células que crecen en el medio HAT. Además, se confirma un anticuerpo producido por las células seleccionadas si tiene reactividad prevista.

Cada uno de los hibridomas se analiza en función de la reactividad del anticuerpo. Es decir, un hibridoma que produce un anticuerpo que se une a PLD4 se selecciona mediante el método descrito anteriormente. Preferiblemente, en caso de que el hibridoma seleccionado sea subclonado, y finalmente se confirma la producción del anticuerpo deseado, el hibridoma se selecciona como un hibridoma que produce el anticuerpo monoclonal de la invención.

Específicamente, el hibridoma deseado puede seleccionarse en función de la reactividad con una célula humana o la reactividad con una célula transformada que expresa el gen PLD4. Un anticuerpo que se une a una célula puede detectarse basándose el principio de un inmunoensayo. Por ejemplo, se puede utilizar ELISA, en el que se utiliza una célula como antígeno, en la detección del anticuerpo deseado. Específicamente, un sobrenadante de cultivo del hibridoma se pone en contacto con un portador que inmoviliza la pDC humana, o una célula transformada utilizada como inmunógeno. En caso de que el sobrenadante del cultivo contenga el anticuerpo deseado, el anticuerpo es capturado por la célula inmovilizada en el portador. A continuación, la fase sólida se aísla del sobrenadante del cultivo, se lava si fuera necesario y a continuación se puede detectar el anticuerpo capturado en la fase sólida. En la detección del anticuerpo, se puede utilizar un anticuerpo que reconozca el anticuerpo. Por ejemplo, un anticuerpo anti-ratón puede detectar un anticuerpo de ratón. Si el anticuerpo que reconoce un anticuerpo está en la marca, la detección del mismo es fácil. Como marca, por ejemplo, se puede utilizar una enzima, un pigmento fluorescente o un pigmento luminiscente.

Por otro lado, como portador que inmoviliza la célula, se puede utilizar una partícula o la pared interna de una placa de microtitulación. La superficie de una partícula o un recipiente de plástico, puede inmovilizar la célula por adsorción física. Por ejemplo, se pueden utilizar esferas o un recipiente de reacción de poliestireno como portador

para inmovilizar la célula.

Al seleccionar el hibridoma, puede haber un caso en el que la predicción no sea la producción de un anticuerpo contra PLD4, sino la producción de un anticuerpo contra una célula anfitriona de una célula transformada utilizada como inmunógeno. Por ejemplo, cuando se utiliza una célula humana como inmunógeno y se utiliza un ratón como un animal inmunizado como se muestra en los Ejemplos, la célula humana se reconoce como una sustancia extraña, y se pronostica que se produce un anticuerpo que se une a ella. En la invención, se desea la adquisición de un anticuerpo que reconozca PLD4. En consecuencia, no es necesaria la adquisición de un anticuerpo que reconozca otros antígenos de células humanas distintos de PLD4. Con el fin de excluir un hibridoma que produce tal anticuerpo mediante escrutinio, un anticuerpo no deseado puede ser absorbido preliminarmente antes de la confirmación de la reactividad del anticuerpo.

Los anticuerpos que no son deseados pueden ser absorbidos por un antígeno que se une a un anticuerpo que se pronostica que existe. Específicamente, por ejemplo, un anticuerpo contra otros antígenos celulares humanos que no sea PLD4 puede ser absorbido por una célula para la cual no se puede detectar la expresión de PLD4. En la invención, la célula anfitriona utilizada para el inmunógeno es preferible como antígeno para la absorción de anticuerpos no deseados.

Un anticuerpo monoclonal que se confirma que tiene actividad de unión a un antígeno, se confirma para la influencia práctica sobre la actividad de pDC, si fuera necesario. La influencia en pDC se puede confirmar, por ejemplo, mediante un método que se describe a continuación.

El anticuerpo monoclonal de la invención puede recogerse de un cultivo que se obtiene cultivando un hibridoma que produce el anticuerpo monoclonal. El hibridoma se puede cultivar in vitro o in vivo. En el cultivo in vitro, el hibridoma se puede cultivar utilizando un medio conocido tal como RPMI 1640. Las inmunoglobulinas secretadas por el hibridoma se acumulan en el sobrenadante del cultivo. Por consiguiente, el anticuerpo monoclonal de la invención se puede obtener recogiendo el sobrenadante del cultivo y purificándolo si fuera necesario. La purificación de la inmunoglobulina es fácil en un medio al que no se añade suero. Sin embargo, con el propósito de un rápido crecimiento del hibridoma y la promoción de la producción de anticuerpos, también se puede añadir al medio suero fetal bovino al 10%.

El hibridoma también se puede cultivar in vivo. Específicamente, el hibridoma se puede cultivar en la cavidad abdominal inoculando el hibridoma en la cavidad abdominal de un ratón carente de sistema inmunitario. El anticuerpo monoclonal se acumula en la ascitis. Por consiguiente, la ascitis se recolecta, y se purifica si fuera necesario, para obtener el anticuerpo monoclonal necesario. El anticuerpo monoclonal obtenido puede modificarse o procesarse adecuadamente dependiendo del propósito.

El anticuerpo monoclonal de la invención puede expresarse adquiriendo ADNc que codifica la región de unión a antígeno del anticuerpo del hibridoma, e insertándolo en un vector de expresión apropiado. Se conoce una tecnología para adquirir ADNc que codifica una región variable de un anticuerpo y lo expresa en una célula anfitriona apropiada. Además, se conoce un enfoque en el que una región variable que contiene una región de unión a antígeno se une a una región constante para proporcionar un anticuerpo quimérico. Por ejemplo, un gen de una región variable puede proporcionar un anticuerpo quimérico mediante la unión a genes que codifican una región constante de cadena pesada de IgG1 humana y una región constante de cadena ligera de Ig kappa humana, respectivamente. Además, se sabe que la actividad de unión a antígeno de un anticuerpo monoclonal se puede trasplantar a otra inmunoglobulina incorporando CDR que constituye una región variable a una región de marco de otra molécula de inmunoglobulina. Usando esto, se establece un método de trasplante de la actividad de unión a antígeno poseída por una inmunoglobulina heterogénea a una inmunoglobulina humana. Por ejemplo, puede haber un caso en el que una secuencia parcial de aminoácidos de una región de marco que soporta CDR se trasplanta a una región variable humana desde una región variable de un anticuerpo de ratón. A continuación, estas regiones variables reconstituidas humanizadas de un anticuerpo humano pueden conectarse a una región constante de un anticuerpo humano, para obtener un anticuerpo humanizado.

Los ejemplos de anticuerpos monoclonales preferidos en la invención incluyen, por ejemplo, anticuerpos monoclonales producidos por hibridomas mp5B7, mp7B4, mp13D4 y mp13H11, que se han depositado bajo los Números de acceso: NITE BP-1211, NITE BP-1212, NITE BP-1213, y NITE BP-1214, respectivamente.

Como anticuerpo quimérico que contiene la región variable, o anticuerpo humanizado en el que se trasplanta la CDR que constituye la región variable, un anticuerpo que tiene una región constante derivada de IgG o IgM está contenido preferiblemente en el anticuerpo de la invención. En particular, el anticuerpo de la invención es más preferiblemente un anticuerpo que tiene una combinación de:

cadena pesada CDR1: DYNLH,

CDR2: YIYPYNGNTGYNQKFKR,  
CDR3: GGIYDDYYDYAIDY y

cadena ligera CDR1: RASENIYSHIA,

CDR2: GATNLAH,  
CDR3: QHFWGTP,

como secuencia de CDR que constituye la región variable del anticuerpo, un anticuerpo que tiene una combinación de:

cadena pesada CDR1: SHYYWT,

CDR2: YISYDGSNNYNPSLKN,  
CDR3: EGPLYYGPNPYWYFDV y

cadena ligera CDR1: RASQDIDNYLN,

CDR2: YTSRLHS,  
CDR3: QQFNTLP,

como secuencia de CDR que constituye la región variable, o un anticuerpo que tiene una combinación de:

cadena pesada CDR1: SHYYWS,

CDR2: YISYDGSNNYNPSLKN,  
CDR3: EGPLYYGPNPYWYFDV y

cadena ligera CDR1: RASQDIDNYLN,

CDR2: YTSRLHS,  
CDR3: QQFNTLP,

como secuencia de CDR que constituye la región variable.

Los autores de la presente invención han confirmado que el anticuerpo monoclonal contra PLD4 tiene acción de CDC para una célula de expresión de PLD4. Por consiguiente, el anticuerpo que tiene una región constante derivada de IgG o IgM, tiene una acción de citotoxicidad para la célula de expresión de PLD4 mediante la acción de la CDC. Dicho anticuerpo es útil para suprimir el número de células de una célula de expresión de PLD4 tal como pDC.

Se puede preparar un anticuerpo quimérico, o un anticuerpo humanizado que reconoce PLD4 mediante ingeniería genética utilizando un polinucleótido que los codifica.

No se obtuvo un anticuerpo que pueda reconocer específicamente PLD4. Un anticuerpo que reconoce PLD4 se ha proporcionado por primera vez por el inmunógeno de la descripción. Es decir, la invención proporciona un anticuerpo que reconoce PLD4, que se puede obtener mediante los procedimientos descritos a continuación.

(1) Procedimiento de administración de una proteína de fusión PLD4-Ig recombinante que codifica una secuencia de aminoácidos que contiene un dominio extracelular de PLD4, a un animal inmunizado

(2) procedimiento de selección de una célula productora de anticuerpos que produce un anticuerpo que se une a PLD4, a partir de células productoras de anticuerpos del animal inmunizado, y

(3) procedimiento de cultivo de la célula productora de anticuerpos seleccionada en el apartado (2) y recolección de un anticuerpo que reconoce PLD4 del cultivo.

Se ha revelado que PLD4 se expresa específicamente en pDC humanas. La expresión específica en pDC humanas también se confirmó mediante análisis de expresión génica con SAGE por los autores de la presente invención. Sin embargo, el nivel de expresión de PLD4 se analizó basándose en el ARNm en un informe anterior. Además, se sabe que la proteína PLD4 se expresa solo en el citoplasma. La invención ha revelado que PLD4 también se expresa en la superficie celular. Dado que no se proporcionó un anticuerpo que pueda detectar PLD4, el análisis para determinar el estado de expresión de la proteína no se realizó de manera convencional. El anticuerpo que se une a un dominio extracelular de PLD4 proporcionado por la invención ha realizado un análisis de la proteína PLD4.

Como confirmaron prácticamente los autores de la presente invención, el anticuerpo monoclonal que se une a un dominio extracelular de PLD4 basado en la invención detecta específicamente la pDC humana. Es decir, la

invención se refiere a un método *ex vivo* para detectar una célula dendrítica plasmocitoide humana, que contiene las etapas de poner en contacto con una célula de prueba el anticuerpo monoclonal de la invención, o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno, y detectar el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo que se une a la célula.

Mediante la detección de PLD4 basándose en la invención, se puede confirmar si alguna célula es pDC o no. Es decir, la invención proporciona un método para identificar pDC utilizando PLD4 como índice. Alternativamente, se puede aislar una célula para la cual se detecta PLD4 basándose en la invención, por medio de lo cual se aísla pDC humana. Es decir, la descripción proporciona un método para aislar pDC utilizando PLD4 como índice.

En la invención, un anticuerpo monoclonal que se une a un dominio extracelular de PLD4, o un fragmento que contiene una región de unión a antígeno del mismo pueden estar en la marca. Por ejemplo, el anticuerpo puede detectarse fácilmente marcándolo con un pigmento luminiscente o pigmento fluorescente. Más específicamente, el anticuerpo marcado con pigmento fluorescente se pone en contacto con una población celular que posiblemente contiene pDC, y se puede detectar una célula que se une al anticuerpo de la invención utilizando el pigmento fluorescente como índice. Además, si se aísla una célula detectada con el pigmento fluorescente, se puede aislar pDC. Se pueden implementar fácilmente una serie de etapas en el principio de FACS.

Alternativamente, el anticuerpo de la invención también puede estar unido a un portador en fase sólida tal como una partícula magnética. El anticuerpo que está unido al portador en fase sólida reconoce PLD4, y pDC se captura en el portador en fase sólida. Como resultado de ello, se puede detectar o aislar la pDC.

El anticuerpo que es necesario en el método de detección *ex vivo* de pDC basado en la invención puede suministrarse como un reactivo para la detección de pDC. Es decir, la invención proporciona el uso del anticuerpo monoclonal de la invención o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo como reactivo para la detección de pDC *ex vivo*. En el reactivo para la detección de pDC, se puede combinar un control positivo o un control negativo además del anticuerpo. Por ejemplo, se pueden utilizar como control positivo una célula transformada que expresa el dominio extracelular de PLD4 utilizado como inmunógeno, o la pDC recolectada de un ser humano. Por lo general, solo se puede obtener poca pDC humana de la sangre periférica. Por consiguiente, una célula transformada es particularmente preferible como control positivo en el reactivo. Por otro lado, como control negativo, se puede utilizar una célula arbitraria que no expresa PLD4.

Es decir, la descripción proporciona un kit para la detección de pDC humana que contiene un anticuerpo monoclonal que se une a un dominio extracelular de PLD4, o un fragmento que contiene una región de unión a antígeno del mismo.

Además, los autores de la presente invención analizaron la influencia del anticuerpo que se une a un dominio extracelular de PLD4 en pDC. Como resultado de ello, se confirmó que el anticuerpo que se une a un dominio extracelular de PLD4 suprime la actividad de pDC. Es decir, la invención se refiere a un método para suprimir una actividad de una célula dendrítica plasmocitoide humana *ex vivo*, que comprende poner en contacto uno de los componentes siguientes con la célula:

- (a) el anticuerpo monoclonal de la invención, o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo, que se une a PLD4 y suprime la actividad pDC, y
- (b) una inmunoglobulina o un fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno en la que se trasplantan las regiones determinantes de complementariedad del anticuerpo monoclonal (a).

Alternativamente, la descripción se refiere a un método para suprimir la actividad de pDC en un organismo vivo, que contiene una etapa para administrar cualquiera de los componentes siguientes a un organismo vivo:

- (a) un anticuerpo monoclonal que se une a PLD4 y suprime la actividad de pDC, o un fragmento que contiene una región de unión a antígeno del mismo,
- (b) una inmunoglobulina en la que se trasplanta una región determinante de la complementariedad del anticuerpo monoclonal (a), o un fragmento que contiene una región de unión a antígeno del mismo, y
- (c) un polinucleótido que codifica el componente descrito en los apartados (a) o (b).

La pDC de la invención se refiere a una célula que tiene capacidad de producción de IFN y expresa PLD4 en la superficie de la célula. De aquí en adelante, a menos que se indique lo contrario, pDC no es solo una célula que es una célula precursora de una célula dendrítica, sino que contiene una célula que tiene capacidad de producción de IFN y expresa PLD4 en la superficie celular. Se conoce un método para identificar dicha pDC. Por ejemplo, pDC se puede distinguir de otras células sanguíneas utilizando varios marcadores de la superficie celular como índice. Específicamente, el perfil de un marcador de la superficie celular de pDC humana es el que se describe a continuación (Shortman, K. y Liu, YJ. *Nature Reviews* 2: 151-161, 2002). En los últimos años, también existe un informe que posicionó la célula positiva para BDCA-2 como pDC (Dziane k, A. et al. *J. Immunol.* 165: 6037-6046,



2000).

[Perfil del antígeno de superficie celular de la pDC humana]

- 5           Positivo para CD4 y positivo para CD123,  
            Negativo para el linaje (CD3, CD14, CD16, CD19, CD20 y CD56), negativo para CD11c

10           Por consiguiente, una célula que tiene el perfil de expresión de estos marcadores conocidos y tiene capacidad de  
            producción de IFN también puede denominarse pDC. Además, una célula que pertenece a una familia de células  
            que tiene un perfil diferente del patrón de expresión del perfil de expresión de estos marcadores, pero que tiene  
            capacidad de producción de IFN en un organismo vivo está incluida en las pDC.

15           Además, los ejemplos de características comunes exhibidas por la pDC humana incluyen las características que se  
            describen a continuación.

**Característica morfológica de la célula.**

- 20           • Similar a la célula de plasmática  
            • Celda redonda con superficie celular lisa.  
            • Núcleo relativamente grande

**[Característica funcional de la célula]**

- 25           • Producción de una gran cantidad de IFN tipo I en poco tiempo en el momento de la infección por el virus  
            • Diferenciación a células dendríticas después de la infección por el virus.

30           La supresión de la actividad de pDC en la invención se refiere a la supresión de al menos una de las funciones de  
            pDC. Los ejemplos de las funciones de pDC incluyen la producción de IFN y la supervivencia celular. La  
            supervivencia celular se puede referir como el número de célula en otras palabras. En consecuencia, la supresión de  
            una o ambas funciones se denomina supresión de la actividad de pDC. Se ha revelado que el IFN tipo I producido  
            por pDC es causa de varias enfermedades. Por consiguiente, la supresión del número de células pDC o la  
            producción de IFN es útil como estrategia para tratar tales enfermedades.

35           Por ejemplo, se ha señalado la relación de las condiciones patológicas de una enfermedad autoinmunitaria con el  
            IFN $\alpha$ . La mayor parte del IFN $\alpha$  es producido por pDC. Por consiguiente, si se suprime su producción, se pueden  
            aliviar las condiciones patológicas causadas por el IFN $\alpha$ . Mientras tanto, en la invención, la supresión de la  
            producción de IFN por pDC se refiere a la supresión de la producción de al menos un tipo de IFN producido por  
            pDC. El IFN en la invención es preferiblemente IFN tipo I. Entre ellos, es importante el IFN $\alpha$ .

40           Es decir, la invención se refiere a un supresor de la producción de IFN, que contiene el anticuerpo que se une a un  
            dominio extracelular de PLD4 como un componente activo. Alternativamente, la descripción proporciona un método  
            para suprimir la producción de IFN, que contiene un procedimiento de administración de un anticuerpo que se une a  
            un dominio extracelular de PLD4. Además, la descripción se refiere al uso de un anticuerpo que se une a un dominio  
            extracelular de PLD4 en la preparación de una composición farmacéutica que suprime la producción de IFN.

45           Una célula que produce una gran cantidad de IFN en un pequeño número de células está incluida en las pDC. Por  
            ejemplo, una célula precursora de una célula dendrítica que es recibida con estimulación por un virus o similar  
            produce la mayoría de los IFN producidos por un organismo vivo. La supresión del número de células de pDC que  
            produce una gran cantidad de IFN conduce a la supresión de la producción de IFN como resultado. En  
50           consecuencia, la supresión del número de células pDC también puede aliviar las condiciones patológicas causadas  
            por el IFN $\alpha$ .

55           En un aspecto preferido de la invención, se confirmó que el anticuerpo monoclonal anti-PLD4 se une a una célula de  
            expresión de PLD4 e imparte citotoxicidad mediante la acción de la Citotoxicidad Dependiente del Complemento  
            (CDC). La acción de los CDC es uno de los mecanismos de acción importantes de un fármaco anticuerpo. El  
            anticuerpo monoclonal anti-PLD4 de la invención también tiene una potente acción de citotoxicidad para una célula  
            de expresión de PLD4 tal como pDC por la acción de la CDC. Es decir, se puede esperar que el anticuerpo  
            monoclonal anti-PLD4 en un aspecto preferido, tenga efectos de la supresión de la producción de IFN no solo por un  
            mecanismo de supresión de la producción de IFN, sino también por la citotoxicidad para pDC.

60           El anticuerpo que reconoce un dominio extracelular de PLD4 utilizado en la invención se puede obtener basándose  
            en el método descrito anteriormente. El anticuerpo en la invención puede ser de cualquier clase. Además, una  
            especie biológica de la que se deriva el anticuerpo no está limitada. Asimismo, se puede utilizar un fragmento que  
            contiene una región de unión a antígeno del anticuerpo como el anticuerpo. Por ejemplo, un fragmento de anticuerpo

que contiene un sitio de unión a antígeno producido por digestión enzimática de IgG se puede utilizar como el anticuerpo en la invención. Específicamente, se puede obtener un fragmento de anticuerpo tal como Fab o F(ab')<sub>2</sub> por digestión con papaína o pepsina. Es ampliamente conocido que estos fragmentos de anticuerpos se pueden utilizar como molécula de anticuerpo que tiene afinidad de unión por un antígeno. Alternativamente, también se puede utilizar un anticuerpo construido por recombinación de genes siempre que mantenga la actividad necesaria de unión al antígeno. Los ejemplos del anticuerpo construido por recombinación génica incluyen un anticuerpo quimérico, un anticuerpo con CDR trasplantada, un Fv de cadena única, un diacuerpo (diacuerpos), un anticuerpo lineal y un anticuerpo poliespecífico formado por un fragmento de anticuerpo. Se conoce un método para obtener estos anticuerpos basándose en un anticuerpo monoclonal.

El anticuerpo en la invención puede ser modificado, si fuera necesario. De acuerdo con la invención, el anticuerpo que reconoce un dominio extracelular de PLD4 tiene una acción de supresión de la actividad de pDC. Es decir, se ha contemplado la posibilidad de que el propio anticuerpo tenga citotoxicidad para pDC. Se conoce una subclase del anticuerpo que exhibe una fuerte acción efectora. Alternativamente, los efectos de supresión de la actividad de pDC se pueden aumentar adicionalmente modificando el anticuerpo con un agente citotóxico. Los ejemplos del agente citotóxico incluyen los agentes descritos a continuación.

Toxinas: Endotoxina de *Pseudomonas* (PE), toxina diftérica y ricina

Isótopo radioactivo: Tc99m, Sr89, 1131 e Y90

Agente anticanceroso: caliqueamicina, mitomicina y paclitaxel

Las toxinas que contienen una proteína pueden unirse a, por ejemplo, un anticuerpo, o un fragmento del mismo mediante un reactivo bifuncional. Alternativamente, también se puede conjugar un gen que codifica las toxinas con un gen que codifica el anticuerpo, para proporcionar una proteína de fusión de los mismos. También se conoce un método para unir un isótopo radiactivo a un anticuerpo. Por ejemplo, se conoce un método para marcar un anticuerpo con un isótopo radioactivo utilizando un agente quelato. Además, se puede unir un agente anticanceroso a un anticuerpo utilizando, por ejemplo, una cadena de azúcar o un reactivo bifuncional.

En la invención, el anticuerpo de estructura modificada artificialmente también se puede utilizar como un componente activo. Por ejemplo, se conocen diversas modificaciones para mejorar la citotoxicidad o la estabilidad de un anticuerpo. Específicamente, se conoce una inmunoglobulina, en la cual se modifica la cadena de azúcar de la cadena pesada (Shinkawa, T. et al. J. Biol. Chem. 278: 3466-3473. 2003). La modificación de la cadena de azúcar aumentó la actividad de la inmunoglobulina mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCC) de la inmunoglobulina.

El anticuerpo que se une a un dominio extracelular de PLD4 suprime la actividad de pDC cuando el anticuerpo se pone en contacto con la pDC. Por consiguiente, tal anticuerpo se puede utilizar como agente para suprimir la actividad de pDC, o en un método para suprimir pDC. Es decir, la descripción proporciona un agente para suprimir la actividad de pDC, que contiene al menos un tipo de componente seleccionado de un grupo que consiste en los apartados (a) y (b) descritos a continuación como componente activo. Alternativamente, la invención se relaciona con uno de los apartados (a) y (b) descritos a continuación para su uso en un método para suprimir la actividad de pDC humana en un ser humano vivo, que contiene una etapa de administrar al menos un tipo de componente seleccionado de un grupo que consiste en los apartados (a) y (b) descritos a continuación. Además, la descripción se refiere al uso de al menos un tipo de componente seleccionado de un grupo que consiste en los apartados (a) y (b) descritos a continuación en la preparación de un agente para regular la actividad de pDC.

(a) El anticuerpo monoclonal de la invención, o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo, que se une a un dominio extracelular de PLD4.

(b) Una inmunoglobulina o un fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno en la que se trasplantan las regiones determinantes de complementariedad del anticuerpo monoclonal (a).

Como anticuerpo monoclonal que suprime la actividad de pDC en la invención, se puede utilizar un anticuerpo monoclonal que reconoce un dominio extracelular de PLD4. Se pueden utilizar una clase o múltiples clases de anticuerpos monoclonales en la invención. Por ejemplo, se pueden combinarse y utilizar en la invención múltiples especies de los anticuerpos monoclonales que reconocen un dominio extracelular de PLD4.

El hecho de que el anticuerpo tenga una acción de supresión de la actividad de producción de IFN de pDC, se puede confirmar de la manera que se describe a continuación. La pDC produce una gran cantidad de IFN tras la estimulación viral. El anticuerpo se administra a pDC antes, después o al mismo tiempo de la estimulación viral, y la capacidad de producción de IFN se compara con un control en el que el anticuerpo no se administra a la pDC. La capacidad de producción de IFN puede evaluarse midiendo el IFN- $\alpha$  o el IFN- $\beta$  contenidos en el sobrenadante de un cultivo de pDC. Como resultado de la comparación, si la cantidad de IFN en el sobrenadante se reduce significativamente mediante la adición del anticuerpo, se puede confirmar que el anticuerpo probado tiene la acción de suprimir la capacidad de producción de IFN. Se conoce un método para medir estos IFN. La pDC es una célula

que produce la mayoría de IFN en un organismo vivo. En consecuencia, la supresión de la capacidad de producción de IFN de pDC puede regular el estado de producción de IFN en un organismo vivo.

La actividad de pDC en la invención abarca el mantenimiento del número de células pDC. Por consiguiente, la supresión de la actividad de pDC en la invención abarca la supresión del número de células de pDC. Si se confirma que el número de células pDC se suprime en presencia del anticuerpo, se descubre que el anticuerpo suprime la actividad de pDC. De manera similar a la producción de IFN, se puede utilizar una inmunoglobulina inactiva que se obtiene de la misma especie animal que la especie del anticuerpo que se confirmará para la actividad, como control para la comparación. El número de células pDC puede compararse cuantitativamente por recuento de células. El número de células se puede contar mediante FACS o con un microscopio.

Además, también se supone que la pDC se diferencia en una célula que induce Th2 llamada célula dendrítica 2 (DC2) como resultado de la infección, por ejemplo, de un virus. Si se suprime la producción de IFN por la pDC tras la estimulación por el virus, existe la posibilidad de que la diferenciación a Th2 también se pueda suprimir. Por consiguiente, también se puede esperar que el anticuerpo monoclonal de la invención que suprime la producción de IFN tenga efectos terapéuticos para diversas enfermedades alérgicas.

En un caso en el que el anticuerpo que reconoce un dominio extracelular de PLD4 se administra a un anfitrión que es diferente de la especie biológica de la que se obtiene el anticuerpo, es deseable procesar el anticuerpo en una forma que difícilmente es reconocida como una sustancia extraña por el anfitrión. Por ejemplo, la inmunoglobulina puede convertirse en difícilmente reconocida como una sustancia extraña al procesar la molécula como se describe a continuación. Se conoce un método para procesar una molécula de inmunoglobulina como se describe a continuación.

- Fragmento que contiene la región de unión a antígeno, de la cual se elimina la región constante (Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, tercera edición, Academic Press Limited. 1995; Antibody Engineering, A Practical Approach, IRL PRESS, 1996)
- Anticuerpo quimérico constituido con una región de unión a antígeno de un anticuerpo monoclonal y una región constante de inmunoglobulina del anfitrión (Gene Expression Experiment Manual, Kodansha Ltd. 1994 (editado por Isao ISHIDA and Tamie ANDO))
- Anticuerpo con CDR sustituida en el que la región determinante de la complementariedad (CDR) en una inmunoglobulina del anfitrión es sustituida por la CDR de un anticuerpo monoclonal (Gene Expression Experiment Manual, Kodansha Ltd. 1994 (editado por Isao ISHIDA and Tamie ANDO))

Alternativamente, el gen de una región variable de inmunoglobulina humana también se puede adquirir por el método de presentación en fagos (McCafferty J et al., Nature 348:552-554, 1990; Kretzschmar T et. al., Curr Opin Biotechnol. Diciembre 2002; 13(6): 598-602.). En el método de presentación en fagos, el gen que codifica la región variable de la inmunoglobulina humana se incorpora al gen del fago. Utilizando varios genes de inmunoglobulina como fuente, también se puede preparar una biblioteca de fagos. Un fago expresa la región variable como una proteína de fusión de la proteína que la constituye. La región variable expresada en la superficie del fago por el fago mantiene la actividad de unión al antígeno. Por consiguiente, la selección de un fago que se une a un antígeno o, por ejemplo, una célula en la que se expresa el antígeno, puede seleccionar un fago en el que se expresa una región variable que tiene una actividad de unión prevista desde una biblioteca de fagos. Además, una partícula del fago así seleccionado retiene un gen que codifica la región variable que tiene la actividad de unión prevista. Es decir, se puede adquirir un gen que codifica una región variable que tiene una actividad de unión prevista utilizando la actividad de unión de la región variable como índice en el método de presentación en fagos.

El anticuerpo que reconoce un dominio extracelular de PLD4, o un fragmento de anticuerpo que contiene al menos su región de unión a antígeno en el agente para suprimir la actividad de pDC, o el método de supresión de la actividad de pDC, se puede administrar como una proteína o un polinucleótido que codifica la proteína. Al administrar el polinucleótido, es deseable utilizar un vector en el que un polinucleótido que codifica la proteína deseada, se disponga bajo el control de un promotor apropiado para expresar la proteína deseada. En el vector, también se puede disponer un potenciador o un terminador. Se conoce un vector que retiene genes de una cadena pesada y una cadena ligera que constituyen una inmunoglobulina, y puede expresar la molécula de inmunoglobulina. El vector que puede expresar una inmunoglobulina se puede administrar introduciéndolo en una célula. En la administración a un organismo vivo, un vector que puede infectar una célula al administrarse en un organismo vivo, se puede administrar tal cual. Alternativamente, también se puede introducir primero un vector en un linfocito aislado de un organismo vivo, y devolverse nuevamente al organismo vivo (ex vivo).

La cantidad de anticuerpo monoclonal que se administra a un organismo vivo en el agente para suprimir la actividad de pDC, o el método para suprimir la actividad de pDC, es generalmente de 0,5 mg a 100 mg, por ejemplo de 1 mg a 50 mg, preferiblemente de 2 mg a 10 mg por 1 kg de peso corporal como inmunoglobulina. El intervalo de administración del anticuerpo a un organismo vivo se puede regular adecuadamente de manera que se pueda mantener una concentración eficaz de la inmunoglobulina en el organismo durante el período de tratamiento.

Específicamente, la administración se puede realizar, por ejemplo, en un intervalo de 1 a 2 semanas. La vía de administración es arbitraria. Un experto en la técnica puede seleccionar adecuadamente una vía de administración eficaz en el tratamiento. Específicamente, los ejemplos de la vía de administración incluyen la administración oral o no oral. Por ejemplo, el anticuerpo se puede administrar sistémicamente o localmente mediante inyección intravenosa, inyección intramuscular, inyección intraperitoneal o inyección subcutánea. Los ejemplos de una formulación apropiada para administración no oral en la invención incluyen una inyección, un supositorio y un aerosol. Además, en caso de que se administre una inmunoglobulina a una célula, la inmunoglobulina se administra a un líquido de cultivo generalmente en 1 µg/mL, preferiblemente 10 µg/mL o más, más preferiblemente 50 µg/mL o más, y más preferiblemente 0,5 mg/mL o más.

En el agente para suprimir la actividad de pDC o el método para suprimir la actividad de pDC, el anticuerpo monoclonal se puede administrar mediante cualquier método a un organismo vivo. Normalmente, el anticuerpo monoclonal se mezcla con un portador farmacéuticamente aceptable. Junto con el anticuerpo monoclonal, se pueden mezclar si fuera necesario aditivos tales como un agente espesante, un estabilizante, un conservante y un agente solubilizante. Los ejemplos de tales portadores o aditivos incluyen lactosa, ácido cítrico, ácido esteárico, estearato de magnesio, sacarosa, almidón, talco, gelatina, agar, aceite vegetal y etilenglicol. Los términos calificados como "farmacéuticamente aceptables" se refieren a aquellos aprobados por los supervisores gubernamentales de cada país, o los que figuran en una farmacopea de cada país o una farmacopea generalmente reconocida para su uso en un animal, un animal mamífero y particularmente un ser humano. El agente para suprimir la actividad de pDC también puede suministrarse en forma de comprimido o polvo liofilizado en una dosis única o dosis múltiples. El comprimido o polvo liofilizado se pueden combinar adicionalmente con agua esterilizada, solución salina fisiológica o una solución tampón para inyectables para disolver la composición a una concentración deseada antes de su administración.

Además, en caso de que se administre el agente para suprimir la actividad de pDC como un vector de expresión de inmunoglobulina, la cadena pesada y la cadena ligera se cotransfectan con un plásmido separado, y cada uno de los plásmidos se puede administrar de 0,1 a 10 mg, por ejemplo, de 1 a 5 mg por 1 kg de peso corporal. Además, se utiliza un vector de 1 a 5 µg/10<sup>6</sup> células para la introducción en una célula in vitro. De aquí en adelante, la invención se explicará más específicamente en base a los Ejemplos.

Aunque la invención se describirá más específicamente con los Ejemplos siguientes, la invención no se limita a tales ejemplos en absoluto.

## Ejemplos

### Ejemplo 1

#### A. Análisis de la expresión de PLD4

##### A-1) Análisis utilizando biblioteca SAGE

Las expresiones génicas en pDC en reposo, monocitos humanos y pDC activadas tratadas con el virus del herpes inactivo (HSV-1) se compararon mediante el método SAGE™ (Serial Analysis of Gene Expression). El método de análisis es el que se describe a continuación.

A partir de sangre periférica humana, se aisló el monocito como una célula positiva para CD14 y se aisló la célula pDC humana como una célula positiva para BDCA-4 con el kit de aislamiento BDCA-4 + (Miltenyi Company Biotec) y el sistema MACS (Miltenyi Company Biotec). Además, la célula pDC humana se cultivó durante 12 horas en presencia de HSV-1 inactivo, para preparar la pDC activada (pDC+HSV). El ARN total se extrajo de cada una de las células y la biblioteca SAGE se preparó utilizando el kit I-SAGE™ (Invitrogen Company). Los datos obtenidos de aproximadamente 100.000 secuencias de bases etiquetadas se analizaron con el soporte lógico de análisis SAGE2000 (Invitrogen Company). Como resultado de esto, el valor de la puntuación de monocito/pDC/pDC+HSV fue genes 0/9/0, es decir, se encontró PLD4 (familia de la fosfolipasa D, miembro 4, C14orf175; Número de acceso de GenBank: NM\_138790.2), que es un gen conocido como un gen que exhibe expresión específica de células pDC en reposo (Figura 1, Tao et al., Nat. Methods 2 (8), 591-598 (2005); Clark et al., Genome Res. 13(10), 2265-2270 (2003)). PLD4 es una secuencia de 506 aminoácidos (SEQ ID NO: 1) codificada por una secuencia de bases representada por SEQ ID NO: 44. La proteína PLD4 tiene dos regiones PDE inciertas (motivo fosfodiesterasa) constituidas con dos motivos HKD (His-x-Lys-xxx-Asp secuencia de aminoácidos, las x son los otros aminoácidos conservados en la región C terminal, y un sitio de fosforilación incierta (Thr 472). La estructura de la proteína PLD4 se pronostica como proteína transmembrana monotrópica tipo II. Además, la proteína PLD4 no tiene la región PX (dominio de homología de Phox) y la región PH (dominio de homología de Pleckstrina) en la región N terminal, que son poseídas por PLD1 y PLD2 que son de la familia PLD clásica (FIG. 1 y 2).

##### A-2) Análisis de expresión del ARNm de PLD4 en diversas células humanas responsables de la inmunidad mediante

## PCR cuantitativa en tiempo real

Se revisó específicamente la expresión del ARNm de PLD4 en una célula sanguínea. A partir de sangre periférica humana, cada una de las células se aisló y se recogió mediante un clasificador de células. A partir de cada una de las familias de células aisladas y recogidas, se extrajo el ARN y se sintetizó el ADNc. Utilizando el ADNc obtenido como molde, se realizó una PCR cuantitativa en tiempo real y se analizó el nivel de expresión del ARNm de PLD4.

Para la reacción de PCR cuantitativa en tiempo real, se realizó una PCR cuantitativa con ABI PRISM 7000 utilizando el kit Platinum SYBR Green qPCR Super Mix-UDG (Invitrogen Company). Se utilizó el Sequence Detection System Software (empresa Applied Biosystem) en el análisis de datos. Las condiciones de reacción de la PCR y la secuencia de bases de los cebadores utilizados son las siguientes.

Cebador directo para PLD4: 5' ATG GAC TGG CGG TCT CTG 3' (SEQ ID NO: 45)

Cebador inverso para PLD4: 5' TGG AAG GTC TTC TCC AGG TC 3' (SEQ ID NO: 46)

Cebador directo para GAPDH: 5' AGC CAC ATC GCT CAG ACA C 3' (SEQ ID NO: 47)

Cebador inverso para GAPDH: 5' GCC CAA TAC GAC CAA ATC C 3' (SEQ ID NO: 48)

1 Ciclo a 58°C durante 2 minutos,

1 Ciclo a 95°C durante 10 minutos,

50 ciclos de [95°C durante 15 segundos y 60°C durante 60 segundos],

Se revisaron pDC, pDC (pDC+HSV) estimuladas con HSV, células B (células CD19+), células B activadas (células CD19+), células T (células CD3+) y células T activadas estimuladas con inomicina y PMA (Forbol 12-miristato 13-acetato). Como resultado, se ilustró que la expresión de PLD4 era específicamente alta en la pDC en la etapa de reposo y baja en la Célula B CD19<sup>+</sup>. El otro ADNc de fracción de sangre humana utilizó Paneles de ADNc de Múltiples Tejidos BD™ MTC (Núm. de Cat. 636750, Takara Bio Company) (FIG. 5).

## A-3) Análisis de expresión de ARNm de PLD4 en tejido humano mediante PCR cuantitativa en tiempo real

Además, las expresiones en otros órganos o tejidos se revisaron mediante PCR cuantitativa utilizando ABI PRISM 7000 (Applied Biosystem Company). Como panel de ADNc, se utilizó Paneles de ADNc de Múltiples Tejidos BD™ MTC (Humana I; Núm de Cat. 636742, Inmune humano; Núm. de Cat. 636748; todos de Takara Bio Company). Las secuencias de bases de los cebadores utilizados se representan a continuación.

Cebador directo para PLD4: 5' ATG GAC TGG CGG TCT CTG 3' (SEQ ID NO: 49)

Cebador inverso para PLD4: 5' TGG AAG GTC TTC TCC AGG TC 3' (SEQ ID NO: 50)

Cebador directo para GAPDH: 5' AGC CAC ATC GCT CAG ACA C 3' (SEQ ID NO: 51)

Cebador inverso para GAPDH: 5' GCC CAA TAC GAC CAA ATC C 3' (SEQ ID NO: 52)

La PCR cuantitativa se realizó con ABI PRISM 7000 con el kit Platinum SYBR Green qPCR Super Mix-UDG (empresa Invitrogen). Se utilizó el soporte lógico del sistema de detección de secuencia (Applied Biosystem Company) en el análisis. Las condiciones de reacción son las que se describen a continuación.

Etapas 1: 1 ciclo a 50°C durante 2 minutos

Etapas 2: 1 ciclo a 95°C durante 10 minutos

Etapas 3: 50 ciclos a 95°C durante 15 segundos y 60°C durante 1 minuto

Las expresiones de los genes de PLD4 se compararon entre cada uno de los tejidos mediante la normalización con el nivel de expresión génica de GAPDH (gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa), que se sabe que se expresa homeostáticamente. Como resultado de ello, el ARNm de PLD4 exhibió una expresión relativamente alta en el bazo y en leucocitos de sangre periférica. Además, se reveló que el ARNm de PLD4 se expresaba ampliamente en otros tejidos. Sin embargo, el nivel de expresión del ARNm de PLD4 fue inferior a 100 veces el nivel de expresión de la célula pDC en reposo (Figura 6).

## Preparación del vector de expresión de PLD4 humana

La preparación del vector de expresión del gen PLD4 se realizó con el fin de expresar una proteína PLD4 humana. A partir del clon de ADNc de PLD4 incorporado a un vector de clonación pCR4-TOPO (Open Biosystem, Núm. de Cat. MHS4771-99610856), únicamente el gen PLD4 se extrajo con la enzima EcoRI, y se incorporó a un vector de expresión pcDNA3.1 (vector PLD4-pcDNA3.1 humano). Utilizando el plásmido PLD4-pcDNA3.1 humano obtenido como molde, se amplificó el gen PLD4 con un cebador que contenía las secuencias de EcoRI, Not I y Kozak (GCC GCC ACC) (la información de los cebadores es la que se describe a continuación). El producto de la PCR se clonó en los sitios EcoRI y Not I con el vector de retrovirus pMX-IP (vector de retrovirus PLD4-pMX-IP humano). En la reacción de PCR, se utilizó 1 unidad de ADN polimerasa KOD Plus (TOYOBO Company), y las condiciones de reacción fueron 1 ciclo a 94°C durante 2 minutos, y a continuación 25 ciclos de [94°C durante 15 segundos y 68°C durante 1 minuto 30 segundos].

Cebador directo (SEQ ID NO: 53): 5' ttt GAA TTC gcc gcc acc ATG CTG AAG CCT 3' (polímero de 30 unidades)

Cebador inverso (SEQ ID NO: 54): 5' aaa gcg gcc gcT CAG CCC TGC CAA ACG CAG TCC T 3' (polímero de 34 unidades)

Junto con el análisis de la secuencia, se transfectaron de forma transitoria células HEK (riñón embrionario humano)-293T (en adelante, células 293T) con el vector de retrovirus PLD4-pMX-IP humano, y se confirmó si la PLD4 humana se expresaba en la superficie de la célula 293T con tinción celular, y a continuación con el método FACS.

## Ejemplo 2

### Revisión de la especificidad del anticuerpo anti-PLD4 humana

El hecho de que el anticuerpo monoclonal anti-PLD4 no se cruce con otras moléculas de la familia PLD, puede confirmarse empleando una célula en la que se expresa obligatoriamente cada una de las familias PLD. La PLD4 humana pertenece a la familia PLD, y existen múltiples moléculas que tienen una alta homología. La PLD4 humana ilustra aproximadamente 41% de la homología con PLD3 humana y aproximadamente 29,3% de la homología con PLD5 humana (Figura 4).

### 1) Preparación de vectores de expresión de PLD3 humana y PLD5 humana

Para la PLD3 humana (ADNc SEQ ID NO: 55, aminoácidos SEQ ID NO: 127) y PLD5 humana (ADNc SEQ ID NO 56, aminoácidos SEQ ID NO: 123), del clon de PLD3 humana (K.K.DNAFORM Company, Núm. de Cat. 5189261) incorporado al vector pCMV-SPORT6, y el clon PLD5 humana (KKDNAFORM Company, Núm. de Cat. 40025860) incorporado al vector pCR-Blunt II-TOPO, solo los genes PLD3 y PLD5 se amplificaron con PCR, y cada uno de los genes fue clonado en los sitios Hind III y EcoRI de pcDNA3.1 etiquetado con Flagg (Invitrogen Company), mediante el cual se prepara un vector de expresión (La información de los cebadores es la que se describe a continuación).

(Para PLD3 humana)

Cebador directo: huPLD3-IF (Hind III)

Secuencia: 5' ttt AAG CTT gcc gcc acc ATG AAG CCT AAA CTG ATG TAC 3' (Polímero de 39 unidades) (SEQ ID NO: 57)

Cebador inverso: huPLD4-1518R (EcoRI)

Secuencia: 5' ttt gaa ttc TCA ctt atc gtc gtc atc ctt gta atc GAG CAG GCG GCA GGC GTT GCC 3' (Polímero de 57 unidades) (SEQ ID NO: 58)

(Para PLD5 humana)

Cebador directo: huPLD5-IF (Hind III).

Secuencia: 5' ttt AAG CTT gcc gcc acc ATG GGA GAG GAT GAG GAT GGA 3' (Polímero de 39 unidades) (SEQ ID NO: 59)

Cebador inverso: huPLD5-1383R (EcoRI)

Secuencia: 5' ttt gaa ttc TCA ctt atc gtc gtc atc ctt gta atc TAC GTT CCG GGG ATC CTT TCC 3' (Polímero de 57 unidades) (SEQ ID NO: 60)

Entre las secuencias de cebadores mencionadas anteriormente, las partes subrayadas representan secuencias de bases que codifican las etiquetas FLAG añadidas, y el tipo cursiva representa el sitio de corte Hind III o el sitio EcoRI de las enzimas de restricción.

Junto con el análisis de secuencia, las células 293T se transfectaron de forma transitoria con el vector PLD3-pcDNA3.1 humano o el vector PLD5-pcDNA3.1 humano, y si la PLD4 humana se expresó en la superficie de la célula 293T se confirmó con tinción celular, y a continuación mediante el método FACS.

Como resultado de ello, los anticuerpos no reaccionaron con una célula en la que parecía expresarse PLB3 humana o PLD5 humana, lo que sugería que estos anticuerpos anti-PLD4 reconocían moléculas de PLD4 humana específicamente (Figura 8).

### Preparación de la cepa estable de células de expresión de PLD4 humana

El vector PLD4-pMX-IP humano preparado se co-transfectó a células 293T junto con el vector pCL-Eco (IMGENEX, Núm. catálogo 10045P), que es un vector de empaquetamiento de retrovirus, mediante el cual se realiza la introducción del gen. El experimento de introducción de genes utilizó el Reactivo de Transfección FuGENE (marca registrada) HD (Roche) como reactivo de transfección. Después de 2 días, se recogió el sobrenadante del cultivo

celular, en el que se secretó el retrovirus que contenía el gen PLD4 humana, y se infectó con la cepa de células CT125 (serie de células de tumor de linfocitos de células T de ratón 2B4). Debido al hecho de que el vector de retrovirus pMX-IP contiene un gen resistente a la puromicina, el cultivo de células CT125 infectadas en presencia de puromicina permite la supervivencia únicamente células de que expresan PLD4 humana, lo que lleva a la selección de las mismas. Las células CT125 de expresión de PLD4 humana seleccionadas (en adelante, PLD4-CT125 humana) se seleccionaron adicionalmente para que únicamente las células CT125 permitieran una expresión más alta de PLD4 humana mediante clasificación de FACS y se cultivaron. Para la confirmación de la expresión de PLD4 humana, las células CT125 se tiñeron con anticuerpo policlonal de ratón anti-PLD4 humana asequible comercialmente (Abnova, Núm. de Cat.: H00122618-B01P) ajustado a 5 µg/ml, y se realizó el análisis FACS. Como resultado de ello, se estableció la cepa estable de células PLD4-CT125 humana, y se utilizó en la selección mediante FACS del hibridoma.

Construcción de vectores de expresión de PLD4 de mono cinomolgo y rhesus, y preparación de la cepa estable de células de expresión de PLD4 humana

Para las expresiones de las proteínas PLD4 de mono cinomolgo y rhesus, se realizó la clonación del gen PLD4 de mono y la construcción de vectores de expresión. 1) Clonación del gen PLD4 de mono cinomolgo y PLD4 de mono rhesus

La secuencia de ADNc de PLD4 de mono rhesus es referida en la base de datos Genbank (XM\_002805227.1) y similares, pero no se informa sobre un ADNc parcial, completo del mismo. Además, puesto que aún no se ha informado sobre la secuencia del gen PLD4 de mono cinomolgo, a partir de PBMC (10 mL respectivamente; SHIN NIPPON BIOMEDICAL LABORATORIES, LTD.) de mono cinomolgo y mono rhesus, se realizó la clonación del gen.

El ARN total se extrajo de la sangre periférica del mono y, a partir de 5 µg del mismo, se sintetizó el ADNc utilizando el cebador oligo-dT y el sistema SuperScript Choice para el kit de síntesis de ADNc.

Utilizando el ADNc preparado como molde, el gen PLD4 del mono cinomolgo y el gen PLD4 del mono rhesus se amplificaron con el método de PCR utilizando los cebadores de las siguientes secuencias de bases.

Cebador directo (cynoPLD4-32F): 5' AGA TGC TGA AGC CTC TTC GGA GAG Cg 3' (SEQ ID NO: 61)

Cebador inverso (cynoPLD4-1554R): 5' TCA GCC CTG CCA AAC GCA GTC CTG G3' (SEQ ID NO: 62)

Amplificación de aproximadamente 1521 pares de bases de PLD4 de mono cinomolgo y se aislaron 1521 pares de bases de fragmento de ADNc de PLD4 de mono rhesus mediante electroforesis utilizando gel de agarosa al 1% y se recogieron y clonaron en un vector plasmídico pCR4Blunt-TOPO (Invitrogen Company) utilizando el kit Zero Blunt TOPO PCR Cloning (Invitrogen Company). Se analizaron las secuencias de bases del gen obtenido, que están representadas por SEQ ID NO: 63 y SEQ ID NO: 124. Se confirmó que el gen PLD4 del mono cinomolgo y el gen PLD4 del mono rhesus fueron susceptibles de ser clonados.

La proteína PLD4 humana representa aproximadamente 94,4% de identidad con la secuencia de proteínas de PLD4 de mono cinomolgo (SEQ ID NO: 129), y aproximadamente 94% de identidad con la secuencia de proteínas de PLD4 de mono rhesus (SEQ ID NO: 130). La FIG. 14 ilustra la homología de las secuencias de proteínas de PLD4 humana con PLD4 de mono cinomolgo, PLD4 de mono rhesus y PLD4 de ratón (ADNc SEQ ID NO: 131, aminoácidos SEQ ID NO: 132).

2) Preparación de la cepa estable de células de expresión PLD4 de mono cinomolgo

La cepa estable de células de expresión de PLD4 de mono cinomolgo se estableció cultivando células CT125 infectadas con un vector de retrovirus en presencia de puromicina, en el mismo método que el método de preparación de la cepa estable de células de expresión de PLD4 humana que utilizaba el vector PLD4-pMX-IP de mono cinomolgo preparado.

Para la confirmación de la expresión de PLD4 del mono cinomolgo, las células se tiñeron con el anticuerpo policlonal anti-PLD4 humana de ratón comercialmente disponible (Abnova, Núm. de Cat.: H00122618-B01P) que representan reactividad cruzada también con el análisis de PLD4 y de FACS. Como resultado de ello, se estableció la cepa estable de células PLD4-CT125 de mono cinomolgo, y se utilizó en la selección mediante FACS del hibridoma (Figura 16).

Preparación de la proteína de fusión PLD4-Ig humana

Para su uso como inmunógeno en la preparación de anticuerpo monoclonal anti-PLD4 humana, se amplificaron 2142 pb de un fragmento de ADN, en el que se fusionaron la región extracelular de la proteína PLD4 humana (56-506 aa) y el fragmento Fc de IgG2a de ratón (234 aa que contienen una porción de la bisagra de la cadena pesada,

CH2 y CH3), con el método de PCR de 2 etapas, y se construyeron los plásmidos del vector de expresión de pDAD3.1 de PLD4-humana y pEE14.4 de PLD4-Ig humana (Las secuencias del ADNc y las proteínas se especifican en la lista de secuencias).

Para obtener una proteína del sobrenadante del cultivo, se transfectó transitoriamente el ADN Maxi-prep a células Freestyle 293F (en adelante, células 293F, Núm. de Cat. R790-07; Invitrogen). El día 7 después de la transfección, se recogió el líquido de cultivo de las células 293F cotransfectadas en un tubo de 50 mL y se realizó una centrifugación en condiciones de 2.070 g a 4°C durante 5 minutos. El sobrenadante se filtró con un filtro de jeringa con un tamaño de poro de 0,45 µm (Núm. de Cat. 431220; CORNING), y los sobrenadantes de cultivo se recogieron juntos.

El sobrenadante de cultivo celular recogido se purificó con una columna de afinidad de proteína A del sistema AKTA-FPLC, y se purificó la proteína de la proteína de fusión PLD4-Ig humana recombinante (Figura 7).

### Ejemplo 3

#### A. Preparación de anticuerpo monoclonal anti-PLD4 humana

##### A-1) Inmunización

Como inmunógeno, se utilizó la proteína de fusión PLD4-Ig recombinante mencionada anteriormente. La proteína de fusión PLD4-Ig se administró por vía subcutánea al dorso de 3 ratones BALB/c. Como coadyuvante se utilizaron coadyuvante de Freund Completo e Incompleto (SIGMA), y se administraron 200 µg/ratón la primera vez y 50 µg/ratón de la segunda a la cuarta vez.

##### A-2) Confirmación del título de anti-suero.

La sangre se recogió después de la tercera inmunización y la cuarta inmunización, y el título de anti-PLD4-Ig en el suero se evaluó con ELISA.

La proteína de fusión PLD4-Ig se introdujo en fase sólida en una placa de microtitulación de 96 pocillos. El antisuero se diluyó escalonadamente 1:1.000 3 veces, y se prepararon series de diluciones hasta 1:729.000. Cada una de las muestras se añadió a la placa de fase sólida del antígeno en 50 µl y se realizó la reacción primaria. Después del lavado, la reacción secundaria se realizó con el anticuerpo anti-IgG de ratón (κ, λ) marcado con HRP, y se detectó el color (490 nm) con OPD (orto-fenilendiamina).

##### A-3) fusión celular

Se aislaron células esplénicas de un ratón para lo cual se reconoció un aumento del título anti-suero. La célula esplénica aislada y la célula de mieloma de ratón (P3U1) se fusionaron con el método de PEG, y la selección y el cultivo de la célula esplénica de fusión se realizaron a partir de medio HAT.

#### Escrutinio mediante FACS de hibridoma utilizando células CAL-1

Los anticuerpos que producen cada clon de la célula esplénica de fusión obtenida a partir del cultivo de selección HAT se evaluaron mediante FACS. Las células de la cepa CAL-1 de células similares a pDC humanas a  $2 \times 10^5$  se hicieron reaccionar con 50 µl de sobrenadante de cultivo de cada uno de los hibridomas descritos a continuación durante 15 minutos a 4°C. Las células se lavaron con tampón FACS (FBS al 1% + PBS) dos veces, se centrifugaron y se eliminó el sobrenadante. La reacción se realizó durante 20 minutos a 4°C utilizando un anticuerpo anti-IgG de ratón marcado con PE (BD Bioscience: 550589) como anticuerpo secundario. El líquido de cultivo después de 10 días desde el inicio del cultivo de selección con HAT se utilizó como multiplicidad de dilución original para el sobrenadante de cultivo de cada clon. Como resultado de ello, 3B4, 5B7, 7B4, 8C11, 10C3, 11D10, 13D4, 13H11, 14C1 y 11G9.6 de los sobrenadantes de cultivo de hibridomas reaccionaron bien con las células CAL-1 (FIG. 11).

#### Escrutinio mediante FACS de hibridomas utilizando una cepa de células estable PLD4-CT125 humana

Los anticuerpos que producen cada clon de la célula esplénica de fusión obtenida del cultivo de selección HAT se evaluaron con FACS. Se hizo reaccionar PLD4-CT125 humana en  $2 \times 10^5$  durante 15 minutos a 4°C con 50 µl de sobrenadante de cultivo de cada uno de los hibridomas descritos a continuación. Las células se lavaron con tampón FACS (FBS al 1% + PBS) dos veces, se centrifugaron y se eliminó el sobrenadante. La reacción se realizó durante 20 minutos a 4°C utilizando un anticuerpo anti-IgG de ratón marcado con PE (BD Bioscience: 550589) como anticuerpo secundario. Como resultado de ello, 3B4, 5B7, 7B4, 8C11, 10C3, 11D10, 13D4, 13H11, 14C1 y 11G9.6 de los sobrenadantes de cultivos de hibridomas reaccionaron bien con las células PLD4-CT125 humanas (FIG. 12).



## A-5) Prueba de detección de FACS utilizando pDC de sangre periférica humana

[Aislamiento de PBMC humanas]

- 5 Se recogieron 20 mL de sangre periférica de un individuo sano y se aisló la célula mononuclear de sangre periférica (PBMC) con una centrífuga de gravedad específica utilizando HISTOPAQUE-1077 (SIGMA Company). Se tiñeron  $1 \times 10^6$  PBMC para cada muestra. Las células se lavaron con tampón FACS y a continuación se les añadieron 25  $\mu$ l de dilución 1:5 del reactivo de bloqueo de Fc (Miltenyi Company) y se hicieron reaccionar a 4°C durante 15 minutos. Las células se lavaron con tampón FACS y a continuación se añadieron 50  $\mu$ l del sobrenadante del cultivo celular de cada hibridoma e IgG2b de ratón,  $\kappa$ , y se hicieron reaccionar a 4°C durante 20 minutos. Las células se lavaron con tampón FACS y a continuación se les añadieron anticuerpo anti-IgG de ratón marcado con PE y se hicieron reaccionar a 4°C durante 20 minutos. Las células se lavaron con tampón FACS y a continuación se les añadieron 50  $\mu$ l de una dilución de 1:10 del anticuerpo anti-BDCA2 marcado con APC, y se hicieron reaccionar a 4°C durante 20 minutos. Las células se lavaron con tampón FACS y a continuación se resuspendieron en 300  $\mu$ l de tampón FACS y se analizaron con FACS Calibur (BD). El anticuerpo mp11G9.6 exhibió la unión a pDC (FIG. 10).

Además, 9 tipos de anticuerpos PLD4 de 3B4, 5B7, 7B4, 8C11, 10C3, 11D10, 13D4, 13H11 y 14C1 mostraron una reacción de unión específica para la población de células pDC, que era una célula positiva para BDCA2 (FIG. 13).

## 20 A-6) Reactividad cruzada de anticuerpo anti-PLD4 para mono

Selección mediante FACS de hibridoma utilizando la cepa de células estables PLD4-CT125 de mono cinomolgo y la célula transfectante transitoria PLD4-293T de mono rhesus

- 25 Los anticuerpos que producen cada clon de la célula esplénica de fusión obtenida del cultivo de selección HAT se evaluaron con FACS. Se hizo reaccionar PLD4-CT125 humana en  $2 \times 10^5$  con 50  $\mu$ l de sobrenadante de cultivo de cada uno de los hibridomas descritos a continuación durante 15 minutos a 4°C. Las células se lavaron con tampón FACS (FBS al 1% + PBS) dos veces, se centrifugaron y se eliminó el sobrenadante. La reacción se realizó durante 20 minutos a 4°C utilizando un anticuerpo anti-IgG de ratón marcado con PE (BD Bioscience: 550589) como anticuerpo secundario. Como resultado de esto, 7 tipos de anticuerpos de 3B4, 5B7, 7B4, 13D4, 13H11, 14C1 y 11G9.6 entre 10 tipos de anticuerpos de PLD4 reaccionaron bien con las células PLD4-CT125 de mono cinomolgo y las células PLD4-293T de mono rhesus (FIG. 15, FIG. 16 y FIG 17).

## 35 A-7) Reactividad cruzada de anticuerpo anti-PLD4 para PBMC de mono

- Las PBMC de mono rhesus de sangre periférica (10 ml; SHIN NIPPON BIOMEDICAL LABORATORIES, LTD.) se centrifugaron con una gravedad específica utilizando Ficoll-Paque al 96% (marca registrada) PLUS (GE Healthcare Company, Núm. de Cat. 17-1440-02). Para la FACS, se utilizaron  $5 \times 10^5$  células por muestra. Las células se lavaron con tampón FACS y a continuación se les añadieron 10  $\mu$ l de suero de mono cinomolgo al 10% diluido con tampón FACS y se hicieron reaccionar a 4°C durante 20 minutos. Las células se lavaron con tampón FACS y a continuación se les añadieron 100  $\mu$ l del sobrenadante del cultivo celular de cada hibridoma y 10  $\mu$ g/mL de IgG2a de ratón,  $\kappa$  o IgG1 de ratón,  $\kappa$  y se hicieron reaccionar a 4°C durante 15 minutos. Las células se lavaron con tampón FACS y a continuación se les añadieron 1  $\mu$ g/mL de anticuerpo anti-IgG de ratón marcado con APC y se hicieron reaccionar a 4°C durante 20 minutos. Las células se lavaron con tampón FACS y a continuación se hicieron reaccionar con 25  $\mu$ l de dilución 1:10 de anticuerpo anti-Linaje 1 marcado con FITC, anticuerpo anti-CD123 marcado con PE y anticuerpo anti-HLA-DR marcado con PcrCP-Cy5.5 a 4°C durante 15 minutos. Las células se lavaron con tampón FACS y a continuación se resuspendieron en 300  $\mu$ l de tampón FACS y se analizaron con FACS calibur. El sobrenadante de cultivo de hibridoma utilizado fue específico para PLD4, y se seleccionaron 10 tipos de 3B4, 5B7, 7B4, 8C11, 10C3, 11D10, 13D4, 13H11, 14C1 y 11G9.6, que se unieron bien a las células CAL-1 o pDC humanas. Como resultado de ello, 5 tipos de sobrenadantes de cultivos celulares de hibridoma, es decir, 5B7, 7B4, 13D4, 13H11 y 14C1 se unieron específicamente a la población de células pDC de monos cinomolgos (Linaje-CD123+ HLA-DR+) (FIG. 18).

## A-8) Clonación del hibridoma por el método de dilución limitante

- 55 1) Clonación y 2° escrutinio mediante el método de dilución limitante.

- Para la clonación de 9 tipos seleccionados (3B4, 5B7, 7B4, 8C11, 10C3, 11D10, 13D4, 13H11 y 14C1) de hibridomas, excepto el hibridoma 11G9.6, se realizó una dilución limitante. La dilución limitante se sembró en 2 piezas de placa de 96 pocillos. Después de 6 días desde la siembra, se observaron las células al microscopio y se recogieron los sobrenadantes de cultivo que se obtuvieron de monoclonos y mostraron un buen crecimiento en todos los pocillos. Se realizó un análisis mediante FACS del sobrenadante de cultivo recogido como muestra.

En el análisis FACS, el antígeno de superficie de la cepa celular CAL-1 se tiñó utilizando el sobrenadante de cultivo de cada clon, seguido de un anticuerpo anti-IgG de ratón marcado con PE (BD Bioscience: 550589) como anticuerpo

secundario. Como sobrenadante de cultivo de cada clon, se utilizó el líquido de cultivo después de 7 días desde la siembra de la dilución limitante como multiplicidad de dilución original.

#### 2) Clonación y tercer escrutinio.

Basándose en los resultados del análisis FACS del segundo escrutinio y el estado celular en cada pocillo, se seleccionó 1 pocillo de cada clon y se realizó nuevamente una dilución limitante. La dilución limitante se realizó de manera similar a la mostrada en el apartado 2), y se realizó un análisis FACS (3º) para el sobrenadante de cultivo recogido como muestra. Basándose en los datos del análisis FACS y similares, se clonaron los 9 siguientes tipos (3B4, 5B7, 7B4, 8C11, 10C3, 11D10, 13D4, 13H11 y 14C1) de los clones mediante el método de dilución limitante y se estableció el hibridoma de producción de anticuerpo anti-PLD4 humana como una cepa celular estable.

#### 3) Conversión en un solo hibridoma 11G9.6

El hibridoma 11G9.6 distinto de los 9 tipos mencionados anteriormente se recogió y se suspendió con un tampón de clasificación (FBS al 1%/PBS) para que tuviera  $1 \times 10^5$  células/mL. La clasificación de células individuales se realizó utilizando FACS Aria (BD). Se incorporaron los datos y los datos incorporados se desarrollaron para un diagrama de puntos bidimensional del eje X: FSC y eje Y: SSC. En el diagrama de puntos, las células vivas estaban rodeadas por ventana citométrica. La ventana citométrica se cubrió para excluir el doblete de las células en la ventana citométrica de células vivas, la población celular se aisló y se recogió en una placa plana de 96 pocillos para que tuviera 1 célula/pocillo. Las células después de la clasificación de células individuales se cultivaron en medio HAT (RPMI 1640+ 2 mM L-glutamina, 10 unidades/mL de penicilina-estreptomicina, HEPES 10 mM, piruvato de sodio 1 mM, 2-ME 50 µM) + suplemento de crecimiento de hibridoma HFCS (Empresa Company). A continuación, se tiñeron las células CAL-1, la cepa celular estable de expresión PLD4-CT125 humana, las PBMC humanas y la cepa celular estable de expresión PLD4-CT125 de mono utilizando el sobrenadante de cultivo de células del hibridoma, y se seleccionó 11G9.6 de hibridoma único.

#### 4) Preparación de vial de células congeladas y recolección del sobrenadante de cultivo.

Basándose en los resultados del análisis FACS descritos anteriormente y el estado de la célula de cada pocillo, se seleccionó 1 pocillo de cada clon. Para el pocillo seleccionado, se realizó el cultivo de expansión a una escala de 50 ml. El medio era RPMI 1640 que contenía FCS al 10% y penicilina-estreptomicina. Las células se cultivaron hasta la subconfluencia, y se congelaron y conservaron a un número de células de  $1 \times 10^6$  células/tubo. Como líquido de congelación y conservación, se utilizó BAMBANKER (NIPPON Genetics, Co. Ltd.). Además, se recogió y conservó el sobrenadante de cultivo en este momento.

#### Ejemplo 4

##### Purificación De Anticuerpos

Se obtuvieron 10 tipos (3B4, 5B7, 7B4, 8C11, 10C3, 11D10, 13D4, 13H11, 14C1 y 11G9.6) de anticuerpos purificados a partir de los sobrenadantes de cultivo de los hibridomas mediante purificación utilizando la columna de afinidad de proteína A (rProtein A) Sepharose Fast Flow (Núm. de catálogo 17-1279-01, GE Healthcare Company). Los isotipos se confirmaron utilizando Pierce Rapid ELISA Mouse mAb Isotyping Kit (Thermo Fisher Scientific Company). Como resultado de ello, 3B4 y 14C1 fueron IgG1, κ, de ratón 10C3 fue IgG2a, κ de ratón y los otros fueron IgG2b, κ de ratón. La medición de la concentración de endotoxinas se realizó ya que si la endotoxina estuviera contenida en el anticuerpo purificado, podría influir en los resultados de una prueba de determinación de propiedades. Los kits utilizados fueron el grupo Endospecy ES-50M, el grupo Toxicolor DIA-MP y el grupo CSE-L patrón de endotoxina (SEIKAGAKU BIOBUSINESS CORPORATION Company). Como resultado de ello, la concentración de endotoxinas de cualquier anticuerpo purificado fue de 0,3 UE/mg o menos de Ab, que era el valor de referencia.

##### Revisión de la reactividad del anticuerpo purificado.

La capacidad de unión del anticuerpo purificado se confirmó con células CAL-1 que son cepas de células similares a pDC humanas. Como resultado, se pudo confirmar que cualquier anticuerpo mantenía la capacidad de unión a PLD4 humana en la superficie celular (FIG. 11). Además, el anticuerpo también se unió específicamente a la población de células pDC (BDCA2+) de la sangre periférica humana (FIG. 13).

##### Cálculo del valor Kd del anticuerpo contra PLD4 purificado

Para determinar la capacidad de unión del anticuerpo purificado, la cepa celular estable de expresión de PLD4-CT125 humana se hizo reaccionar a casi 100% de la tasa de tinción positiva de baja concentración a alta concentración (0,001 µg/mL a 30 µg/mL) de concentración de anticuerpo contra PLD4 purificada. La frecuencia de

tinción de células positivas y de anticuerpos se sometió a análisis de datos utilizando el soporte lógico Graph Pad Prism versión 5, y la concentración molar de la constante de disociación (valor Kd) se calculó en una unidad nM. Debido al hecho de que los valores de Kd (nM) de los anticuerpos anti-PLD4 fueron todos 1 nM o menos o 1 nM casi excepto los 2 clones de 3B4 y 14C1, los anticuerpos anti-PLD4 se unieron muy fuertemente a la célula PLD4-CT125 humana (Figura 19).

#### Ejemplo 5

Actividad de citotoxicidad dependiente del complemento del anticuerpo anti-PLD4 para células de expresión de PLD4-CT125 humanas

La actividad de citotoxicidad dependiente del complemento (de aquí en adelante, denominada actividad CDC) del anticuerpo anti-PLD4 se midió para la cepa de células CT125 que expresa PLD4 humana (en adelante, denominada HuPLD4-CT-125) utilizando suero de conejo inmaduro como fuente de complemento. El índice de la actividad fue la toxicidad celular calculada a partir del valor medido de la Lactasa deshidrogenasa (LDH) liberada desde la célula. Cada célula se dispuso a una placa con fondo en forma de U de 96 pocillos en  $2 \times 10^4$  células/50 µL/pocillo. Se preparó complemento de cría de conejo al 1% (CEDARLANE Company) en medio CDC (RPMI 1640 + BSA al 0,1% + HEPES 10 mM + L-glutamina 2 mM + Pen-Strep al 1%). A las células se les añadieron 10 µg/mL de anticuerpo de control de isotipo de ratón (IgG2b, κ de ratón) y 10 tipos de anticuerpos purificados de ratón anti-PLD4 (3B4, 5B7, 7B4, 8C11, 10C3, 11D10, 13D4, 13H11, 14C1, y 11G9.6), y se dejaron reaccionando durante 1 hora. Para el sistema de ensayo, se utilizó el kit de ensayo de citotoxicidad no radioactiva CytoTox 96 (Promega Company). Como resultado de ello, para la célula diana de HuPLD4-CT-125, 8 tipos de los anticuerpos contra PLD4 (5B7, 7B4, 8C11, 10C3, 11D10, 13D4, 13H11 y 11G9.6) mostraron una actividad de CDC de aproximadamente 33,5% a 71,1% a 10 µg/mL de concentración de anticuerpo, excepto 2 tipos de anticuerpos contra PLD4, 3B4 y 14C, de los cuales el isotipo de la cadena pesada era IgG1 de ratón (FIG. 20).

#### Ejemplo 6

La actividad citotóxica dependiente de la concentración, dependiente del complemento del anticuerpo de control de isotipo de ratón (IgG2b κ, de ratón) del anticuerpo anti-PLD4 (11G9.6), el anticuerpo de ratón anti-PLD4 (mp11G9.6 Ab), anticuerpo de control de isotipo humano (IgG1, κ humana), y el anticuerpo quimérico anti-PLD4 (ch11G9 Ab) se ajustaron a un total de 6 puntos de la concentración de anticuerpo de 0,1 µg/mL a 30 µg/mL. Como sistema de ensayo, se utilizó el kit del ensayo de citotoxicidad no radioactiva CytoTox 96 (Promega Company). Como resultado de esto, para la célula diana de HuPLD4-CT-125, mp11G9.6Ab exhibió aproximadamente 70% de actividad CDC dependiente de la concentración, a 3 µg/mL de concentración de anticuerpo. Por otro lado, ch11G9Ab, que era un anticuerpo quimérico, mostró 10% o menos de la actividad de los CDC incluso a 30 µg/mL de concentración máxima (FIG. 21).

#### Ejemplo 7

Preparación de anticuerpos quiméricos.

Se prepararon 10 clases en forma de un hibridoma que produce un anticuerpo anti-PLD4 de ratón y se utilizaron.

##### 1. Confirmación de isotipo de la región constante.

Se confirmó el isotipo de la región constante del anticuerpo anti-PLD4 de ratón producido a partir del hibridoma que produce el anticuerpo anti-PLD4. A partir del cultivo de sobrenadantes de los hibridomas de 10 tipos (3B4, 5B7, 7B4, 8C11, 10C3, 11D10, 13D4, 13H11, 14C1 y 11G9.6), se confirmó el isotipo utilizando Pierce Rapid ELISA Mouse mAb Isotyping Kit (Thermo Fisher Empresa científica). Como resultado de ello, 3B4 y 14C1 fueron IgG1 de ratón e Ig kappa de ratón, 10C3 fue IgG2a de ratón e Ig kappa de ratón, y los otros son IgG2b de ratón e Ig kappa de ratón.

##### 2. Clonación del ADNc que codifica la región variable del anticuerpo anti-PLD4 de ratón

###### 2-1) Aislamiento de ARN total

A partir del hibridoma 11G9.6, se aisló el ARN total utilizando un kit disponible comercialmente, "RNeasy Mini Kit" (Qiagen Company, Núm. de Cat.: 74106) de acuerdo con las instrucciones adjuntas al kit. Se preparó a partir de  $5 \times 10^6$  células de la cepa de células del hibridoma y aproximadamente 79 µg de ARN total.

###### 2-2) Amplificación y fragmentación de ADNc que codifica la región variable de cadena pesada del ratón

Se utilizaron 5 µg del ARN total aislado en el apartado 2-1), y el ADNc que codifica la región variable de cadena pesada del ratón se amplificó mediante el método de PCR 5' RACE. En la amplificación, se utilizó un kit disponible

comercialmente, "5' RACE System for Rapid Amplification of cDNA ENDS, Version 2.0 Kit" (Invitrogen Company, Núm. de Cat.: 18374-058). Los detalles son los siguientes. Primero, se sintetizó ADNc monocatenario mediante la enzima de transcripción inversa a partir del ARN total obtenido en 2-1). En este momento, el cebador antisentido (GSP1) se utilizó de la siguiente manera. Los cebadores GSP1 utilizados en la amplificación del ADNc se utilizaron de manera diferente dependiendo del isotipo de cada cadena pesada de ratón.

Por ejemplo, en la clonación de las regiones variables de la cadena pesada de los hibridomas 3B4 y 14C1 que tienen cadenas pesadas de IgG1 de ratón, se utilizan los siguientes cebadores antisentido.

Cebador GSP1: mu IgG1VH-GSP1  
Secuencia: 5'-CCA GGA GAG TGG GAG AGG CTC TTC TCA GTA TGG TGG-3' (Polímero de 36 unidades) (SEQ ID NO: 64)  
Cebador GSP2: mu IgG1VH-GSP2  
Secuencia: 5'-GGC TCA GGG AAA TAG CCC TTG ACC AGG CAT CC-3' (Polímero de 32 unidades) (SEQ ID NO: 65)

En la clonación de las regiones variables de cadena pesada de hibridoma 10C3 que tienen cadena pesada de IgG2a de ratón, se utilizan los siguientes cebadores antisentido.

Cebador GSP1: mu IgGHy1-GSP1  
Secuencia: 5' TCC AGA GTT CCA GGT CAC TGT CAC 3' (Polímero de 24 unidades) (SEQ ID NO: 66)  
Cebador GSP2: mu IgGHy1-GSP2  
Secuencia: 5' AGG GGC CAG TGG ATA GAC AGA TGG 3' (Polímero de 24 unidades) (SEQ ID NO: 67)

En la clonación de las regiones variables de la cadena pesada de 5B7, 7B4, 8C11, 11D10, 13D4, 13H11 y 11G9.6 que tienen cadenas pesadas de IgG2b de ratón, se utilizan los siguientes cebadores antisentido.

Cebador GSP1: mu IgGHy2B-GSP1  
Secuencia: 5' TCC AGA GTT CCA AGT CAC AGT CAC 3' (Polímero de 24 unidades) (SEQ ID NO: 68)  
Cebador GSP2: mu IgGHy2B-GSP2  
Secuencia: 5' AGG GGC CAG TGG ATA GAC TGA TGG 3' (Polímero de 24 unidades) (SEQ ID NO: 69)

Además, al extremo 3' del ADNc de hebra sencilla, se le añadió dC, que es un homopolímero nucleotídico, utilizando desoxinucleotidil transferasa terminal (TdT). A continuación, se amplificó el ADNc por el método de PCR utilizando un cebador de anclaje que tiene un polímero nucleotídico complementario a dC (secuencia de anclaje) (SEQ ID NO: 70) en el extremo 3', y un cebador antisentido (GSP2). Además, el ADNc se amplificó mediante el método de PCR Anidada utilizando el producto de PCR obtenido como molde y utilizando el cebador AUAP (SEQ ID NO: 71) y el cebador antisentido que se muestra en la Tabla 1 (GSP2). Además, este producto de PCR se purificó mediante un método de agarosa de bajo punto de fusión al 1,5%.

Cebador ancla para 5' RACE (SEQ ID NO: 70)  
5'-GGC CAC GCG TCG ACT AGT ACG GGI IGG GII GGG IIG-3' Polímero de 36 unidades) cebador AUAP para RACE 5' (SEQ ID NO: 71)  
5'-GGC CAC GCG TCG ACT AGT AC-3' Polímero de 20 unidades)

2-3) Amplificación y fragmentación de ADNc que codifica la región variable de cadena ligera del ratón

El ADNc que codifica la región variable de cadena ligera del ratón se amplificó a partir del ARN total del apartado 2-1) aislado, de manera similar al apartado 2-2). En este momento, los cebadores GSP1 utilizados en la amplificación del ADNc se utilizaron de manera diferente dependiendo del isotipo de cada cadena ligera de ratón.

Los siguientes cebadores antisentido se utilizan para la clonación de cadenas ligeras, ya que los 10 tipos de anticuerpos PLD4 tienen cadenas ligeras kappa de Ig de ratón.

Cebador GSP1: mu IgG VL kappa-GSPI  
Secuencia: 5'-CAC TAC TTC CTG TTG AAG CTC TTG ACG ATG G-3' (Polímero de 31 unidades) (SEQ ID NO: 72)  
Cebador GSP2: mu IgG VL kappa-GSP2  
Secuencia: 5'-GTG AGT GGC CTC ACA GGT ATA GC-3' (Polímero de 23 unidades) (SEQ ID NO: 73)

El producto de PCR obtenido se purificó mediante un método de agarosa de bajo punto de fusión al 1,5%.

2-4) Confirmación de la secuencia de bases de ADNc y determinación de la región CDR

Los fragmentos de ADNc de la región variable de cadena pesada obtenidos en el apartado 2-2), y la región variable de cadena ligera obtenida en el apartado 2-3) se clonaron, respectivamente, con el vector pCR4Blunt-TOPO utilizando un kit disponible comercialmente "Zero Blunt TOPO PCR Cloning Kit". (Invitrogen Company, Núm. de Cat.: 1325137), de acuerdo con las instrucciones adjuntas al kit, y se transformaron en una célula competente de *Escherichia coli* para obtener un transformante de *Escherichia coli*. Se obtuvo un plásmido a partir de este transformante, y la muestra de ADN plasmídico se envió para el análisis de secuencia a Operon Biotechnology Co. Ltd Company (Tokio), y se confirmó la secuencia de bases de ADNc en el plásmido. En el análisis de la secuencia, se utilizaron los programas de soporte lógico "Sequencher DNA sequence assembly and analysis software versión 4.2.2 (Gene Codes Corporation)" y soporte lógico "GENETYX-MAC Versión. 11.1.1" (GENETYX CORPORATION)".

Se extrajo un transcrito de una secuencia correcta excluyendo un transcrito de ARN inactivo, ya que se producen cambio de marco, mutación sin sentido y similares en la periferia de una región determinante de la complementariedad (de aquí en adelante, "región CDR"). Además, para la secuencia de bases de ADNc contenida en el plásmido, se confirmó la homología con la base de datos de inmunoglobulinas (IgBLAST, URL: [www.ncbi.nlm.nih.gov/Igblast/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Igblast/)), y las secuencias de la región CDR en cada región variable (CDR; CDR1, CDR2 y CDR3), la región FW (Regiones de trabajo marco) y las regiones variables se determinaron de acuerdo con el método de análisis del sistema de numeración de Kabat (Kabat et al, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health Publication Núm. 91-3242, 5ª ed., United States Department of Health and Human Services, Bethesda, MD).

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11G9.6 de ratón obtenido es SEQ ID NO: 74, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 75. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11G9.6 de ratón son SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 3B4 de ratón obtenido es SEQ ID NO: 76, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 77. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 3B4 de ratón son SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 y SEQ ID NO: 10, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 5B7 de ratón obtenido es SEQ ID NO: 78, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 79. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 5B7 de ratón son SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 16, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 7B4 de ratón obtenido es SEQ ID NO: 80, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 81. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 7B4 de ratón son SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 16, respectivamente. El anticuerpo 7B4 es un anticuerpo que tiene las mismas secuencias CDR de la región variable de cadena pesada y de cadena ligera que las del anticuerpo 5B7.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 8C11 de ratón obtenido es SEQ ID NO: 82, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 83. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la variable de cadena pesada la región del anticuerpo 8C11 del ratón son SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 y SEQ ID NO: 22, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 10C3 de ratón obtenido es SEQ ID NO: 84, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 85. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 10C3 de ratón son SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 y SEQ ID NO: 28, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11D10 de ratón obtenido es SEQ ID NO: 86, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 87. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11D10 de ratón son SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 y SEQ ID NO: 28, respectivamente. El anticuerpo 11D10 es un anticuerpo que tiene la misma secuencia CDR de la región variable de cadena ligera que la cadena pesada del anticuerpo 10C3. Sin embargo, el isotipo de la cadena pesada (10C3 es la región constante de IgG2a de ratón, y 11D10 es la región constante de IgG2b de ratón) es diferente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13D4 de ratón obtenido es SEQ ID NO: 88, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 89. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13D4 de ratón son SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13H11 de ratón obtenido es SEQ ID NO: 90, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 91. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13H11 de ratón son SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39 y SEQ ID NO: 40, respectivamente.

5 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 14C1 de ratón obtenido es SEQ ID NO: 92, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 93. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 14C1 de ratón son SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39 y SEQ ID NO: 40, respectivamente. El anticuerpo 14C1 es un anticuerpo que tiene las mismas secuencias CDR de las regiones variables de cadena pesada y ligera que las del anticuerpo 13H11. Sin embargo, el isotipo de la cadena pesada (13H11 es la región constante de IgG2b de Ratón, y 14C1 es la región constante de IgG1 de ratón) es diferente.

15 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11G9.6 del ratón es SEQ ID NO: 94, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 95. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11G9.6 de ratón son SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 7, respectivamente.

20 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 3B4 de ratón es SEQ ID NO: 96, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 97. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 3B4 de ratón son SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12 y SEQ ID NO: 13, respectivamente.

25 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 5B7 de ratón es SEQ ID NO: 98, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 99. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 5B7 de ratón son SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 y SEQ ID NO: 19, respectivamente.

30 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 7B4 de ratón es SEQ ID NO: 100, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 101. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 7B4 de ratón son SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 y SEQ ID NO: 19, respectivamente.

35 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 8C11 del ratón es SEQ ID NO: 102, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 103. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 8C11 del ratón son SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24 y SEQ ID NO: 25, respectivamente.

40 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 10C3 de ratón es SEQ ID NO: 104, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 105. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 10C3 de ratón son SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30 y SEQ ID NO: 31, respectivamente.

45 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11D10 de ratón es SEQ ID NO: 106, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 107. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11D10 de ratón son SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30 y SEQ ID NO: 31, respectivamente.

50 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13D4 de ratón es SEQ ID NO: 108, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 109. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13D4 de ratón son SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36 y SEQ ID NO: 37, respectivamente.

55 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13H11 de ratón es SEQ ID NO: 100, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 111. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13H11 de ratón son SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42 y SEQ ID NO: 43, respectivamente.

60 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 14C1 de ratón es SEQ ID NO: 112, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 113. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 14C1 de ratón son SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42 y SEQ ID NO: 43, respectivamente.

### 3. Preparación del vector de expresión del anticuerpo quimérico 11G9.6

## 3-1. Clonación de ADNc que codifica la región constante de Ig humana

A partir del ARN total de las PBMC humanas, se clonaron los ADNc de la región constante de cadena pesada de IgG1 humana y la región constante de la cadena ligera kappa de IgG humana, y se clonaron con el vector pCR4Blunt-TOPO, respectivamente, utilizando un kit disponible comercialmente "Zero Blunt TOPO PCR Cloning Kit" (fabricado por Invitrogen Company, Núm. de Cat.: 1325137) de acuerdo con las instrucciones adjuntas al kit, y se transformaron en una célula competente de *Escherichia coli* para obtener un transformante de *Escherichia coli*. Se obtuvo un plásmido a partir de este transformante, y la muestra de ADN plasmídico se envió para el análisis de la secuencia a Operon Biotechnology Co. Ltd (Tokio), y se confirmó la secuencia de la base de ADNc en el plásmido.

## 3-2. Preparación de ADNc que codifica la cadena pesada del anticuerpo contra PLD4 quimérico

El ADNc que codifica la cadena pesada de un anticuerpo contra PLD4 quimérico se preparó mediante ligación con el vector de expresión del vector pEE6.4 que tiene la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11G9.6 de ratón obtenido en el apartado 2-2, y la región constante de cadena pesada de IgG1 humana. La región variable de cadena pesada del anticuerpo 11G9.6 de ratón se amplificó con el método de PCR y se obtuvo un producto de PCR de aproximadamente 450 bases de longitud. En este momento, el cebador es el que se muestra en la Tabla 1. El producto de PCR obtenido se purificó mediante un método de agarosa de bajo punto de fusión al 1,5%.

[Tabla 1]

Tabla 1

|                                                                       | Nombre de cebador     | Secuencia                                                                                                                                                            |
|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Cebador de expresión de cadena pesada del anticuerpo 11G9.6 quimérico |                       |                                                                                                                                                                      |
| 1)                                                                    | chi11G9VH-IF (Hind3)  | 5' acc AAG CTT gcc gcc acc ATG AAA GTG<br>TTG AGT CTG TTG TAC CTG TTG ACA GCC<br>ATT CCT GGT ATC CTG TCT cag GTC CAA<br>CTG CAG CAG CCT 3' (93-mero) (SEQ ID NO:114) |
| 2)                                                                    | chi11G9VH-444R (ApaI) | 5' cga tgg gcc ctt ggt gct agc TGA GGA GAC<br>GGT GAC TGA GGT 3' (42-mero) (SEQ ID NO:115)                                                                           |
| Cebador de expresión de cadena ligera del anticuerpo 11G9.6 quimérico |                       |                                                                                                                                                                      |
| 5)                                                                    | chi11G9VL-IF (Hind)   | 5' acc AAG CTT gcc gcc acc ATG ATG TCC<br>TCT GCT CAG TTC 3' (39-mero) (SEQ ID NO:116)                                                                               |
| 6)                                                                    | chi11G9VL-408R        | 5' agc cac agt tcg TTT GAT TTC CAG CTT<br>GGT GCC 3' (33-mero) (SEQ ID NO:117)                                                                                       |
| 7)                                                                    | chi11G9VL-385F        | 5' CTG GAA ATC AAA cga act gtg gct gca cca<br>tct 3' (33-mero) (SEQ ID NO:118)                                                                                       |
| 8)                                                                    | chi11G9VL-726R (RI)   | 5' aaa GAA TTC cta gca ctc tcc cct gtt gaa 3'<br>(30-mero) (SEQ ID NO:119)                                                                                           |

La región variable de cadena pesada del anticuerpo de ratón 11G9.6 obtenido en el apartado 2-2 se sometió a un método de PCR para obtener el "Producto de PCR que codifica la región variable de cadena pesada de 11G9.6". El producto de la PCR que codifica la región variable de cadena pesada de 11G9.6 se digirió con las enzimas de restricción Hind III y Apa I, y se purificó con un método en gel de agarosa al 1,5%. Esto se disolvió en ddH<sub>2</sub>O, que se tomó como una solución de un fragmento de ADNc que codificaba la región variable de cadena pesada.

El ADNc obtenido se amplificó con PCR a partir del clon del plásmido pCR4Blunt-TOPO que contiene la región V<sub>H</sub> de 11G9.6, que utiliza cebadores chiG9VH-IF (Hind III) y chi11G9VL-408R, en los cuales se introdujeron los sitios de restricción (Hind III y Apa I) preferidos para la clonación de la región que codifica V<sub>H</sub> de 11G9.6 quimérico en el vector pEE6.4 (fabricado por Lonza Biologics, Slough, Reino Unido), y la secuencia Kozak ideal (GCCGCCACC) como sitios de clonación del vector Hind III y Apa I. Chi11G9VH-pEE6.4 contiene la región constante de cadena pesada de IgG1 humana. El fragmento PCR de V<sub>H</sub> se insertó en el vector pEE6.4 en marco utilizando Hind III y Apa I. La construcción se investigó mediante el análisis de la secuencia de bases de ADNc. Para el análisis de la secuencia, la muestra de ADN plasmídico se envió a Operon Biotechnology Co. Ltd (Tokio), y se confirmó la secuencia de bases de ADNc en el plásmido.

### 3.3 Preparación de ADNc que codifica la cadena ligera del anticuerpo contra PLD4 quimérico

Para preparar el ADNc que codifica la cadena ligera del anticuerpo contra PLD4 quimérico, se fusionaron la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11G9.6 de ratón obtenido en el apartado 2-3, y la región constante de la cadena ligera de Ig kappa humana obtenida en el apartado 3-2 para proporcionar un fragmento de PCR, y el fragmento de PCR se amplificó a un producto de PCR de aproximadamente 730 bases de longitud mediante un enfoque basado en un método de PCR de extensión por solapamiento.

El producto de la PCR que codifica la región variable de cadena ligera de 11G9.6 se digirió con las enzimas de restricción Hind III y EcoR I y se purificó con un método en gel de agarosa al 1,5%. Esto fue disuelto en ddH<sub>2</sub>O, que se tomó como una solución de un fragmento de ADNc que codifica la región variable de cadena ligera.

El ADNc obtenido que codifica V<sub>L</sub> de 11G9 quimérico se amplificó con PCR a partir del clon del plásmido pCR4Blunt-TOPO que contiene la región V<sub>L</sub> de 11G9.6, utilizando los cebadores chi11G9VL-IF (Hind) y chi11G9VL-726R (R I), en los que se introdujeron los sitios de restricción (Hind III y EcoR I) preferidos para la clonación del vector pEE14.4 (fabricado por Lonza Biologics), y la secuencia ideal de Kozak. El vector Chi11G9VL-pEE14.4 contiene la región constante de la cadena ligera de kappa. El fragmento de PCR V<sub>L</sub> se insertó en el vector pEE14.4 en marco utilizando HindIII y EcoR I. El constructo se investigó mediante análisis de secuencia de bases de ADNc.

### 3.4 Construcción del vector de expresión Lonza de doble gen del anticuerpo contra PLD4 quimérico (chi11G9VH/VL)

El anticuerpo contra PLD4 quimérico (vector chi11G9DG), el vector de expresión Lonza combinado en un vector de 2 genes se construyó a partir del vector de expresión de cadena pesada del anticuerpo contra PLD4 quimérico (chi11G9VH-pEE6.4), y el vector de cadena ligera del anticuerpo contra PLD4 quimérico (chi11G9VL-pEE14.4) mediante tecnología de clonación convencional.

## 4. Expresión transitoria en células 293F

Se utilizaron 80 µg de ADN del vector Lonza chi11G9DG, un plásmido vector de expresión transitoria.

Las células 293F se combinaron hasta 80 mL en  $8 \times 10^5$  células/mL en un matraz Erlenmyer de 250 mL (Núm. de Cat. 431144; fabricado por CORNING) el día anterior a la transfección y se cultivaron en las condiciones de 37°C y concentración de CO<sub>2</sub> al 8% durante 7 días con agitación.

Después del cultivo durante 7 días, el líquido de cultivo de las células 293F transfectadas se recogió en un tubo de 50 mL y se realizó una centrifugación en condiciones de 2,070 g a 4°C durante 5 minutos. El sobrenadante se filtró con un filtro de jeringa con un tamaño de poro de 0,45 µm (Núm. de Cat. 431220; fabricado por CORNING), y el sobrenadante del cultivo se recogió para la purificación del anticuerpo.

## 5. Purificación del anticuerpo quimérico anti-PLD4.

Utilizando el sobrenadante de cultivo recogido, la purificación de anticuerpos se realizó utilizando AKTA-FPLC (fabricado por GE Healthcare Japan) y el soporte lógico Unicorn 5.0.

Como columna para la purificación del anticuerpo 11G9.6 quimérico, se utilizó HiTrap MabSelect SuRe 1 mL (Núm. de Cat. 11-0034-93, lote Núm. 10032458; fabricado por GE Healthcare Japan). Las condiciones de la columna son las siguientes. La purificación por afinidad se realizó utilizando un tampón de unión (fosfato sódico 20 mM, NaCl 0,15 M, pH 7,4) y un tampón de elución (citrato sódico 20 mM, pH 3,4). Con el fin de reemplazar el tampón del anticuerpo



después de la purificación con PBS, se realizó un intercambio de tampón utilizando la Unidad de Diálisis MINI Slide-A-Lyzer 10kMWCO.

La concentración del anticuerpo purificado se calculó midiendo la absorbancia a 280 nm, en donde 1 mg/mL se calculó como DO 1,38.

Para ch11G9.6Ab del anticuerpo quimérico anti-PLD4 purificado, la calidad de la proteína se analizó con el método de citometría de flujo y SDS-PAGE.

## Ejemplo 8

Se midió la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (actividad ADCC) del anticuerpo quimérico anti-PLD4 humana preparado (ch11G9.6 Ab). Para determinar la actividad, se utilizó un índice de toxicidad celular calculada a partir del valor de medición de la lactasa deshidrogenasa (LDH) liberada desde la célula. La célula mononuclear de sangre periférica humana que se convirtió en una célula efectora se purificó con una centrifuga de gravedad específica utilizando HISTOPAQUE-1077. Como célula que debía ser la diana, se utilizaron células transformadas preceptivas del gen PLD4 humano empleando una cepa de células CHO-K1 (cepa de células de ovario de hámster chino) (en adelante, HuPLD4-CHO) ( $2 \times 10^4$ /pocillo). El efector y la célula diana se mezclaron a una proporción de 10:1, 20:1, 40:1 y 80:1, y se les añadieron 10 mg/mL de ch11G9Ab o anticuerpo de control de isotipo (IgG1 humana,  $\kappa$ ), se cultivaron a 37°C durante 4 horas, y se evaluó el efecto de la actividad de citotoxicidad del anticuerpo. Como resultado de ello, ch11G9Ab del anticuerpo quimérico anti-hPLD4 mostró un máximo de aproximadamente 50% de actividad ADCC contra las células HuPLD4-CHO que eran la diana, dependientemente de la célula efectora (FIG. 22). Dichos resultados demostraron que el anticuerpo quimérico anti-PLD4 preparado dañó las células que expresaban PLD4 selectivamente.

Se revisaron los efectos del anticuerpo anti-PLD4 en pDC. Las PBMC de la sangre periférica humana se purificaron, se mezclaron con 10  $\mu$ g/mL de anticuerpo quimérico anti-PLD4 humana y se cultivaron durante 24 horas. A continuación, las células se estimularon durante 24 horas con CpG2216, que era un ligando del receptor 9 tipo Toll expresado en pDC, para inducir la producción de IFN $\alpha$ . Después de la estimulación con CpG, se sometió a ensayo la cantidad de IFN $\alpha$  producido, y se confirmó que la producción de IFN $\alpha$  se inhibía completamente mediante el tratamiento de ch11G9Ab del anticuerpo quimérico anti-PLD4 (FIG. 23). En cuanto a este mecanismo, se descubrió que cuando las células se recogieron 24 horas después del tratamiento con ch11G9Ab, y las células pDC se confirmaron con la tinción triple del anticuerpo anti-CD 123, el anticuerpo anti-HLA-DR y el anticuerpo anti-Linaje 1, la población de células pDC disminuyó más que con el tratamiento del anticuerpo de control de isotipo (IgG1 humana,  $\kappa$ ) (FIG. 24). Estos resultados indicaron que el anticuerpo quimérico anti-PLD4 dañó la pDC que expresaba específicamente PLD4, y como resultado de ello, se inhibió la producción de IFN $\alpha$  por medio de estimulación con CpG2216.

Además de ch11G9.6Ab, se examinaron las funciones biológicas de Ab quiméricos anti-PLD4, tales como ch3B4Ab, ch5B7Ab, ch8C11Ab, ch10C3Ab, ch13D4Ab, ch13H11Ab, en pDC primarias humanos. Con el fin de examinar el ensayo de ADCC para pDC, se cultivaron PBMC humanas completas con ch3B4Ab, ch5B7Ab, ch8C11Ab, ch10C3Ab, ch13D4Ab, ch13H11Ab, ch11G9.6Ab, o Ab de isotipo durante 14 h. Las células se recogieron y se tiñeron con BDCA2 y BDCA4 para identificar pDC mediante citometría de flujo. El tratamiento con Ab quiméricos contra PLD4 agotó completamente las pDC en comparación con las PBMC tratadas con el Ab de isotipo (FIG. 25). La producción de IFN $\alpha$  también se midió en el cultivo de PBMC con los Ab quiméricos anti-PLD4. Las PBMC humanas completas se trataron con ch3B4Ab, ch5B7Ab, ch8C11Ab, ch10C3Ab, ch13D4Ab, ch13H11Ab, ch11G9.6Ab, o Ab de isotipo. Después de 24 h, se añadió CpG2216 inducible por IFN $\alpha$  al cultivo y las células se cultivaron adicionalmente durante 24 h. Los sobrenadantes de cultivo se recogieron y se midió la producción de IFN $\alpha$  mediante ELISA. Todas las PBMC quiméricas tratadas con Ab PLD4 eliminaron completamente la producción de IFN $\alpha$  en comparación con las PBMC tratadas con isotipo Ab (FIG. 26). Estos resultados indicaron que el Ab quimérico anti-PLD4 abolió la función de las pDC, por ejemplo disminuyendo en gran medida las cantidades de producción de IFN $\alpha$  al agotar las pDC a través de la actividad ADCC.

1. La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11G9.6 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 74, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 75. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11G9.6 de ratón son SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4, respectivamente.

2. La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11G9.6 de ratón anti-PLD4 (504 pb) [Mayúsculas: región variable de 11G9.6VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG2b de ratón] (SEQ ID NO: 74)

ATGAGATCACAGTTCTCTATACAGTTACTGAGCACACAGAACCTCACCTTGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGT  
AGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCAGGTCCAAGTGCAGCAGCCTGGGGCTGAAGTGGTGAAGCCTGGGACTTCAGTGA  
AAATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCAGTGGGTGAAGCAGAGGCCGGGACAAGGCCTT  
GAGTGGATTGGAGATATTTATCCTGGTAGTGATAGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGCCACACTGACTGT  
AGACACATCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAG  
GAGGGTGGTTGGATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGccaaaacaacacccccatca  
gtctatccactggcccttaagggc

La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11G9.6 de ratón (168 a.a.) [Mayúsculas: región variable de 11G9.6VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG2b de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa las regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3) (SEQ ID NO: 75).

MRSQFSIQLLSTQNLTLGWSCIILFLVATATGVHSQVQLQQPGAELVKPGTSVKMSCK  
ASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGDIYPGSDSTNYNEKFKSKATLTVDTSSTA  
YMQLSSLTSEDSAVYYCARGGWLDAMDYWGQGTSVTVSSaktppsvyplapkg

CDR1 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11G9.6  
SYWMH (SEQ ID NO: 2)  
CDR2 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11G9.6  
DIYPGSDSTNYNEKFKS (SEQ ID NO: 3)  
CDR3 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11G9.6  
GGWLDAMDY (SEQ ID NO: 4)

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11G9.6 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 38, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 39. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11G9.6 de ratón son SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41 y SEQ ID NO: 42, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11G9.6 de ratón anti-PLD4 (421 pb) [Mayúsculas: región variable de 11G9.6VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera de IgK de ratón] (SEQ ID NO: 94)

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATGTGATATCCAGATGACACAGAC  
TACATCCTCCTGTCTGCCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAA  
ACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAACTCCTGATCTACTACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCA  
AGGTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATTATGCCACTTACTT  
TTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTGGACGTTCCGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAACggggctgatgctgcaccaa  
ctgtatccatcaagggcgaat

La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11G9.6 de ratón (140 a.a.) [Mayúsculas: región variable de 11G9.6VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera de IgK de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa las regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3) (SEQ ID NO: 95).

MMSSAQFLGLLLLCFQGRCDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASODISNYLNWYQ  
QKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQOGNTLP  
WTFGGGTKLEIKradaaptvsikge

CDR1 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11G9.6  
RASQDISNYLN (SEQ ID NO: 5)  
CDR2 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11G9.6  
YTSRLHS (SEQ ID NO: 6)  
CDR3 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11G9.6  
QQGNTLPW (SEQ ID NO: 7)

2. La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 3B4 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 76, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 77. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 3B4 de ratón son SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 y SEQ ID NO: 10, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 3B4 de ratón anti-PLD4 (437 pb) [Mayúsculas: región variable de 3B4VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG1 de ratón]

ATGGAATGTAAGTGGATACTTCCTTTTATTCTGTGCGTAATTTTCAGGGGTCTCCTCAGAGGTTAGCTCCAGCAGTCTGG  
GACTGTGCTGTCAAGGCCTGGGGCTTCCTGTGACGATGTCTGCAAGGCTTCTGGCGACAGCTTTACCACCTACTGGATGC  
ACTGGGTAACAGAGGCCTGGACAGGGTCTAGAATGGATTGGTGTCTATCTATCCTGGAAATAGTGAACTAGCTACAAC  
CAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCAACTGACTGCAGTCACATCCGCCAGCACTGCCTATATGGAGTTCACTAGCCTGACAAA  
TGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACGGGGGTTATTCCGACTTGTACTGTTGGGCAAGGCACCACTCTCACAGTCT  
CCTCAGccaaaacgacacccccatctgtctatccact

La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 3B4 de ratón (145 a.a.) [mayúsculas: región variable de 3B4VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG1 de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

MECNWILPFILSVISGVSEVQLQQSGIVLSRPGASVIMSCKASGDSFITYWMHWVK  
QRPQGGLEWIGAIYPGNSETSYNQKFKGKAKLTAVTSASTAYMEFTSLTNEDSAVYY  
CTGGYSDFDYWGQGTTLTVSSaktppsvyp

CDR1 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 3B4  
TYWMH  
CDR2 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 3B4  
AIYPGNSETSYNQKFKG  
CDR3 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 3B4  
GYSDFDY

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 3B4 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 96, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 97. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 3B4 de ratón son SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12 y SEQ ID NO: 13, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 3B4 de ratón anti-PLD4 (459 pb) [mayúsculas: región variable de 3B4VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera de IgK de ratón]

ATGATGGTCCTTGCTCAGTTTCTTGCAATTCTTGTGCTTTGGTTTCCAGGTGCAGGATGTGACATCCTGATGACCCAATC  
TCCATCCTCCATGTCTGTATCTCTGGGAGACACAGTCAGCATCACTTGCCATGCAAGTCAGGGCATTAGAAGTAATATAG  
GGTGGTTGCAGCAGAAACCAGGGAATCATTAAAGGGCCTGATCTTTCATGGAACCACTTGAAGATGGAGTTCATCA  
AGGTTCACTGGCAGAGGATCTGGAGCAGATTATTCTCTCACCATCAACAGCCTGGAATCTGAAGATTTGCAGACTATTA  
CTGTGTACAGTATGTTTCTTCTCAACGTTCCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAATAAGAcgggctgatgtgcaccaa  
ctgtatccatcttcccaccatccagtgcagcagtaacatctggaggtgcctcagtcgtg

La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 3B4 de ratón (153 a.a.) [mayúsculas: región variable de 3B4VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera de IgK de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

MMVLAQFLAFLLLWFPGAGCDILMTQSPSSMSVSLGDTVSITCHASQGIRSNIGWLQ  
QKPGKSFKGLIFHGTNLEDGVPSRFSGRGSGADYSLTINSLESEDFADYYCVQYVQFP  
PTFGSGTKLEIRradaaptvsifppsseqltsggasvv

CDR1 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 3B4  
HASQGIRSNIG  
CDR2 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 3B4  
HGTNLED  
CDR3 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 3B4  
VQYVQFP

3. La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 5B7 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 78, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 79. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 5B7 de ratón son SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 16, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 5B7 de ratón anti-PLD4 (475 pb) [mayúsculas: región variable de 5B7VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG2b de ratón]

ATGGGATGGAGCTGGATCTTTCTCTTCCTCCTGTCAGGAAGTGCAGGCGTCCACTCTGAGGTCCAGCTTCAGCAGTCAGG  
ACCTGAACTGGTGAAACCTGGGGCCTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTGACTACAACCTGC  
ACTGGGTGAAGCAGAGCCATGGAAGAGCCTTGAGTGGATTGGATATATTTATCCTTACAATGGTAATACTGGCTACAAC  
CAGAAGTTCAAGAGGAAGGCCACATTGACTGTAGACAATTCCTCCGGCACAGTCTACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATC  
TGAGGACTCTGCACTCTATTACTGTGCAAGAGGAGGATCTATGATGATTACTACGACTATGCTATCGACTATTGGGGTC  
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCagccaaaacaacacccccatcagtcctatccactggccccaagggcgaa

La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 5B7 de ratón (158 a.a.) [mayúsculas: región variable de 5B7VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG2b de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

MGWSWIFLFLLSGTAGVHSEVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWV  
KQSHGKSLEWIGYIYPYNGNTGYNQKFKRKATLTVDNSSGTVYMELRSLTSEDSAV  
YYCARGGIYDDYDYAIDYWGQGTSVTVSSakttppsvyplapke

CDR1 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 5B7  
DYNLH  
CDR2 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 5B7  
YIYPYNGNTGYNQKFKR  
CDR3 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 5B7  
GGIYDDYDYAIDY

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 5B7 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 98, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 99. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 5B7 de ratón son SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 y SEQ ID NO: 19, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo de ratón 5B7 anti-PLD4 (467 pb) [mayúsculas: región variable de 5B7VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera de Igk de ratón]

ATGAGTGTGCCCCTCAGGTCCTGGGGTGTCTGCTGTGGCTTACAGATGCCAGATGTGACATCCAGATGACTCAGTC  
TCCAGCCTCCCTATCTGTATCTGTGGGAGAACTGTGCCATCACATGTCGAGCAAGTGAGAATATTTACAGTCATATAG  
CATGGTATCAGCAGAAAGAGGGAAATCTCCTCAGCGCCTGGTCTATGGTGCAACAACTTAGCACATGGTGTGCCATCA  
AGGTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGCACACAGTATTCCTCAAGATCAACAGCCTTCAGTCTGAAGATTTTGGGAGTTATTA  
CTGTCAACATTTTGGGGTACTCCGTGGACGTTCCGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAacgggctgatgtgcaccaa  
ctgtatccatcttcccaccatccagttagcagtttaacatctggaggtgctcagtcgtgtcttctt

La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 5B7 de ratón (155 a.a.) [mayúsculas: región variable de 5B7VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera de Igk de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa las regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

MSVPTQVLGLLLLWLTDARCDIQMTQSPASLSVSVGETVAITCRASENIYSHIAWYQ  
QKEGKSPQRLVYGATNLAHGVPSPRFSGSGSGTQYSLKINSLSQSEDFGSYYCQHFHWGT  
PWTFGGGKLEIKradaaptvsifppsseqtsggasvvcf

CDR1 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 5B7  
RASENIYSHIA

CDR2 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 5B7  
GATNLAH  
CDR3 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 5B7  
QHFWGTP

4. La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 7B4 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 80, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 81. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 7B4 de ratón son SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 16, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 7B4 de ratón anti-PLD4 (470 pb) [mayúsculas: región variable de 7B4VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG2b de ratón]

ATGGGATGGAGCTGGATCTTTCTCTTCCTGTCAGGAAGTGCAGGCGTCCACTCTGAGGTCCAGCTTCAGCAGTCAGG  
ACCTGAAGTGGTGAACCTGGGGCTCAGTGAAGATATCTTCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTACTACAACCTGC  
ACTGGGTGAAGCAGAGCCATGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGATATATTATCTTACAATGGTAATACTGGCTACAAC  
CAGAAGTTCAGAGGAAGCCACATTGACTGTAGACAATCTCCGGCACAGTCTACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATC  
TGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAGGAGGATCTATGATGATTACTACGACTATGCTATCGACTATTGGGGTC  
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCTCAGccaaaacaacacccccatcagtcctatccactggcccttaaggg

La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 7B4 de ratón (156 a.a.) [mayúsculas: región variable de 7B4VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG2b de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa las regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

MGWSWIFLFLLSGTAGVHSEVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWV  
KQSHGKSLEWIGYIYPYNGNTGYNQKFKRKATLTVDNSSGTVYMELRSLTSEDSAV  
YYCARGGIYDDYYDYAIDYWGQGTSVTVSSaktppsvyplapk

CDR1 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 7B4  
DYNLH  
CDR2 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 7B4  
YIYPYNGNTGYNQKFKR  
CDR3 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 7B4  
GGIYDDYYDYAIDY

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 7B4 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 100, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 101. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 7B4 de ratón son SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 y SEQ ID NO: 19, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 7B4 de ratón anti-PLD4 (454 pb) [mayúsculas: región variable de 7B4VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera de Igk de ratón]

ATGAGTGTGCCCAGTCTCAGGTCCTGGGGTTGCTGCTGCTGTGGCTTACAGATGCCAGATGTGACATCCAGATGACTCAGTC  
TCCAGCCTCCCTATCTGTATCTGTGGGAGAACTGTGCGCATCACATGTCGAGCAAGTGAGAATATTTACAGTCATATAG  
CATGCTATCAGCAGAAAGAGGGAAATCTCCTCAGCGCCTGGTCTATGGTGCAACAACTTAGCACATGGTGTGCCATCA  
AGGTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGCACACAGTATTCCCTCAAGATCAACAGCCTTCAGTCTGAAGATTTTGGGAGTTATTA  
CTGTCAACATTTTGGGGTACTCCGTGGACGTTCCGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAacgggctgatgctgcaccaa  
ctgtatccatcttccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcag

La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 7B4 de ratón (151 a.a.) [mayúsculas: región variable de 7B4VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera de Igk de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa las regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

MSVPTQVLGLLLWLTDARCDIQMTQSPASLSVSVGETVAITCRASENIYSHIAWYQ  
QKEGKSPQRLVYGATNLAHGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDFGSYYCQHFWGT  
PWTFGGGTKLEIKradaaptvsifppsseqltsggas

5 CDR1 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 7B4  
 RASENIYSHIA  
 CDR2 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 7B4  
 GATNLAH  
 CDR3 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 7B4  
 QHFWGTP

10 5. La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 8C11 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 82, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 83. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 8C11 de ratón son SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 y SEQ ID NO: 22, respectivamente.  
 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 8C11 de ratón anti-PLD4 (462 pb) [mayúsculas: región variable de 8C11VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG2b de ratón]

ATGGGATGGAGCTATATCATCCTCTTTTTGGTAGCAACAGCAACAGGGGTCCACTCCCAGGTCCAACTGCAGCAGTCGGG  
 GGCTGAACTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGTTGTCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGCTACTATTTGT  
 ACTGGGTGAGGCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATTGGACTGATTAATCCTACCAATAGTGATACTATCTTCAAT  
 GAGAACTTCAAGAGCAAGGCCACACTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCATAATGCAACTCAGCAGCCTGACATC  
 TGAGGACTCTCGGCTCTATTACTGTACACGAGAGGGGGATATGGTTACGGCCCGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTC  
 TGGTCACTGTCTCTGCagccaaacacacccccatcagtcctatccactggeccctaaaggc

20 La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 7B4 de ratón (154 a.a.) [mayúsculas: región variable de 8C11VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG2b de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

MGWSYIILFLVATATGVHSQVQLQQSGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYYLYWV  
RQRPQGQLEWIGLINPTNSDTIFNEKFSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYY  
CTREGGYGYGPFAYWGQGLVTVSAaktppsvyplapkg

30 CDR1 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 8C11  
 SYLY  
 CDR2 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 8C11  
 LINPTNSDTIFNEKFS  
 CDR3 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 8C11  
 EGGYGYGPFAY

35 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 8C11 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 102, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 103. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 8C11 de ratón son SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, respectivamente.

40 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 8C11 de ratón anti-PLD4 (457 pb) [mayúsculas: región variable de 8C11VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera de IgK de ratón]

ATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGTGATGTTCTGGATTCTGCTTCCAGCAGTGATGTTGTGATGACCCAACTCC  
 ACTCTCCCTGCCTGTCACTCTTGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGACATCTAGTCAGACCTTGTACACAGTAATGGAA  
 ACACCTATTTACATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCT  
 GGGGTCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCT  
 GGGAGTTTATTTCTGCTCTCACAGTACACATGTTCCATTACGTTCCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAacgggctg  
 atgtgcaccaactgtatccatcttcccaccatccagttagcaggttaacatctggag

La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 8C11 de ratón (152 a.a.)

[mayúsculas: región variable de 8C11VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera de IgK de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

MKLPVRLLVLMFWIPASSSDVVMQTPLSLPVSLGDQASISCTSSQTLVHSNGNTYLH  
WYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSSHST  
 5 HVPFTFGSGTKLEIKradaaptvsifppsseqltsg

CDR1 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 8C11  
 TSSQTLVHSNGNTYLH  
 CDR2 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 8C11  
 10 KVSNRFS  
 CDR3 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 8C11  
 HSTHVP

6. La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 10C3 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 84, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 85. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 10C3 de ratón son SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 y SEQ ID NO: 28, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 10C3 de ratón anti-PLD4 (450 pb) [mayúsculas: región variable de 10C3VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG2a de ratón]

ATGAACTTCGGGCTCAGCTTGATTTTCCTTGCCCTCATTTTAAAGGTGTCCAGTGTGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGG  
 GGGAGACTTAGTGAGGCTGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAGTTTCAGTAGCTATGGCATGT  
 CTTGGTTTCGCCAGACTCCAGACAAGAGGCTGGAGTGGGTGCAACCATAGTAGTGGTGGTAGTTACATCTACTATCCA  
 GAAAGTGTGAAGGGGCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAGGAACATCCTGTACCTGCAAATGAGCAGTCTGAAGTC  
 TGAGGACACAGCCATGTATTATTGTGAAGACTCTACGGTGGTAGGAGAGGCTATGGTTTGGACTACTGGGTCAAGGAA  
 CCTCAGTCACCGTCTCCTCAgceaaaacaagccccatcggtctatcca

La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 10C3 de ratón (150 a.a.) [mayúsculas: región variable de 10C3VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG2a de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

MNFGLSLIFLALILKGVQCEVQLVESGGDLVRPGGSLKLSCAASGFSFSSYGMSWFRQ  
TPDKRLEWVATISSGGSYIYPESVKGRFTISRDNARNILYLQMSSLKSEDTAMYYCV  
RLYGRRRGYGLDYWGQGTSTVTVSSakttapsvyp

CDR1 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 10C3  
 SYGMS  
 CDR2 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 10C3  
 TISSGGSYIYPESVKG  
 CDR3 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 10C3  
 35 LYGGRRRGYGLDY

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 10C3 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 104, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 105. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 10C3 de ratón son SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30 y SEQ ID NO: 31, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 10C3 de ratón anti-PLD4 (423 pb) [mayúsculas: región variable de 10C3VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera de Igk de ratón]

ATGAGGTTCTCTGCTCAGCTTCTGGGGCTGCTTGTGCTCTGGATCCCTGGATCCACTGCGGAAATTGTGATGACGCAGGC  
TGCATTCTCCAATCCAGTCACTCTTGGAAATCAGCTTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTACATAGTGATG  
GCATCACTTATTTGTATTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATTATCAGATGTCCAACCTTGCC  
TCAGGAGTCCCAGACAGGTTTCTAGTACAGTGGGTGAGGAATGATTTCACACTGAGAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGA  
TGTGGGTGTTTATTACTGTGCTCAAAATCTAGAACTTTACACGTTTCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAacgggctg  
atgctgeaccaactgtateccatc

- 5 La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 10C3 de ratón (141 a.a.) [mayúsculas: región variable de 10C3VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera de Igk de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

MRFS AQLLGLLVLPWPGSTAEIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKSLHSDGITYLY  
WYLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCAQN  
LELYTFGGGTKLEIKradaaptvsi

- 10 CDR1 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 10C3  
RSSKSLHSDGITYLY  
CDR2 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 10C3  
QMSNLA  
15 CDR3 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 10C3  
AQNLEL

7. La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11D10 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 86, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 87. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11D10 de ratón son SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 y SEQ ID NO: 28, respectivamente.  
20 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11D10 de ratón anti-PLD4 (450 pb) [mayúsculas: región variable de 11D10VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG2b de ratón]

ATGAAGTTCGGGCTCAGCTTGATTTTCCCTGCCCTCATTTTAAAGGTGTCCAGTGTGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGG  
GGGAGACTTACTGAGGCCTGGAGGCTCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTGAGTTTCTAGTACTATGGCATGT  
CTTGGTTTCGCCAGACTCCAGACAAGAGGCTGGAGTGGGTGCGAACCATAGTAGTGGTGGTAGTACATCTACTATCCA  
GAAAGTGTGAAGGGGCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAGGAACATCCTGTACCTGCAATGAGCAGTCTGAAGTC  
TGAGGACACAGCCATGTATTATTGTGTAAGACTCTACGGTGGTAGGAGAGGCTATGGTTTGGACTACTGGGGTCAAGGAA  
CCTCAGTCACCGTCTCTCAgccaacacaccccccatcagttatcca

- 25 La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11D10 de ratón (150 a.a.) [mayúsculas: región variable de 11D10VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG2b de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

- 30 MNFGSLIFLALILKGVQCEVQLVESGGDLVRPGGSLKLSCAASGFSFSSYGMSWFRQ  
TPDKRLEWVATISSGGSYIYPESVKGRFTISRDNARNILYLQMSSLKSEDTAMYYCV  
RLYGGRRGYGLDYWGQGTSTVTVSS akttpsvyp

- 35 CDR1 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11D10  
SYGMS  
CDR2 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11D10  
TISSGGSYIYPESVKG  
CDR3 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11D10  
LYGGRRGYGLDY

- 40 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11D10 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 106, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 107. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11D10 de ratón son SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30 y SEQ ID NO: 31, respectivamente.



La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11D10 de ratón anti-PLD4 (423 pb) [mayúsculas: región variable de 11D10VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera de Igk de ratón]

ATGAGGTTCTCTGCTCAGCTTCTGGGGCTGCTTGTGCTCTGGATCCCTGGATCCACTGCGGAAATTGTGATGACGCAGGC  
TGCATTCTCCAATCCAGTCACTCTTGAACATCAGCTTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGACTCTCCTACATAGTGATG  
GCATCACTTATTTGTATTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATTATCAGATGTCCAACCTTGCC  
TCAGGAGTCCCAGACAGGTTCACTAGCAGTGGGTCAGGAAGTATTTCACTGAGAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGA  
TGTGGGTGTTTATTACTGTGCTCAAAATCTAGAACTTTACACGTTCCGAGGGGGACCAAGCTGGAATAAAAcgggctg  
atgctgcaccaactgtatccatc

La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera (141 a.a.) del anticuerpo 11D10 de ratón [mayúsculas: región variable de 11D10VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera de IgK de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

MRFSAQLLGLLVLPWGSTAEIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKSLHSDGITYLY  
WYLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCAQN  
LELYTFGGGTKLEIKradaaptvsi

CDR1 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11D10  
RSSKSLHSDGITYLY  
CDR2 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11D10  
QMSNLA  
CDR3 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11D10  
AQNLEL

8. La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13D4 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 88, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 89. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13D4 de ratón son SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13D4 de ratón anti-PLD4 (472 pb) [mayúsculas: región variable de 13D4VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG2b de ratón]

ATGAAAGTGTGAGTCTGTTGTACCTGTTGACAGCCATTCTCGGTATCCTGTCTGATGTACAGCTTCAGGAGTCAGGACC  
TGGCCTCGTGAACCTTCTCAATCTCTGTCTCTCACCTGCTCTGTCACTGGCTACTCCATCACCAGTCATTATTACTGGA  
CCTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAACAACTGGAATGGATGGGCTACATAAGCTACGACGGTAGCAATAACTACAACCCA  
TCTCTCAAAATCGAATCTCCATCACTCGTGACACATCTAAGAACCAGTTTTCCTGAAGTTGAATTCTGTGACTACTGA  
GGACACAGCTACATATACTGTGCAAGAGAGGGCCCGCTCTACTATGGTAACCCCTACTGGTATTTTCGATGCTGGGGCG  
CAGGGACCACTGGTCACTCTCTCAgcaaaacaacacccccatcagtcctatccactggccccctaaagggcg

La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13D4 de ratón (157 a.a.) [Mayúsculas: región variable de 13D4VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG2b de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

MKVLSLLYLLTAIPGILSDVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSHYYWTWIRQF  
PGNKLEWMGYISYDGSNNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYNCA  
EGPLYYGNPYWYFDVWGAGTTVTVSSaktppsvyplapkg

CDR1 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13D4  
SHYYWT  
CDR2 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13D4  
YISYDGSNNYNPSLKN  
CDR3 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13D4  
EGPLYYG

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13D4 de ratón anti-PLD4

obtenido es SEQ ID NO: 108, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 109. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13D4 de ratón son SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36 y SEQ ID NO: 37, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13D4 de ratón anti-PLD4 (404 pb) [mayúsculas: región variable de 13D4VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera de IgK de ratón]

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATGTGATATCCAGATGACACAGAC  
TACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTGACAATTATTTAA  
ACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGTECCATCA  
AGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATGTTGCCACTTACTT  
TTGCCAGCAGTTAATACGCTTCCTCGGACGTTCCGTGGAGGCACCAAACTGGAATCAAACgggctgatgtgcaccaa  
ctgt

La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13D4 de ratón (134 a.a.) [mayúsculas: región variable de 13D4VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera del IgK de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

MMSSAQFLGLLLCFQGRCDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDIDNYLNWYQ  
QKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDVATYFCQOENTLPR  
TFGGGTKLEIKradaapt

CDR1 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13D4  
RASQDIDNYLN

CDR2 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13D4  
YTSRLHS

CDR3 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13D4  
QQFNTLP

9. La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13H11 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 90, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 91. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13H11 de ratón son SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39 y SEQ ID NO: 40, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13H11 de ratón anti-PLD4 (471 pb) [Mayúsculas: región variable de 13H11VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG2b de ratón]

ATGAAAGTGTGAGTCTGTTGTACCTGTTGACAGCCATTCTGGTATCCTGTCTGATGTACAGCTTCAGGAGTCAGGACC  
TGGCCTCGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCTCTCACCTGCTCTGCTACTGGCTACTCCATCTCCAGTCATTATTACTGGA  
GTTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAGACTGGAATGGATGGGCTACATAAGCTACGACGGTAGCAATAACTACAACCCA  
TCTCTCAAAAATCGAATCTCCATCACTCGTGACACATCTAAGAACCAGTTTTCTGAAAGTTGAATTCTGTGACTACTGA  
GGACACAGCTACATATAACTGTGCAAGAGAGGGCCGCTCTACTATGGTAACCCCTACTGGTATTTTCGATGTCTGGGGCG  
CAGGGACCACGGTCACCGTCTCTCAgccaaaacaacacccccatcagtcctatccactggccclaaaggc

La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13H11 de ratón (157 a.a.) [mayúsculas: región variable de 13H11VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG2b de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

MKVLSELLYLLTAIPGILSDVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSISSHYYSWIRQF  
PGRNLEWMGYISYDGSNNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYNCARE  
GPLYYGNPYWYFDVWGAGTTVTVSSaktppsvyplapkg

CDR1 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13H11  
SHYYWS

CDR2 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13H11  
YISYDGSNNYNPSLKN

CDR3 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13H11

EGPLYYGPNPYWYFDV

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13H11 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 110, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 111. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13H11 de ratón

son SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42 y SEQ ID NO: 43, respectivamente. La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13H11 de ratón anti-PLD4 (414 pb) [mayúsculas: región variable de ratón 13H11VL, minúsculas: región constante de la cadena ligera de Igk de ratón]

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATGTGATATCCAGATGACACAGAC  
TACATCCTCCCTGTCTGCTCTCTGGGGGCGAGCGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTGACAATTATTTAA  
ACTGGTATCAGAAAAACCAGATGGAACCTGTTAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCA  
AGGTTGAGTGGCAGTGGGCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAACAAGAAGATATTGCCACTTACTT  
TTGCCAACAGTTTAAATACGCTTCCTCGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAATCAAAcgggctgctgctgcaccaa  
ctgtatccatcttc

La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13H11 de ratón (138 a.a.) [Mayúsculas: región variable del 13H11VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera de ratón IgK]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

MMSSAQFLGLLLLCFQGRCDIQMTQTTSSLSASLGGSVTISCRASQDIDNYLNWYQ  
QKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQOFNTLPR  
TFGGGTKLEIKradaaptvsif

CDR1 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13H11  
RASQDIDNYLN  
CDR2 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13H11  
YTSRLHS  
CDR3 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13H11  
QQFNTLP

10. La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 14C1 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 92, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 93. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 14C1 de ratón

son SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39 y SEQ ID NO: 40, respectivamente. La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 14C1 de ratón anti-PLD4 (470 pb) [mayúsculas: región variable de 14C1VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG1 de ratón]

ATGAAAGTGTGAGTCTGTTGTACCTGTTGACAGCCATTCTGGTATCCTGTCTGATGTACAGCTTCAGGAGTCAGGACC  
TGGCCTCGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCTCTCACCTGCTCTGTCACTGGCTACTCCATCTCCAGTCATTATTACTGGA  
GTTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAGACTGGAATGGATGGGCTACATAAGCTACGACGGTAGCAATAACTACAACCCA  
TCTCTAAAAATCGAATCTCCATCACTCGTGACACATCTAAGAACCAGTTTTCTCTGAAGTTGAATTCTGTGACTACTGA  
GGACACAGCTACATATAACTGTGCAAGAGAGGGCCCGCTCTACTATGGTAACCCCTACTGGTATTTTCGATGTCTGGGGCG  
CAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCagccaaacgacacccccatctgtctatccactggccccctaaggg

La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 14C1 de ratón (156 a.a.) [mayúsculas: región variable de 14C1VH de ratón, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG1 de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

MKVLSLLYLLTAIPGILSDVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSISSHYYSWIRQF  
PGNRLEWMGYISYDGSNNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYNCARE  
GPLYYGPNPYWYFDVWGAGTTVTVSS akttpsvyplapk

CDR1 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 14C1  
SHYYWS

CDR2 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 14C1  
YISYDGSNNYNPSLKN  
CDR3 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 14C1  
EGPLYYGPNPYWYFDV

- 5 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 14C1 de ratón anti-PLD4 obtenido es SEQ ID NO: 112, y la secuencia de aminoácidos es SEQ ID NO: 113. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena ligera del anticuerpo 14C1 de ratón son SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42 y SEQ ID NO: 43, respectivamente.
- 10 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 14C1 de ratón anti-PLD4 (465 pb) [mayúsculas: región variable de ratón 14C1VL, minúsculas: región constante de la cadena ligera de ratón IgK]

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATGTGATATCCAGATGACACAGAC  
TACATCCTCCCTGTCTGCTCTCTGGGGGGCAGCGTCACCATCAGTTGAGGGCAAGTCAGGACATTGACAATTATTAA  
ACTGGTATCAGCAAAAACCAGATGGAACCTGTTAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCA  
AGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAACAAGAAGATATTGCCACTTACTT  
TTGCCAACAGTTTAATACGCTTCCTCGGACGTTGGTGGAGGCACCAAGCTGGAATCAAACgggctgatgctgcaccaa  
ctgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcagtcgtgtgttc

- 15 La secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 14C1 de ratón (155 a.a.) [mayúsculas: región variable de 14C1VL de ratón, minúsculas: región constante de la cadena ligera de IgK de ratón]. La secuencia subrayada representa una secuencia señal, y el doble subrayado representa regiones CDR (CDR1, CDR2 y CDR3).

MMSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMTQTTSSLSASLGGSVTISCRASQDIDNYLNWYQ  
QKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQFNTLPR  
20 TFGGGTKLEIKradaaptvsifppsseqltsggasvvcf

- CDR1 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 14C1  
RASQDIDNYLN  
CDR2 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 14C1  
25 YTSRLHS  
CDR3 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 14C1  
QQFNTLP

- 30 Las secuencias de bases y las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y la cadena ligera del anticuerpo 11G9 quimérico preparado tienen los siguientes Núm. de Secuencia, respectivamente.  
Cadena pesada

SEQ ID NO: 120 (secuencia de bases)  
SEQ ID NO: 121 (secuencia de aminoácidos)

- 35 Cadena ligera

SEQ ID NO: 122 (secuencia de bases)  
SEQ ID NO: 123 (secuencia de aminoácidos)

- 40 11. La secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada del anticuerpo 11G9 quimérico anti-PLD4 (1401 pb) [Mayúsculas: región variable de 11G9VH quimérico, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG1 humana] (SEQ ID NO: 120)

ATGAAAGTGTGAGTCTGTTGTACCTGTTGACAGCCATTCTGGTATCCTGTCTcagGTCCAACCTGCAGCAGCCTGGGGC  
TGAACCTGGTGAAGCCTGGGACTTCAGTGAATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACT  
GGGTGAAGCAGAGGCCGGGACAAAGGCCTTGAGTGGATTGGAGATATTTATCCTGGTAGTGATAGTACTAACTACAATGAG  
AAGTTCAAGACAAAGGCCACACTGACTGTAGACACATCTCCAGCAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGA  
GGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAGGAGGGTGGTTGGATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCG  
TCTCCTCAGctagcaccagggcccatcggtcttccccctggcaccctctccaagagcaccctctgggggcacagcgcc  
ctgggctgacctggtaaggactacttccccgaaccggtgacgggtgctggaactcaggcgccctgaccagcggtgca  
caccctccccgctgctctacagctcctcaggactctactccccagcagcggtggtgaccgtgccccccagcagcttggga  
cccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagccagcaacaccaaggtggacaagaaagttagcccaaatcttctgac  
aaaactcacacatgcccacgtgcccagcactgaactcctgggggacgctcagcttctcttccccccaaaacccaa  
ggacacccctcatgacttccccgacccctgaggtcacatgcgtgggtggagctgagccacgaagaccctgaggtcaagt  
tcaactggtagctggagcggtgaggtgcataatgccaaagacaaagccgaggaggagcagtaaacagcagctaccgt  
gtggtcagcttctcaccgtctcaccaggaactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggttccaacaaagccct  
cccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatccc  
gggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgacctggctcaaggttctatcccagcgacatcgccgtggagtgg  
gagagcaatgggcagccggagaaactacaagaccagccctcccgctgctggactccgacggctctcttctctacag  
caagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaacc  
actacacgcagaagagcctctccccgtctccgggtaaatga

12. La secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 11G9 quimérico anti-PLD4 (466 a.a.)  
[Mayúsculas: región variable de 11G9VH quimérico, minúsculas: región constante de cadena pesada de IgG1  
humana] (SEQ ID NO: 121)

MKVLSELLYLLTAIPGILSQVQLQQPGAELVKPGTSVKMSCKASGYFTSYWMHWVKQRPGGLEWIGDIYPGSDSTNYNE  
KFKSKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGGWLADMDYWGQTSVTVSSastkgpsvflapsskstsggtaa  
lgclvkdyfpepvtyswnsgaltsgvhtfpavllqssglyslssvvtvpssslgtqtiyicvnhkpsntkvdkkvepkscd  
kthtccppcpapellggpsvflfppkpkdtlmisrtpetvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr  
vsvsltlvldhngkeykckvsnkalpapiektiskakgpprepqvytlppsrldeltnqvsllclvkgyfypsdiavew  
esngqpennyktlppvldsdgsfflyskltvdksrwqgnvfscsvmhealhnhytqkslsispkg

13. La secuencia de ácido nucleico de la cadena ligera del anticuerpo 11G9 quimérico anti-PLD4 (705 pb)  
[Mayúsculas: región variable de 11G9VL quimérico, minúsculas: región constante de la cadena ligera de Igk  
humana] (SEQ ID NO: 122)

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATGTGATATCCAGATGACACAGAC  
TACATCCTCCTGTCTGCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAA  
ACTGTTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAACTCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCA  
AGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTT  
TTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTGGACGTTCCGTGGAGGCACCAAGCTGGAATCAAAcgaactgtggctgcaccat  
ctgtcttcatcttccccccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcccctgtgtgtgtgctgtgaataacttctat  
cccagagaggccaaagtacagtggaaggaggataacgccctccaatcggttaactcccaggagagigtacagagcagga  
cagcaaggacagcaccacagcctcagcagcaccctgacgtgagcaagcagactacgagaaacacaaagcttacgctt  
gcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgctcacaagagcttcaacaggggagagtgctag

14. La secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 11G9 quimérico anti-PLD4 (234 a.a.)  
[Mayúsculas: región variable de 11G9VL quimérico, minúsculas: región constante de la cadena ligera de IgK  
humana] (SEQ ID NO: 123)

MMSSAQFLGILLLCFQGRCDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPS  
RFGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNLPTWTFGGGKLEIKrtvaapsvfi fppsdeqlksgtasvvc llnnfy  
preakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdsksdtsylsstltskadyekkhvyacevthqglsspvtksfnrgec

20 Secuencia de ADNc y proteína en moléculas relacionadas con PLD4

> ADNc de PLD4 humana (1521 pb) (SEQ ID NO: 44)

ATGCTGAAGCCTCTTTGGAAAGCAGCAGTGGCCCCACATGGCCATGCTCCATGCCGCCCCGCCGCCGTTGGGACAGAGA  
GGCTGGCACGTTGCAGGTCTGGGAGCGCTGGCTGTGCTGTGGCTGGGCTCCGTGGCTCTTATCTGECTCCTGTGGCAAG  
TGCCCCGTCTCCACCTGGGGCCAGGTGCAGCCCAAGGACGTGCCCAGGTCTGGGAGCATGGCTCCAGCCAGCTTGG  
GAGCCCCTGGAAGCAGAGGCCAGGCAGCAGAGGGACTCCTGCCAGCTTGTCTTGTGGAAAGCATCCCCAGGACCTGCC  
ATCTGCAGCCGGCAGCCCTCTGCCAGCCTCTGGGCCAGGCCTGGCTGCAGCTGCTGGACACTGCCAGGAGAGCGTCC  
ACGTGGCTTCATACTACTGGTCCCTCACAGGGCTGACATCGGGGTCAACGACTCGTCTTCCAGCTGGGAGAGGCTCTT  
CTGCAGAAGCTGCAGCAGCTGCTGGGCAGGAACATTTCCCTGGCTGTGGCCACCAGCAGCCCGACACTGGCCAGGACATC  
CACCAGCTGCAGGTTCTGGCTGCCGAGGTGCCCATGTACGACAGGTGCCCATGGGGCGGCTCACCAGGGGTGTTTTGC  
ACTCCAAATTCGGGTGTGGATGGACGGCACATATACATGGGCAGTGCCAACATGGACTGGCGGTCTCTGACGCAGGTG  
AAGGAGCTTGGCGCTGTCTATCTATACTGCAGCCACCTGGCCCAAGACCTGGAGAAGACCTTCCAGACCTACTGGGTACT  
GGGGGTGCCCAAGGCTGTCTCCCCAAAACCTGGCCTCAGAACTTCTCATCTCACTTCAACCGTTTCCAGCCCTTCCAGC  
GCCTCTTTGATGGGGTGCCCACTGCTACTTCTCAGCGTGCACCAGCACTCTGTCCCAGGGCCGACCCGGGAC  
CTGGAGGGCGTGTGGCGGTGATGGGAGCGCCAGGAGTTCATCTATGCTCCGTGATGGAGTATTTCCCAACACGCG  
CTTCAGCCACCCCCGAGGTACTGGCGGTGCTGGACAACGCGCTGCGGGCGGCAGCCTTCGGCAAGGGCGTGGCGGTGC  
GCCTGCTGGTGGCTGGGACTCAACACGGACCCCACTATGTTCCCTACCTGCGGTCCCTGCAGGCGCTCAGCAACCCC  
GCGGCCAACGCTCTGTGGACGTGAAAGTCTTCATCGTGCCGGTGGGAACCATTCACATCCCATTACAGCAGGGTGAA  
CCACAGCAAGTTCATGGTCACGGAGAAGGCAGCCTACATAGGCACCTCCAAGTGGTCGGAGGATTACTTCAGCAGCAGCG  
CGGGGTGGGCTTGGTGGTCACCCAGAGCCCTGGCGCGCAGCCCGCGGGGCCACGGTGCAGGAGCAGCTGCGGCAGCTC  
TTTGAGCGGACTGGAGTTCGCGCTACGCCGTGGCCTGGACGGACAGGCTCCGGGCCAGGACTGCGTTTGGCAGGGCTG  
A

> Proteína PLD4 humana (506 aminoácidos) (SEQ ID NO: 1)

MLKPLWKAAPVPTWPCSMPPRRPWRDREAGTLQVLGALAVLWLGSAVALICLLWQVPRPPTWGQVQPKDVPR  
SWEHGSSPAWEPLAEARQQRDSCQLVLVESIPQDLPSAAGSPSAQPLGQAWLQLLDTAQESVHVASYW  
SLTGPDIQVNDSSQLGEALLQKLQQLGRNISLAVATSSPTLARTSTDLQVLAARGAHVRQVPMGRLTR  
GVLHSKFVWVDRHIYMGSAANMDWRSLTQVKELGAVIYNCSHLAQDLEKTFQTYWVLGVPKAVLPKTPWQ  
NFSSHFNRFPQHGLFDGVPITAYFSASPALCPQGRTRDLEALLAVMGSAQEFIIYASVMEYFPTTRFSH  
PPRYWPVLNARAAAFGKGVRVRLVGCGLNTPMFPYLRSLQALSNPAANVSVDVKVFIIVPVGNHNSN  
IPFSRVNHSKFMVTEKAAIYIGTSNWSYDFSSSTAGVGLVVTQSPGAQAPAGATVQEQLRQLFERDWSSRYA  
VGLDGAQAPGQDCVWQG

5

> ADNc de PLD4 de mono cinomolgo (1521 pb) (SEQ ID NO: 63)

ATGCTGAAGCCTCTTCGGAGAGCGCAGTGACCCCCATGTGGCCGTGCTCCATGCTGCCCCGCCGCCCTGTGGGACAGAGA  
GGCTGGCACGTTGCAGGTCTGGGAGTGTGGCTATGCTGTGGCTGGGCTCCATGGCTCTTACCTACCTCCTGTGGCAAG  
TGCGCCGTCTCCACCTGGGGCCAGGTGCAGCCCAAGGACGTGCCCAGGTCTGGGGCATGGTTCAGCCAGCTCTG  
GAGCCCCTGGAAGCGGAGGTACAGGAAGCAGAGGGACTCCTGCCAGCTTGTCTTGTGGAAAGCATCCCCAGGACCTGCC  
ATTTGCAGCCGGCAGCCTCTCCGCCAGCCTCTGGGCCAGGCCTGGCTGCAGCTGCTGGACACTGCCAGGAGAGCGTCC  
ACGTGGCTTCATACTACTGGTCCCTCACAGGGCCCGACATTGGGGTCAACGACTCATCTTCCAGCTGGGAGAGGCCCTT  
CTGCAGAAGCTGCAGCAGCTGCTGGGCAGGAACATTTCCCTGGCTGTGGCCACCAGCAGTCCAACACTGGCCAGGAAGTC  
CACCAGCTGCAGGTCCTGGCTGCCGAGGTGCCAGGTACGACGGGTGCCCATGGGGCGGCTCACCAGGGCGGTTTTGC  
ACTCCAAATTCGGGTGTGGATGGACGGCACATATACATGGGCAGTGCCAACATGGACTGGCGGTCTCTGACGCAGGTG  
AAGGAGCTTGGCGCTGTCTATCTATACTGCAGCCACCTGGCCCAAGACCTGGAGAAGACCTTCCAGACCTACTGGGTGCT  
GGGGGTGCCCAAGGCTGTCTCCCCAAAACCTGGCCTCAGAACTTCTCATCTCACATCAACCGTTTCCAGCCCTTCCAGG  
GCCTCTTTGATGGGGTGCCCACTGCTACTTCTCAGCATCGCCACCcGCACTCTGTCCCAGGGCCGACCCCTGAC  
CTGGAGGGCGTGTGGCGGTGATGGGAGCGCCAGGAGTTCATCTATGCTCCGTGATGGAGTATTTCCCTACACgCG  
CTTCAGCCACCCCCGAGGTACTGGCCGGTGTGGACAACGCGCTGCGGGCGGCAGCCTTCAGCAAGGGTGTGGCGGTGC  
GCCTGCTGGTCAGTGGGACTCAACACGGACCCCACTATGTTCCCTATCTGCGGTCCCTGCAGGCGCTCAGCAACCCC  
GCGGCCAACGCTCTGTGGACGTGAAAGTCTTCATCGTGCCGGTGGGAATCATTCCAACATCCCGTTACAGCAGGGTGAA  
CCACAGCAAGTTCATGGTCACGGAGAAGGCAGCCTACATAGGCACCTCCAAGTGGTCGGAGGATTACTTCAGCAGCAGCA  
CGGGGTGGGCTTGGTGGTCACCCAGAGCCCGCGCGCAGCCCGCGGGGCCACGGTACAGGAGCAGCTGCGGCAGCTC  
TTTGAGCGGACTGGAGTTCGCGCTACGCCGTGGCCTGGACGGACAGGCTCCGGGCCAGGACTGCGTTTGGCAGGGCTG  
A

> Proteína PLD4 de mono cinomolgo (506 aminoácidos) (SEQ ID NO: 129)

MLKPLRRAAVTPMWPCSMPLPRRLWDREAGTLQVLGVLAAMLWLGSMLTYLLWQVRRPPTWGQVQPKDVPRSWGSGSPAL  
EPLAEVRKQRDSCQLVLESIPQDLPAAGSLSAQPLGQAWLQLLDTAQESVHVASYWVSLTGPDIQVNDSSSLGEAL  
LQKLQQLLRNISLAVATSSPTLARKSTDQLVLAARGAQVRRVPMGRLTRGVLSKFWVVDGRHIYMGSAWMDWRSLSLQV  
KELGAVIYNCSHLAQDLEKTFQTYWVLGVPKAVLPKTPQNFSSHINRFQPFQGLFDGVPPTAYFSASPPALCPQGRTPD  
LEALLAVMGSQAQEFYASVMEYFPTTRFSHPRRYWPVLDNALRAAAFSGKVRVRLVSCGLNTDPTMFPYLRSLQALSNP  
AANVSVDYKVFIVPVGHNHSNIPFSRVNHSKFMVTEKAAIYIGTSNWSYDYFSSTTGVLVVTQSPGAQPAGATVQEQLRQL  
FERDWSSRYAVGLDQAPGQDCVWQG

5

> ADNc de PLD4 de mono rhesus (1521 pb) (SEQ ID NO: 124)

ATGCTGAAGCCTCTTCGGAGAGCGGCAGTGACCCCCATGTGGCCGTGCTCCATGCTGCCCCGCCGCTGTGGGACAGAGA  
GGCTGGCACGTTGCAGGTCTCTGGGAGTGCTGGCTATGCTGTGGCTGGGCTCCATGGCTCTTACCTACCTCTGTGGCAAG  
TGCGTGTCTCCACCTGGGGCCAGGTGCAGCCAGGGACGTGCCAGGTCTGGGGGCATGGTTCAGCCTAGCTCTG  
GAGCCCTTGAAGCGGAGGTGAGGAAGCAGAGGGACTCCTGCCAGCTTGCTCTTGTTGGAAGCATCCCCAGGACCTGCC  
ATTTGCAGCCGGCAGCCTCTCCGCCAGCCTCTGGGCCAGGCTGGCTGCAGCTGCTGGACACTGCCCAGGAGAGCGTCC  
ACGTGGCTTCACTACTGTCCTCTCACAGGGCCGACATTGGGGTCAACGACTCATCTTCCAGCTGGGAGAGGCCCTT  
CTGCAGAAGCTGCAGCAGCTGCTGGGAGGAACATTTCTTGGCTGTGGCCACCAGCAGTCCAACACTGGCCAGGAAGTC  
CACCGACCTGCAGGTCTGGCTGCCGAGGTGCCAGGTACGACGGGTGCCCATGGGGCGGCTCACCAGGGCGGTTTTGC  
ACTCCAAATTCTGGGTGTGGATGGACGGCACATATACATGGGCAGTGCCAACATGGACTGGCGGTCCCTGACGCAGGTG  
AAGGAGCTTGGCGCTGTCATCTATACTGCAGCCACCTGCCCAAGACCTGGAGAAGACCTCCAGACCTACTGGGTGCT  
GGGGGTGCCCAAGGCTGTCTCCCAAAACCTGGCCTCAGAACTTCTCATCTCACATCAACCGTTTCCAGCCCTTCCAGG  
GCCTCTTTGATGGGGTGGCCACCACTGCCTACTTCTCAGCATCGCCACCCGCACTCTGTCCCAGGGCCGACCCCTGAC  
CTGGAGGCGCTGTTGGCGGTGATGGGAGCGCCAGGAGTTCATCTATGCTCCGTGATGGAGTATTTCCCTACCACGCG  
CTTCAGCCACCCCGCAGGTACTGGCCGTGCTGGACAACGCGCTGCGGGCGGCAGCCTTCAGCAAGGGTGTGCGCGTGC  
GCCTGCTGGTCACTGCGGACTCAACACGGACCCCACTGTTCCCTATCTGCGGTCCCTGCAGGCGCTCAGCAACCCC  
GCGGCCAACGTCTCTGTGACGTGAAAGTCTTCATCGTCCGGTGGGAATCATTCCAACATCCCGTTCAGCAGGGTGAA  
CCACAGCAAGTTATGTCACGGAGAAGGCAGCTACATAGGCACCTCCAACCTGGTGGAGGATTACTTCAGCAGCACGA  
CGGGGTGGGCTGGTGGTCAACCAGAGCCCGGCGCGCAGCCCGGGGGCCACGGTACAGGAGCAGCTGCGGCAGCTC  
TTTGAGCGGGACTGGAGTTCGCGTACGCCGTGGCCTGGACGGACAGGCTCCGGGCCAGGACTGCGTTTGGCAGGGCTG  
A

10

> Proteína PLD4 de mono rhesus (506 aminoácidos) (SEQ ID NO: 130)

MLKPLRRAAVTPMWPCSMPLPRRLWDREAGTLQVLGVLAAMLWLGSMLTYLLWQVRCPTWGQVQPRDVPRSWGSGSSLAL  
EPLAEVRKQRDSCQLVLESIPQDLPAAGSLSAQPLGQAWLQLLDTAQESVHVASYWVSLTGPDIQVNDSSSLGEAL  
LQKLQQLLRNISLAVATSSPTLARKSTDQLVLAARGAQVRRVPMGRLTRGVLSKFWVVDGRHIYMGSAWMDWRSLSLQV  
KELGAVIYNCSHLAQDLEKTFQTYWVLGVPKAVLPKTPQNFSSHINRFQPFQGLFDGVPPTAYFSASPPALCPQGRTPD  
LEALLAVMGSQAQEFYASVMEYFPTTRFSHPRRYWPVLDNALRAAAFSGKVRVRLVSCGLNTDPTMFPYLRSLQALSNP  
AANVSVDYKVFIVPVGHNHSNIPFSRVNHSKFMVTEKAAIYIGTSNWSYDYFSSTTGVLVVTQSPGAQPAGATVQEQLRQL  
FERDWSSRYAVGLDQAPGQDCVWQG

15

> ADNc de PLD4 de ratón (1512 pares de bases) (SEQ ID NO: 131)

ATGGACAAGAAGAAAGAGCACCAGAGATGCGGATACCACTCCAGACAGCAGTGGAGGTCTCTGATTGGCCCTGCTCCAC  
 ATCTCATGATCCACATAGCGGACTTGGCATGGTACTGGGGATGCTAGCTGTACTGGGACTCAGCTCTGTGACTCTCATCT  
 TGTTCCTGTGGCAAGGGGCCACTTCTTTCACCAGTCATCGGATGTTCCCTGAGGAAGTGCCCTCCTGGTCTGGGAGACC  
 CTGAAAGGAGACGCTGAGCAGCAGAATAACTCCTGTGAGCTCATCTTGTGAAAAGCATCCCCGAGGACTTGCCATTGTC  
 AGCTGGCAGCCCCACTGCCCCAGCCCCCTGGCCAGGCTTGGCTGCAGCTTCTTGACACTGCTCGGGAGAGCGTCCACATTG  
 CCTCGTACTACTGGTCCCTCACTGGACTGGACATTGGAGTCAATGACTCGTCTTCTCGGCAGGGAGAGGCCCTTCTACAG  
 AAGTTCACACAGCTTCTTCTCAGGAACATCTCTGTGGTGGTGGCCACCCACAGCCCAACATTGGCCAAGACATCCACTGA  
 CCTCCAGGTCTTGGCTGCCCATGGTGGCCAGATACGACAAGTGGCCATGAAACAGCTTACTGGGGGTGTTCTACACTCCA  
 AATTCTGGGTGTGGATGGGCGACACGTCTACGTGGGCAGCGCCAAACATGGACTGGCGGTCCCTGACTCAGGTGAAGGAA  
 CTTGGTGCAATCATCTACAACAGCAACCTGGCTCAAGACCTTGAGAAAACATTCCAGACCTACTGGGTGCTAGGGAC  
 TCCCCAAGCTGTTCTCCCTAAACCTGGCCTCGGAACCTTCTCATCCACATCAACCGCTTCCATCCCTTGGCGGGTCCCT  
 TTGATGGGGTTCACACAGGCTATTCTCGGCTCCCTCCCTCCCTCTGCCCCGATGGCCGGACCCGGGATCTGGAC  
 GCAGTGTGGAGTGATGGAGGGTGTGCGCAGTTCATCTATGTCTCGGTGATGGAGTATTTCCCTACCACGCGCTTAC  
 CCACCATGCCAGGTACTGGCCCGTGTGGACAATGCGCTACGGGCAGCGGCCCTCAATAAGGGTGTGCATGTGCGCTTAC  
 TGGTCAGCTGCTGGTTCAACACAGACCCACCATGTTGCGTTATCTGAGGTCCCTGCAGGCTTTCAGTAACCCCTCGGCT  
 GGCATCTCAGTGGATGTGAAAGTCTTCTGCTGCTGTGGGAAATCATTCCAACATCCCGTTCAGCCGCGTGAACACAG  
 CAAGTTCATGGTCACAGACAAGACAGCCTATGTAGGCACCTCTAACTGGTCAGAAGACTACTTCAGCCACACCGCTGGTG  
 TGGGCTGATTGTCAGCCAGAAGACCCCGAGCCAGCCAGCGGCAACACCGCTGCAGGAGCAGCTGAGGCAACTCTTT  
 GAACGAGACTGGAGTTCCTACTATGCTATGGACCTAGACAGACAAGTCCGAGCCAGGACTGTGTCTGGTAG

> Proteína PLD4 de ratón (503 aminoácidos) (SEQ ID NO: 132)

MDKKKEHPMRLPLQTAVEVSDWPCTSHDPHSLGMLVGLMLAVLGLSSVTLILFLWQGATSFTSHRMFPPEVPSWSWET  
 LKGDAAEQNNSCQLILVESIPEDLPFAAGSPTAQPLAQAWLQLLDTARESVHIASYYWSLTGLDIGVNDSSSRQGEALLQ  
 KFQQLLRNLSVVVATHSPTLAKTSTDLQVLAHGAQIRQVPMKQLTGGVLHSHFWVVDGRHYVYGSANMDWRSLTQVKE  
 LGAI IYNCNLAQDLEKTFQYVWLGPQAVLPKTPWPRNFSSHINRFHPLRGPFDGVPTTAYFSASPPSLCPHGRTRDL  
 AVLGVMEGARQFIYVSVMFYPTTRFTHHARYWVLDNALRAAALNKGHVHRLVSCWFNTDPTMFAYLRLQAFSNPSA  
 GISVDVKVFIYPVGNHSNIPPSRVNHSKFMVTDKTAIVGTSNWSSEDFYSHTAGVGLIVSQKTPRAQPGATTVQEQLRQLF  
 ERDWSSHYAMDLDRQVPSQDCVV

5

> Secuencia de ADNc de PLD3 humana (SEQ ID NO: 55)

ATGAAGCCTAAACTGATGTACCAGGAGCTGAAGGTGCCTGCAGAGGAGCCCGCCAATGAGCTGCCCATGAATGAGATTGA  
 GCGGTGGAAGGCTGCGGAAAAGAAAGCCGCTGGGTCTGCTGGTCTCATTCTGGCGGTTGTGGGCTTCGGAGCCCTGA  
 TGAATCAGCTGTTTCTATGGGAATACGGCGACTTGCATCTCTTTGGGCCCCAACAGCGCCAGCCCCCTGCTATGACCT  
 TGGGAAGCAGTGCTGGTGGAAAGCATTCTGAGGGCCTGGACTTCCCCAATGCCTCCACGGGGAACCTTCCACAGCCA  
 GGCCTGGCTGGGCTGCTGCGCGGTGCGCACAGCAGCCTGGACATCGCCTCCTTCTACTGGACCCTCACCACAAATGACA  
 CCCACAGCAGGAGCCCTCTGCCCAGCAGGGTGAGGAGTCTCCGGCAGCTGCAGACCCTGGCACCAGGGCGTGAAC  
 GTCCGCATCGCTGTGAGCAAGCCAGCGGGCCCGAGCCACAGGCGGACCTGCAGGCTCTGCTGCAGAGCGGTGCCAGGT  
 CCGCATGGTGGACATGCAGAAGCTGACCCATGGCGTCTGCATACCAAGTTCTGGGTGGTGGACCAGACCCACTTCTACC  
 TGGGCAGTGCCCAACATGGACTGGCGTTCACTGACCCAGGTCAAGGAGCTGGGCGTGGTCATGTACAACCTGCAGCTGCCCTG  
 GCTCGAGACCTGACCAAGATCTTTGAGGCTACTGGTTCCTGGGCCAGGCAGCTCCATCCATCAACTTGGCCCCG  
 GTTCTATGACACCCGCTACAACCAAGAGACACCAATGGAGATCTGCCTCAATGGAACCCCTGCTCTGGCCTACCTGGCGA  
 GTGCGCCCCCACCCTGTGTCCAAGTGGCCGCACTCCAGACCTGAAGGCTCTACTCAACGTTGGTGGACAATGCCCGGAGT  
 TTCATCTACGTCGCTGTGATGAATACCTGCCACTCTGGAGTTCTCCACCCCTCACAGGTTCTGGCCTGCCATTGACGA  
 TGGGCTGCGGCGGGCCACTACGAGCGTGGCGTCAAGGTGCGCCTGCTCATCAGCTGCTGGGGACACTCGGAGCCATCCA  
 TGGCGGCTTCTGCTCTCTGCTGCTGCTGCTGACAACCATACCCACTCTGACATCCAGGTGAAACTCTTTGTGGTC  
 CCCGCGGATGAGGCCAGGCTCGAATCCCATATGCCCGTGTCAACCACAACAAGTACATGGTGAACGCGCCACCTA  
 CATCGGAACCTCAACTGGTCTGGCAACTACTTCACGGAGACGGCGGGCACCTCGTGTGGTGAACGAGAAATGGGAGGG  
 GCGGCTGCGGAGCCAGTGGAGGCCATTTCTGAGGGACTGGGACTCCCTTACAGCCATGACCTTGACACCTCAGCT  
 GACAGCGTGGCAACGCTGCGGCTGCTCTGA

10 > Proteína PLD3 humana (490 aminoácidos) (SEQ ID NO: 127)



MKPKLMYQELKVP AEPPANELPMNE IEAWKAAEKKARWVLLVLI LAVYVGF GALMTQLFLWEYGDHLFGPNQRPAPCYDP  
CEAVLVESIPEGLDFPNASTGNPSTSQA WLGLLAGAHSSLDIASFYWILTNNDTHTQEPSAQQGEVLRQLQTLAPKGVN  
VRIAYSKPSGPQPQADLQALLQSGAQVRMVD MQKLTHGVLTWKFWVVDQTHFYLG SANMDWRS LTQVKELGVVMYNC SCL  
ARDLTKIFEAYWFLGQAGSSIPSTWPRFYDTRYNQETPMEICLNGTPALAYLASAPPPLCPSGRTPDLKALLNVVDNARS  
FIYVAVMNYLPTLEFSHPHRFWPAID DGLRRATYERGVKVRLLI SCWGHSEPSMRAFLLSLAALRDNHTSDIQVKLFVY  
PADEAQARIPYARVNVHNKYMVTERATYIGTSNWSGNYFTETAGTSLLVTONGRGGLRSQLEAIFLRDWDSPYSHDLDTSA  
DSVGNACRLI

> ADNc de PLD5 humana (1338 pares de bases) (SEQ ID NO: 56)

ATGGGAGAGGATGAGGATGGACTCTCAGAAAAAATTGCCAAAATAAATGTGCAATTGCCCTGGTGGAATAATTCCTGA  
-AGGCCTTAATACTATTCAGAAAATGCACCATTCACCTATCATTTCCTCAAGGCTGGATGAATTTACTCAACATGGCCAAA  
AGTCTGTTGACATAGTGTCTTCCCATTTGGGATCTCAACCACACTCATCCATCAGCATGTCAGGGTCAACGTCTTTTGA  
AAGTTGCTCCAGCTGACTTCGCAAAATATTGAAATCAAGCTAGTGAGTGATGTAACAGCTGATTCAAAGGTATTAGAAGC  
CTTGAAATTAAGGGAGCCGAGGTGACGTACATGAACATGACCGCTTACAACAAGGGCCGGCTGCAGTCTCTCTCTGGA  
TCGTGGACAAACAGCAGCTGTATATCGGCAGTGCCGGTTTGGACTGGCAATCCCTGGGACAGATGAAAGAACTCGGTGTC  
ATCTTCTACAACAGCAGCTGCTGCTCTAGATTTACAAAGGATATTTGCTCTATATAGTTTATTAAATTCAAAAGCAG  
AGTGCCTCAAACCTGGTCCAAAAGACTCTATGGAGTCTATGACAATGAAAAGAAATTGCAACTTCAGTTGAATGAAACCA  
AATCTCAAGCATTGCTATCGAATTCTCCAAAACCTTTTGGCCCTAAAAACAGAAGTTTGGACATAGATGCCATCTACAGT  
GTGATAGATGATGCCAAGCAGTATGTGTACATCGCTGTCTGACTACCTGCCTATCTCCAGCACAAGCACCAAAAGGAC  
TTACTGGCCAGACTTGGATGCAAAAATAAGAGAAGCATTAGTTTACGAAGCGTTAGAGTTCGACTCCTTTTAAGCTTCT  
GGAAGGAAACTGATCCCTTACGTTTAACTTTATTTATCTCTTAAAGCGATTGCACTGAAATAGCCAAGTGCAGTTTG  
AAAGTTAAATTTTTGATCTGGAAGAGAGAATGCTGTGCTACAAAAGAACAAAAGAAATCACACCTTCTTAGGTTAAA  
TCGCAACAAGTACATGGTGACAGATGGAGCAGCTTATATTGGAATTTTGATTGGGTAGGGAATGATTTCACTCAGAATG  
CTGGCAGGGCCTTGTATCAACCAGGCAGATGTGAGGAACAACAGAAGCATCATTAAAGCAACTTAAAGATGTGTTTGA  
AGGACTGGTATTCACCGTATGCCAAAACCTTACAGCCAACCAACAGCCGAAGTCTCAAGCCTGTTCAAACCTCAAAC  
CCTCTCCAACAAACTGCCACAGACGACACAGGCGGAAAGGATCCCCGGAACGTATGA

5

> Proteína PLD5 humana (445 aminoácidos) (SEQ ID NO: 128)

MGEDEDGLSEKNCQNKRIALVENIPEGLNYS NAPFHL SLFQGMNLLNMAKKSVDIVSSHWDLNHHP SACQGQRLFE  
KLLQLTSQNI EIKLVSDVTADSKVLEALKLKGAEV TYMNM TAYNKGRLQSSFWIVDKQHVYI GSAGLDWQSLGQMKELGV  
IFYNC SCLVLDLQRI FALYSS LKFSRVPQTWSKRLYGVYDNEKKLQLQLNETKSQAFVSN SPKLF C PKNRSFDIDAIYS  
VIDDAKQYVYI AVMDYLPISSTSKRTYWPDLDAKIREALVLR SVRVRLLSFWKETDPLTFNF ISSLKAICTEIANCSL  
KVKFFDLERENACATKEQKNHTF PRLNRNKYMTDGAAYIGNFDWVGNDFTQNA GTGLVINQADVRRNRS I IKQLKDVFE  
RDWYSPYAKTLQPTKQPNCSSLFLKPLSNKTATDDTGGKDPNV

10 > ADNc de la proteína de fusión PLD4-Ig humana (2142 pb) (SEQ ID NO: 125)

ATGGAGTTTCAGACCCAGGTCTTTGTATTCTGTTGCTCTGGTTGCTGGTGTGATGGAgattacaaggatgacgacga  
 taaaGGATCCcccagagggcccacaalcaagcccigtccctccatgcaaatgcccagcacciaacctcttgggtggaccat  
 ccgtcttcaicttccclccaaagatcaaggatgtacteatgatctccctgagccccatagtcacatgtgtgggtggat  
 gtgagcgaggatgacccagatgtccagatcagctgggttttgaacaacgtggaagtacacacagctcagacacaaaccca  
 tagagaggattacaacagtaactctccgggtggcagtgccctcccatccagcaccaggactggatgagtggcaaggagt  
 tcaaatgcaaggtaacaacaaagacctccagcgcccatcgagagaaccatctcaaaacccaaagggtcagtaagagct  
 ccacaggtatagtcttgcctccaccagaagaagagatgactaagaacaggctcactctgacctgcatgggtcacagactt  
 catgcttgaagacatttactgtggatggaccaacaacgggaaaacagagctaaactacaagaacactgaaccagctcctgg  
 actctgatgggtcttacttcatgtacagcaagctgagagtggaaaagaagaactgggtggaaagaaatagctactcctgt  
 tcagtggtccacgagggctctgcacaatcaccacacgactaagagcttctccggactccgggtaaaCGTCTCCACCTG  
 GGGCCAGGTGCAGCCCAAGGACGTGCCAGGTCTGGGAGCATGGCTCCAGCCCAGCTTGGGAGCCCCTGGAAGCAGAGG  
 CCAGGCAGCAGAGGGACTCTGCCAGCTTGTCTTGTGGAAGCATCCCCAGGACCTGCCATCTGCAGCCGGCAGCCCC  
 TCTGCCCAGCCTCTGGGCCAGGCTGGCTGCAGCTGCTGGACACTGCCCAGGAGAGCGTCCACGTGGCTTCATACTACTG  
 GTCCCTCACAGGGCTGACATCGGGCTCAACGACTCGTCTTCCAGCTGGGAGAGGCTCTTCTGCAGAAGCTGCAGCAGC  
 TGCTGGGCAGGAACATTTCCCTGGCTGTGGCCACCAGCAGCCGACACTGGCCAGGACATCCACCGACCTGCAGGTTCTG  
 GGTGCCCGAGGTGCCATGTACGACAGGTGCCCATGGGGCGGCTCACCAGGGGTGTTTGCACCTCAAATTTGGGTGTG  
 GGATGGACGGCAGATATACATGGGCAGTGCACATGGACTGGCGGTCTCTGACGCAGGTGAAGGAGCTTGGCGCTGTCA  
 TCTATAACTGCAGCCACCTGGCCCAAGACCTGGAGAAGACCTTCCAGACCTACTGGGTACTGGGGGTGCCCAAGGCTGTC  
 CTCCCCAAAACCTGGCCTCAGAACTCTCATCTCACTTCAACCGTTTCCAGCCCTTCCACGGCTCTTTGATGGGGTGC  
 CACCACTGCCTACTTCTCAGCGTGCACACGACTCTGTCCCCAGGGCCGACCCGGGACCTGGAGGGCTGTGTGGCGG  
 TGATGGGGAGCGCCAGGAGTTCATCTATGCTCCGTGATGGAGTATTTCCACACGCGCTTCAGCCACCCCGGAGG  
 TACTGGCGGTGCTGGACAACGCGCTGCGGGCGGAGCCTTCGGCAAGGGCGTGCCTGCGCTGCTGGTGGCTGCGG  
 ACTCAACACGGACCCACCATGTTCCCTACCTGCGGTCCCTGCAGGCGCTCAGCAACCCCGGGCCAACTCTCTGTGG  
 ACGTGAAAGTCTTCATCGTGGCGGTGGGAACCATTCGAACATCCCATTCAGCAGGGTGAACCACAGCAAGTTCATGGT  
 ACGGAGAAGGCAGCTACATAGGCACCTCCAAGTGGTGGGAGGATTACTTCAGCAGCAAGGGGGGGGTGGGCTTGGTGGT  
 CACCCAGAGCCCTGGCGCGCAGCCCGGGGGCCACGGTGCAGGAGCAGCTGCCGAGCTCTTTGAGCGGGACTGGAGTT  
 CGCGCTACCGCTCGGCTGGACGGACAGGCTCCGGGCCAGGACTGCGTTTGGCAGGGCTGA

> Proteína de fusión PLD4-Ig humana (713 aminoácidos) (SEQ ID NO: 126)

MEFQTQVFVFLWLSGVDGDYKDDDDKGS PRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFI FPPKIKDVLMI SLSPIVTCVVVD  
 VSEDDPDVQISWFVNVEVHTAQQTTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRA  
 PQVYVLPPEEEMTKKQVLTLCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGSGYFMYSKLRVEKKNNWVERNSYSC  
 SVVHEGLHNHHTKFSRTPGKRPTTWGQVQPKDVPRSWEHGSSPAWEPLAEARQQRDSCQLVLVESIPQDLPSAAGSP  
 SAQPLQQAQLQLDTAQESVHVASYYWSLTGPDIGVNDSSQLGEALLQKLQQLGRNISLAVATSSPTLARTSTDQLVL  
 AARGAHVRQVPMGRLTRGVLSHGFVWVDGRHIYMG SANMDWRS LTQVKELGAVIYNCSHLAQDLEKTFQTYWVLGVPKAV  
 LPKTPWPNFSSHFNRFPFHGLFDGVPTTAYFSASPALCPQGRTRDLEALLAVMGSAQEFYASVMEYFPTTRF SHPPR  
 YWPVLDNALRAAAF GKGVRRLLVGCGLNDPTMFPYLRSLQALS NPAANVSVDVKVFI VPGNHSNIPFSRVNHSKFMV  
 TEKAAAYIGTSNWS EYFSSTAGVGLVVTQSPGAQPAGATVQEQLRQLFERDWSRYAVGLDGQAPGQDCVWQG

[Número de acceso]

NITE BP-1211  
 NITE BP-1212  
 NITE BP-1213  
 NITE BP-1214

[Lista de secuencias de texto libre]

SEQ ID NO 45: Cebador directo  
 SEQ ID NO 46: Cebador inverso  
 SEQ ID NO 47: Cebador directo  
 SEQ ID NO 48: Cebador inverso  
 SEQ ID NO 49: Cebador directo  
 SEQ ID NO 50: Cebador inverso  
 SEQ ID NO 51: Cebador directo  
 SEQ ID NO 52: Cebador inverso  
 SEQ ID NO 53: Cebador directo

SEQ ID NO 54: Cebador inverso  
 SEQ ID NO 70: Cebador de anclaje  
 SEQ ID NO 70: n es desoxiinosina  
 SEQ ID NO 71: Cebador AUAP  
 5 SEQ ID NO 72: Cebador  
 SEQ ID NO 73: Cebador  
 SEQ ID NO 114: Cebador  
 SEQ ID NO 115: Cebador  
 SEQ ID NO 116: Cebador  
 10 SEQ ID NO 117: Cebador  
 SEQ ID NO 118: Cebador  
 SEQ ID NO 119: Cebador

**LISTA DE SECUENCIAS**

15 <110> SBI BIOTECH CO., LTD.  
 <120> ANTICUERPO ANTI-FOSFOLIPASA D4  
 20 <130> W6651-000000  
 <160> 136  
 <170> Patent In versión 3.4  
 25 <210> 1  
 <211> 506  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 30 <220>  
 <221> PÉPTIDO  
 <222> (1).. (506)  
 35 <400> 1

# ES 2 694 165 T3

Met Leu Lys Pro Leu Trp Lys Ala Ala Val Ala Pro Thr Trp Pro Cys  
1 5 10 15

Ser Met Pro Pro Arg Arg Pro Trp Asp Arg Glu Ala Gly Thr Leu Gln  
20 25 30

Val Leu Gly Ala Leu Ala Val Leu Trp Leu Gly Ser Val Ala Leu Ile  
35 40 45

Cys Leu Leu Trp Gln Val Pro Arg Pro Pro Thr Trp Gly Gln Val Gln  
50 55 60

Pro Lys Asp Val Pro Arg Ser Trp Glu His Gly Ser Ser Pro Ala Trp  
65 70 75 80

Glu Pro Leu Glu Ala Glu Ala Arg Gln Gln Arg Asp Ser Cys Gln Leu  
85 90 95

Val Leu Val Glu Ser Ile Pro Gln Asp Leu Pro Ser Ala Ala Gly Ser  
100 105 110

Pro Ser Ala Gln Pro Leu Gly Gln Ala Trp Leu Gln Leu Leu Asp Thr  
115 120 125

Ala Gln Glu Ser Val His Val Ala Ser Tyr Tyr Trp Ser Leu Thr Gly  
130 135 140

Pro Asp Ile Gly Val Asn Asp Ser Ser Ser Gln Leu Gly Glu Ala Leu  
145 150 155 160

Leu Gln Lys Leu Gln Gln Leu Leu Gly Arg Asn Ile Ser Leu Ala Val  
165 170 175

Ala Thr Ser Ser Pro Thr Leu Ala Arg Thr Ser Thr Asp Leu Gln Val  
180 185 190

Leu Ala Ala Arg Gly Ala His Val Arg Gln Val Pro Met Gly Arg Leu  
195 200 205

Thr Arg Gly Val Leu His Ser Lys Phe Trp Val Val Asp Gly Arg His

# ES 2 694 165 T3

|                                                                                    |     |     |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 210                                                                                | 215 | 220 |
| Ile Tyr Met Gly Ser Ala Asn Met Asp Trp Arg Ser Leu Thr Gln Val<br>225 230 235 240 |     |     |
| Lys Glu Leu Gly Ala Val Ile Tyr Asn Cys Ser His Leu Ala Gln Asp<br>245 250 255     |     |     |
| Leu Glu Lys Thr Phe Gln Thr Tyr Trp Val Leu Gly Val Pro Lys Ala<br>260 265 270     |     |     |
| Val Leu Pro Lys Thr Trp Pro Gln Asn Phe Ser Ser His Phe Asn Arg<br>275 280 285     |     |     |
| Phe Gln Pro Phe His Gly Leu Phe Asp Gly Val Pro Thr Thr Ala Tyr<br>290 295 300     |     |     |
| Phe Ser Ala Ser Pro Pro Ala Leu Cys Pro Gln Gly Arg Thr Arg Asp<br>305 310 315 320 |     |     |
| Leu Glu Ala Leu Leu Ala Val Met Gly Ser Ala Gln Glu Phe Ile Tyr<br>325 330 335     |     |     |
| Ala Ser Val Met Glu Tyr Phe Pro Thr Thr Arg Phe Ser His Pro Pro<br>340 345 350     |     |     |
| Arg Tyr Trp Pro Val Leu Asp Asn Ala Leu Arg Ala Ala Ala Phe Gly<br>355 360 365     |     |     |
| Lys Gly Val Arg Val Arg Leu Leu Val Gly Cys Gly Leu Asn Thr Asp<br>370 375 380     |     |     |
| Pro Thr Met Phe Pro Tyr Leu Arg Ser Leu Gln Ala Leu Ser Asn Pro<br>385 390 395 400 |     |     |
| Ala Ala Asn Val Ser Val Asp Val Lys Val Phe Ile Val Pro Val Gly<br>405 410 415     |     |     |
| Asn His Ser Asn Ile Pro Phe Ser Arg Val Asn His Ser Lys Phe Met<br>420 425 430     |     |     |
| Val Thr Glu Lys Ala Ala Tyr Ile Gly Thr Ser Asn Trp Ser Glu Asp<br>435 440 445     |     |     |
| Tyr Phe Ser Ser Thr Ala Gly Val Gly Leu Val Val Thr Gln Ser Pro<br>450 455 460     |     |     |
| Gly Ala Gln Pro Ala Gly Ala Thr Val Gln Glu Gln Leu Arg Gln Leu<br>465 470 475 480 |     |     |
| Phe Glu Arg Asp Trp Ser Ser Arg Tyr Ala Val Gly Leu Asp Gly Gln<br>485 490 495     |     |     |
| Ala Pro Gly Gln Asp Cys Val Trp Gln Gly<br>500 505                                 |     |     |

<210> 2

<211> 5

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 2

Ser Tyr Trp Met His  
1 5

# ES 2 694 165 T3

<210> 3  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 5 <400> 3  
 Asp Ile Tyr Pro Gly Ser Asp Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys  
 1 5 10 15  
 Ser  
 10 <210> 4  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 15 <400> 4  
 Gly Gly Trp Leu Asp Ala Met Asp Tyr  
 1 5  
 20 <210> 5  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 25 <400> 5  
 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn  
 1 5 10  
 30 <210> 6  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 6  
 Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser  
 1 5  
 35 <210> 7  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 40 <400> 7  
 Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp  
 1 5  
 45 <210> 8  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 50 <400> 8

Thr Tyr Trp Met His  
1 5

5

Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Glu Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys  
1 5 10 15

10

15

Gly Tyr Ser Asp Phe Asp Tyr  
1 5

25

His Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ser Asn Ile Gly  
1 5 10

35

His Gly Thr Asn Leu Glu Asp  
1 5

40

Val Gln Tyr Val Gln Phe Pro  
1 5

50

# ES 2 694 165 T3

|    |                    |                                                                 |
|----|--------------------|-----------------------------------------------------------------|
|    |                    | Asp Tyr Asn Leu His                                             |
|    |                    | 1 5                                                             |
|    | <210> 15           |                                                                 |
|    | <211> 17           |                                                                 |
| 5  | <212> PRT          |                                                                 |
|    | <213> Homo sapiens |                                                                 |
|    | <400> 15           |                                                                 |
|    |                    | Tyr Ile Tyr Pro Tyr Asn Gly Asn Thr Gly Tyr Asn Gln Lys Phe Lys |
|    |                    | 1 5 10 15                                                       |
| 10 | Arg                |                                                                 |
|    | <210> 16           |                                                                 |
|    | <211> 14           |                                                                 |
|    | <212> PRT          |                                                                 |
| 15 | <213> Homo sapiens |                                                                 |
|    | <400> 16           |                                                                 |
|    |                    | Gly Gly Ile Tyr Asp Asp Tyr Tyr Asp Tyr Ala Ile Asp Tyr         |
|    |                    | 1 5 10                                                          |
| 20 |                    |                                                                 |
|    | <210> 17           |                                                                 |
|    | <211> 11           |                                                                 |
|    | <212> PRT          |                                                                 |
|    | <213> Homo sapiens |                                                                 |
| 25 |                    |                                                                 |
|    | <400> 17           |                                                                 |
|    |                    | Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser His Ile Ala                     |
|    |                    | 1 5 10                                                          |
| 30 |                    |                                                                 |
|    | <210> 18           |                                                                 |
|    | <211> 7            |                                                                 |
|    | <212> PRT          |                                                                 |
|    | <213> Homo sapiens |                                                                 |
| 35 |                    |                                                                 |
|    | <400> 18           |                                                                 |
|    |                    | Gly Ala Thr Asn Leu Ala His                                     |
|    |                    | 1 5                                                             |
|    | <210> 19           |                                                                 |
|    | <211> 7            |                                                                 |
| 40 | <212> PRT          |                                                                 |
|    | <213> Homo sapiens |                                                                 |
|    | <400> 19           |                                                                 |
|    |                    | Gln His Phe Trp Gly Thr Pro                                     |
|    |                    | 1 5                                                             |
| 45 |                    |                                                                 |
|    | <210> 20           |                                                                 |
|    | <211> 5            |                                                                 |
|    | <212> PRT          |                                                                 |
| 50 | <213> Homo sapiens |                                                                 |
|    | <400> 20           |                                                                 |



|    |                                                                         |                                                                                     |
|----|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                                                                         | Ser Tyr Tyr Leu Tyr<br>1 5                                                          |
| 5  | <210> 21<br><211> 17<br><212> PRT<br><213> Homo sapiens<br><br><400> 21 | Leu Ile Asn Pro Thr Asn Ser Asp Thr Ile Phe Asn Glu Lys Phe Lys<br>1 5 10 15<br>Ser |
| 10 | <210> 22<br><211> 11<br><212> PRT<br><213> Homo sapiens                 |                                                                                     |
| 15 | <400> 22                                                                |                                                                                     |
| 20 | <210> 23<br><211> 16<br><212> PRT<br><213> Homo sapiens                 | Glu Gly Gly Tyr Gly Tyr Gly Pro Phe Ala Tyr<br>1 5 10                               |
| 25 | <400> 23                                                                |                                                                                     |
| 30 | <210> 24<br><211> 7<br><212> PRT<br><213> Homo sapiens                  | Thr Ser Ser Gln Thr Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His<br>1 5 10 15        |
| 35 | <400> 24                                                                |                                                                                     |
| 40 | <210> 25<br><211> 6<br><212> PRT<br><213> Homo sapiens<br><br><400> 25  | Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser<br>1 5                                                  |
| 45 | <210> 26<br><211> 5<br><212> PRT<br><213> Homo sapiens                  | His Ser Thr His Val Pro<br>1 5                                                      |
| 50 | <400> 26                                                                |                                                                                     |

# ES 2 694 165 T3

Ser Tyr Gly Met Ser  
1 5

<210> 27  
<211> 17  
5 <212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 27

Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Tyr Tyr Pro Glu Ser Val Lys  
1 5 10 15  
Gly

10 <210> 28  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
15 <400> 28

Leu Tyr Gly Gly Arg Arg Gly Tyr Gly Leu Asp Tyr  
1 5 10

20 <210> 29  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
25 <400> 29

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr  
1 5 10 15

<210> 30  
30 <211> 7  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 30

35 Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser  
1 5

<210> 31  
<211> 6  
40 <212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 31

45 Ala Gln Asn Leu Glu Leu  
1 5

<210> 32  
<211> 6  
50 <212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 32

Ser His Tyr Tyr Trp Thr  
1 5

# ES 2 694 165 T3

<210> 33  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 5 <400> 33  
 Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asn  
 1 5 10 15  
 10 <210> 34  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 15 <400> 34  
 Glu Gly Pro Leu Tyr Tyr Gly Asn Pro Tyr Trp Tyr Phe Asp Val  
 1 5 10 15  
 20 <210> 35  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 25 <400> 35  
 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asn Tyr Leu Asn  
 1 5 10  
 30 <210> 36  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 36  
 Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser  
 1 5  
 35 <210> 37  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens.  
 40 <400> 37  
 Gln Gln Phe Asn Thr Leu Pro  
 1 5  
 45 <210> 38  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 50 <400> 38  
 Ser His Tyr Tyr Trp Ser  
 1 5  
 55 <210> 39  
 <211> 16  
 <212> PRT

# ES 2 694 165 T3

<213> Homo sapiens

<400> 39

Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asn  
1 5 10 15

5

<210> 40

<211> 15

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 40

Glu Gly Pro Leu Tyr Tyr Gly Asn Pro Tyr Trp Tyr Phe Asp Val  
1 5 10 15

15

<210> 41

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 41

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asn Tyr Leu Asn  
1 5 10

25

<210> 42

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30

<400> 42

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser  
1 5

35

<210> 43

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

40

Gln Gln Phe Asn Thr Leu Pro  
1 5

45

<210> 44

<211> 1521

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 44

atgctgaagc ctctttggaa agcagcagtg gccccacat ggccatgctc catgccgccc 60  
cgccgcccgt gggacagaga ggctggcacg ttgcaggctc tgggagcgct ggctgtgctg 120  
tggtggggct ccgtggctct tatctgcctc ctgtggcaag tccccgctcc tcccacctgg 180  
ggccagggtc agcccaagga cgtgcccagg tcctgggagc atggctccag ccagcttgg 240  
gagccctctg aagcagagga caggcagcag agggactcct gccagcttgt ccttgtggaa 300  
agcatcccc aggacctgcc atctgcagcc ggagccctct ctgccagcc tctgggccag 360  
gcctggctgc agctgtgga cactgccag gagagcgtcc acgtggcttc atactactgg 420  
tccttcacag ggctgacat cggggtaac gactcgtctt ccagctggg agagctctt 480  
ctgcagaagc tgcagcagct gctgggcagg aacatttccc tggctgtggc caccagcagc 540  
ccgacctgg ccaggacatc caccgacctg caggttctgg ctgccgagg tccccatgta 600  
cgacagggtc ccatggggcg gctcaccagg ggtgttttgc actccaaatt ctgggttgtg 660  
gatggacggc acatatacat gggcagtgcc aacatggact ggoggtctct gacgcaggtg 720  
aaggagcttg gcgtgtcat ctataactgc agccacctgg cccaagacct ggagaagacc 780  
ttccagacct actgggtact ggggggtccc aaggctgtcc tcccaaaac ctggcctcag 840  
aacttctcat ctacttcaa ccgtttccag cccttccag gcctctttga tggggtgccc 900  
accactgcct acttctcagc gtgcaccaca gcaactctgtc ccaggggcg caccggggac 960  
ctggaggcgc tgcgtggcgt gatggggagc gccaggagt tcactatgc ctccgtgatg 1020  
gagtatttcc ccaccacgcg cttcagccac ccccgagggt actggcgggt gctggacaac 1080  
gcgtgcggg cggcagcctt cggcaagggc gtgcgcgtgc gcctgtggt cggctgcgga 1140  
ctcaacacgg accccacct gttcccctac ctgcgggtccc tgcaggcgct cagcaacccc 1200  
ggggccaacg tctctgtgga cgtgaaagtc ttcactgtgc cgggtgggaa ccattccaac 1260  
atccattca gcagggtgaa ccacagcaag ttcattgtca cggagaaggc agcctacata 1320  
ggcacctcca actggtcggg ggattacttc agcagcacgg cgggggtggg cttggtggtc 1380  
accagagcc ctggcgogca gccgcgggg gccacgggtc aggagcagct gcggcagctc 1440  
tttgagggg actggagtgc gcgtacgcc gtggcctgg acggacagga tccgggccag 1500  
gactgcgttt ggcagggtg a 1521

<210> 45  
<211> 18  
5 <212> ADN  
<213> Artificial

<220>  
10 <223> cebador directo

<400> 45  
atggactggc ggtctctg 18

<210> 46  
15 <211> 20  
<212> ADN  
<213> Artificial

<220>  
20 <223> cebador inverso

<400> 46  
tggaaggctc tctccaggtc 20

<210> 47

<211> 19  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 5 <220>  
 <223> cebador directo  
 <400> 47  
 agccacatcg ctcagacac 19  
 10 <210> 48  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 15 <220>  
 <223> cebador inverso  
 <400> 48  
 20 gcccaatcg accaaatcc 19  
 <210> 49  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 25 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> cebador directo  
 30 <400> 49  
 atggactggc ggtctctg 18  
 <210> 50  
 <211> 20  
 35 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> cebador inverso  
 40 <400> 50  
 tggaaggctct tctccaggtc 20  
 <210> 51  
 45 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 <220>  
 50 <223> cebador directo  
 <400> 51  
 agccacatcg ctcagacac 19  
 55 <210> 52  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 60 <220>  
 <223> cebador inverso  
 <400> 52  
 gcccaatcg accaaatcc 19

<210> 53  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 5  
 <220>  
 <223> cebador directo  
 <400> 53  
 10 ttgaattcg ccgccacat gctgaagcct 30  
 <210> 54  
 <211> 34  
 <212> ADN  
 15 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> cebador inverso  
 20 <400> 54  
 aaagcgccg ctcagccctg ccaaacgcag tcct 34  
 <210> 55  
 <211> 1473  
 25 <212> ADN  
 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 Gen <221>  
 30 <222> (1)..(1473)  
 <400> 55  
 atgaagccta aactgatgta ccaggagctg aaggtgcctg cagaggagcc cgccaatgag 60  
 ctgcccatga atgagattga ggcgtggaag gctgcggaaa agaaagcccg ctgggtcctg 120  
 ctggtctctca ttctggcggg tgtgggcttc ggagccctga tgactcagct gtttctatgg 180  
 gaatacggcg acttgcatct ctttgggccc aaccagcgcc cagccccctg ctatgaccct 240  
 tgcgaagcag tgctgttgga aagcattcct gagggcctgg acttcccaa tgccctcacg 300  
 gggaaccctt ccaccagcca ggcctggctg ggcctgctcg ccggtgcga cagcagcctg 360  
 gacatgcct ccttctactg gaccctcacc aacaatgaca cccacacgca ggagccctct 420  
 gccagcagg gtgaggaggt cctccggcag ctgcagacc tggcaccaaa gggcgtgaac 480  
 gtccgcctcg ctgtgagcaa gccagcggg cccagccac aggcggacct gcaggctctg 540  
 ctgcagagcg gtgccaggt ccgcatggtg gacatgcaga agctgaccca tggcgtcctg 600  
 cataccaagt tctgggtgtt ggaccagacc cacttctacc tgggcagtgc caacatggac 660  
 tggcgttcac tgaccaggt caaggagctg ggcgtggtca tgtacaactg cagctgcctg 720

35

```

gctcgagacc tgaccaagat ctttgaggcc tactggttcc tgggccaggc aggcagctcc 780
atcccatcaa ctggccccc gttctatgac acccgctaca accaagagac accaatggag 840
atctgctca atggaacccc tgctctggcc tacctggcga gtgcgcccc acccctgtgt 900
ccaagtggcc gcactccaga cctgaaggct ctactcaacg tggtaggaca tgcccggagt 960
ttcatctacg tcgtgtcat gaactacctg cccactctgg agttctccca cctcacagg 1020
ttctggcctg ccattgacga tgggctgagg cgggccacct acgagcgtgg cgtcaagggt 1080
cgctgtca tcagctgctg gggacactcg gagccatcca tgcgggcctt cctgtctct 1140
ctggctgccc tgcgtgacaa ccataccac totgacatcc aggtgaaact ctttgtgtc 1200
cccgaggatg aggccaggc tcgaatcca tatgccgtg tcaaccacaa caagtacatg 1260
gtgactgaac gcgccaccta catcggaacc tccaactggt ctggcaacta cttcacggag 1320
acggcgggca cctcgtgct ggtgacgag aatgggagg ggcgcctgog gagccagctg 1380
gaggccattt tctgaggga ctggactcc cttacagcc atgaactga cactcagct 1440
gacagcgtgg gcaacgcctg ccgctgctc tga 1473

```

<210> 56  
 <211> 1338  
 <212> ADN  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> Gen  
 <222> (1)..(1338)

<400> 56

```

atgggagagg atgaggatgg actctcagaa aaaaattgcc aaaataaatg tgaattgcc 60
ctggtggaaa atattcctga aggccttaac tattcagaaa atgcaccatt tcaactatca 120
cttttccaa gctggatgaa ttactcaac atggccaaaa agtctgttga catagtgtct 180
tccattggg atctcaacca cactcatcca tcagcatgtc aggttcaacg totttttgaa 240
aagttgtcc agctgacttc gcaaaatatt gaaatcaago tagtgagtga tgtaacagct 300
gattcaaagg tattagaagc ctgaaatta aaggagcgg aggtgacgt catgaacatg 360
accgcttaca acaaggcgg gctgcagtc tctttctgga tcgtggacaa acagcacgtg 420
tatatcgga gtgcgggtt ggactggcaa tccctgggac agatgaaaga actcgggtgc 480
atcttctaca actgcagctg cctggtccta gatttcaaaa ggatatttgc totatatagt 540
tcattaaaat tcaaaagcag agtgccctca acctggtcca aaagactcta tggagtctat 600
gacaatgaaa agaaattgca acttcagttg aatgaaacca aatctcaagc atttgtatcg 660
aattctcaa aactcttttg cctaaaaac agaagttttg acatagatgc catctacagt 720
gtgatagatg atgccaagca gtatgtgtac atcgtgtca tggactacct gcctatctcc 780
agcacaagca ccaaaaggac ttactggcca gacttggatg caaaaataag agaagcatta 840
gttttacgaa gcgttagagt tcgactcctt ttaagcttct ggaaggaaac tgatccctt 900
acgtttaact ttatttcatc tcttaagcg atttgactg aaatagocaa ctgcagtttg 960
aaagttaaat tttttgatct gaaagagag aatgcttgtg ctacaaaaga acaaaagaat 1020
cacaccttct ctaggttaaa tcgcaacaag tacatggtga cagatggagc agcttatatt 1080
ggaaattttg atigggtagg gaatgatttc actcagaatg ctggcacggg ccttgttate 1140

```



# ES 2 694 165 T3

aaccaggcag atgtgaggaa caacagaagc atcattaagc aacttaaaga tgtgtttgaa 1200  
 agggactggt attcaccgta tgccaaaacc ttacagccaa ccaaacagcc gaactgctca 1260  
 agcctgttca aactcaaacc cctctccaac aaaactgcc aagacgacac aggcgggaaag 1320  
 gatccccgga acgtatga 1338

<210> 57  
 <211> 39  
 5 <212> ADN  
 <213> Artificial

<220>  
 <223> cebador directo

10 <400> 57  
 tttaagcttg ccgccaccat gaagcctaaa ctgatgtac 39

<210> 58  
 15 <211> 57  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

<220>  
 20 <223> cebador inverso

<400> 58  
 tttaattct cacttatcgt cgtcatcctt gtaatcgagc aggcggcagg cgttgcc 57

25 <210> 59  
 <211> 39  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

30 <220>  
 <223> cebador directo

<400> 59  
 35 tttaagcttg ccgccaccat gggagaggat gaggatgga 39

<210> 60  
 <211> 57  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

40 <220>  
 <223> cebador inverso

<400> 60  
 45 tttaattct cacttatcgt cgtcatcctt gtaatctacg ttccggggat cctttcc 57

<210> 61  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 50 <213> Artificial

<220>  
 <223> cebador directo

55 <400> 61  
 agatgctgaa gcctcttcgg agagcg 26

<210> 62

<211> 25  
<212> ADN  
<213> Artificial

5 <220>  
<223> cebador inverso

<400> 62  
tcagccctgc caaacgcagt cctgg 25

10 <210> 63  
<211> 1521  
<212> ADN  
<213> Macaca fascicularis

15 <220>  
Gen <221>  
<222> (1).. (1521)

20 <400> 63

```

atgctgaagc ctcttcggag agcggcagtg acccccatgt ggccgtgctc catgctgccc 60
cgccgcctgt gggacagaga ggctggcacg ttgcaggctc tgggagtgtt ggctatgctg 120
tggctgggct ccatggctct tacctacctc ctgtggcaag tgcgccgtcc tcccacctgg 180
ggccaggctg agcccaagga cgtgccaggg tcttgggggc atggttccag tccagctctg 240
gagccctctg aagcggaggt caggaagcag agggactcct gccagcttgt ccttgtgaa 300
agcatccccc aggacctgcc atttgacgcc ggacagctct ccgccagcc tctgggccag 360
gcctggctgc agctgtctga cactgccag gagagcgtcc acgtggcttc atactactgg 420
tccctcacag gggccgacat tggggtaac gactcatctt ccagctggg agaggccctt 480
ctgcagaagc tgcagcagct gctgggcagg aacatttctt tggctgtggc caccagcagt 540
ccaacactgg ccaggaagtc caccgacctg caggtcctgg ctgccgagg tgcacaggta 600
cgacgggtgc ccatggggcg gtcacacagg ggcgttttgc actccaaatt ctgggttgtg 660
gatggacggc acatatacat gggcagtgcc aacatggact ggccgtccct gacgcaggtg 720
aaggagcttg gcgtgtcat ctataactgc agccacctgg cccaagacct ggagaagacc 780
ttcagacct actgggtgtt gggggtgccc aaggctgtcc tccccaaaac ctggcctcag 840
aaattctcat ctacatcaa ccgtttccag cccttccagg gcctctttga tggggtgccc 900
accactgcct acttctcagc atcgccaccc gcactctgtc ccaggggccg caccctgac 960
ctggaggcgc tgttggcggg gatggggagc gccaggaggt tcatctatgc ctccgtgatg 1020
gagtatttcc ctaccacgag ctacagccac ccccgaggt actggcgggt gctggacaac 1080
gcgtgcggg cggcagcctt cagcaagggt gtgcgcgtgc gcctgtgtgt cagctgcgga 1140
ctcaacacgg accccacct gttcccttat ctgcggtccc tgcaggcgtc cagcaacccc 1200
gcggccaacg tctctgtgga cgtgaaagtc ttcatcgtgc cgggtgggaa tcattccaac 1260
atcccggtca gcagggtgaa ccacagcaag ttcatggtca cggagaaggc agcctacata 1320
ggcaacctca actggtcgga ggattacttc agcagcagca cgggggtggg cctggtgtgc 1380
accagagcc cggcgcgca gcccgcggg gccacggta aggagcagct gcggcagctc 1440
tttgagcggg actggagttc gcgtacgcc gtcggcctgg acggacagge tccgggccag 1500
gactggttt ggcagggtg a 1521

```

25 <210> 64  
<211> 36  
<212> ADN

<213> Artificial  
 <220>  
 <223> cebador  
 5 <400> 64  
 ccaggagagt gggagaggct cttctcagta tggtagg 36  
 <210> 65  
 10 <211> 32  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 <220>  
 15 <223> cebador  
 <400> 65  
 ggctcaggga aatagccctt gaccaggcat cc 32  
 20 <210> 66  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 25 <220>  
 <223> cebador  
 <400> 66  
 30 tccagagttc caggtcactg tcac 24  
 <210> 67  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 35 <220>  
 <223> cebador  
 <400> 67  
 40 aggggccagt ggatagacag atgg 24  
 <210> 68  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 45 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> cebador  
 50 <400> 68  
 tccagagttc caagtcacag tcac 24  
 <210> 69  
 <211> 24  
 55 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> cebador  
 60 <400> 69  
 aggggccagt ggatagactg atgg 24  
 <210> 70

<211> 36  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 5 <220>  
 <223> cebador de anclaje  
 <220>  
 <221> rasgo\_misc  
 10 <222> (24).. (25)  
 <223> n es desoxiisosina.  
 <220>  
 <221> rasgo\_misc  
 15 <222> (29).. (30)  
 <223> n es desoxiisosina.  
 <220>  
 <221> rasgo\_misc  
 20 <222> (34)..(35)  
 <223> n es desoxiisosina.  
 <400> 70  
 25 ggccacgcgt cgactagtagt gggngggggn gggngg 36  
 <210> 71  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 30 <220>  
 <223> cebador AUAP  
 <400> 71  
 35 ggccacgcgt cgactagtagt 20  
 <210> 72  
 <211> 31  
 <212> ADN  
 40 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> cebador  
 45 <400> 72  
 cactacttcc tgtgaagct cttgacgatg g 31  
 <210> 73  
 <211> 23  
 50 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> cebador  
 55 <400> 73  
 gtgagtggcc tcacaggtat agc 23  
 <210> 74  
 60 <211> 504  
 <212> ADN  
 <213> Mus musculus  
 <400> 74

# ES 2 694 165 T3

```

atgagatcac agttctctat acagttactg agcacacaga acctcacott gggatggagc   60
tgtatcatcc tcttcttggc agcaacagct acaggtgtcc actcccaggt ccaactgcag   120
cagcctgggg ctgaactggt gaagcctggg acttcagtga aaatgtcctg caaggcttct   180
ggctacacct tcaccagcta ctggatgcac tgggtgaagc agaggccggg acaaggcctt   240
gagtggattg gagatattta tcttgtagt gatagtacta actacaatga gaagttcaag   300
agcaaggcca cactgactgt agacacatcc tccagcacag cctacatgca actcagcagc   360
ctgacatctg aggactctgc ggtctattac tgtgcaagag gaggggtggt ggatgctatg   420
gactactggg gtcaaggaac ctcagtcacc gtctctcag ccaaaacaac acccccatca   480
gtctatccac tggccoctaa gggc                                         504

```

<210> 75  
 <211> 168  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 75

5

```

Met Arg Ser Gln Phe Ser Ile Gln Leu Leu Ser Thr Gln Asn Leu Thr
1      5      10      15

Leu Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
20     25     30

Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys
35     40     45

Pro Gly Thr Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
50     55     60

Thr Ser Tyr Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
65     70     75     80

Glu Trp Ile Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Ser Asp Ser Thr Asn Tyr Asn
85     90     95

Glu Lys Phe Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser
100    105    110

Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
115    120    125

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Trp Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly
130    135    140

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser
145    150    155    160

Val Tyr Pro Leu Ala Pro Lys Gly
165

```

10

<210> 76  
 <211> 437  
 <212> ADN  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 76

15

# ES 2 694 165 T3

```

atggaatgta actggatact tccittttatt ctgtcggtaa ttccaggggt ctctcagag    60
gttcagctcc agcagtctgg gactgtgctg tcaaggcctg gggcttccgt gacgatgtcc    120
tgcaaggctt ctggcgacag ctttaccacc tactggatgc actgggtaaa acagaggcct    180
ggacagggtc tagaatggat tgggtctatc tctcctggaa atagtgaac tagctacaac    240
cagaagtta agggaaggc caaactgact gcagtcacat ccgccagcac tgcctatatg    300
gagttcacta gcttgacaaa tgaggactct gcggtctatt actgtacggg gggttattcc    360
gactttgact actggggcca aggcaccact ctcacagtct cctcagccaa aacgacacco    420
ccatctgtct atccact                                     437

```

<210> 77  
 <211> 145  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 77

```

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

Val Ser Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Thr Val Leu Ser Arg
20     25     30

Pro Gly Ala Ser Val Thr Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Ser Phe
35     40     45

Thr Thr Tyr Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
50     55     60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Glu Thr Ser Tyr Asn
65     70     75     80

Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Lys Leu Thr Ala Val Thr Ser Ala Ser
85     90     95

Thr Ala Tyr Met Glu Phe Thr Ser Leu Thr Asn Glu Asp Ser Ala Val
100    105    110

Tyr Tyr Cys Thr Gly Gly Tyr Ser Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
115    120    125

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr
130    135    140

Pro
145

```

<210> 78  
 <211> 475  
 <212> ADN  
 <213> Mus musculus  
 <400> 78

# ES 2 694 165 T3

```

atgggatgga gctggatctt tctcttctc ctgtcaggaa ctgcaggcgt ccactctgag    60
gtccagcttc agcagtcagg acctgaactg gtgaaacctg gggcctcagt gaagatatcc    120
tgcaaggctt ctggatacac attcaactgac tacaacttgc actgggtgaa gcagagccat    180
ggaaagagcc ttgagtggat tggatatatt tatccttaca atggtataac tggctacaac    240
cagaagtcca agaggaaggc cacattgaat gtagacaatt cctccggcac agtctacatg    300
gagctccgca gctgacatc tgaggactct gcagctctatt actgtgcaag aggagggatc    360
tatgatgatt actacgacta tgcctatgac tattggggtc aaggaacctc agtcaccgtc    420
tctcagcca aaacaacacc cccatcagtc tatccactgg cccctaaggc cgaat        475

```

<210> 79  
 <211> 158  
 5 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 79

```

Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Gly
1      5      10      15
Val His Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys

```

20 25 30

```

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

```

<210> 80  
 15 <211> 470  
 <212> ADN  
 <213> Mus musculus

<400> 80

# ES 2 694 165 T3

```

atgggatgga gctggatctt tctcttcctc ctgtcaggaa ctgcaggcgt ccactctgag    60
gtccagcttc agcagtcagg acctgaactg gtgaaacctg gggcctcagt gaagatatcc    120
tgcaaggctt ctggatacac attcactgac tacaacttgc actgggtgaa gcagagccat    180
ggaaagagcc ttgagtggat tggatatatt tatccttaca atggtataac tggctacaac    240
cagaagtcca agaggaaggc cacattgact gtagacaatt cctccggcac agtctacatg    300
gagctccgca gcctgacatc tggagactct gcagtcattt actgtgcaag aggagggatc    360
tatgatgatt actacgacta tgcatacgac tattggggtc aaggaacctc agtcaccgto    420
tctcagcca aaacaacacc cccatcagtc tatccactgg ccctaaggg                    470

```

<210> 81  
 <211> 156  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 81

```

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

Val His Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys
20     25     30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35     40     45

Thr Asp Tyr Asn Leu His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu
50     55     60

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Tyr Asn Gly Asn Thr Gly Tyr Asn
65     70     75     80

Gln Lys Phe Lys Arg Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Asn Ser Ser Gly
85     90     95

Thr Val Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
100    105    110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Ile Tyr Asp Asp Tyr Tyr Asp Tyr Ala
115    120    125

Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys
130    135    140

Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Lys
145    150    155

```

<210> 82  
 <211> 462  
 <212> ADN  
 <213> Mus musculus  
 <400> 82



# ES 2 694 165 T3

```

atgggatgga gctatatcat cctctttttg gtagcaacag caacaggggt ccactcccag    60
gtccaactgc agcagtcggg ggcagaactg gtgaagcctg gggcttcagt gaagttgtcc    120
tgcaaggctt ctggctacac cttcaccagc tactatttgt actgggtgag gcagaggcct    180
ggacaaggcc ttgagtggat tggactgatt aatcctacca atagtatac tatcttcaat    240
gagaagtcca agagcaaggc cacactgact gtagacaaat cctccagcac agcatacatg    300
caactcagca gcctgacatc tggagactct gcggtctatt actgtacacg agagggggga    360
tatggttacg gcccgtttgc ttactggggo caagggactc tggtcactgt ctctgcagcc    420
aaaaacaacac ccccatcagt ctatccactg gccctaagg gc                        462

```

<210> 83  
 <211> 154  
 5 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 83

```

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

Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys
20     25     30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35     40     45

Thr Ser Tyr Tyr Leu Tyr Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
50     55     60

Glu Trp Ile Gly Leu Ile Asn Pro Thr Asn Ser Asp Thr Ile Phe Asn
65     70     75     80

Glu Lys Phe Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser
85     90     95

Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
100    105    110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Glu Gly Gly Tyr Gly Tyr Gly Pro Phe Ala Tyr
115    120    125

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Pro
130    135    140

Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Lys Gly
145    150

```

<210> 84  
 15 <211> 450  
 <212> ADN  
 <213> Mus musculus

<400> 84

# ES 2 694 165 T3

```

atgaaattcg ggtcagctt gattttcctt gccctcattt taaaaggtgt ccagtgtgag 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggagactta gtgaggcctg gagggtcctt gaaactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcag ttccagtagc tatggcatgt ctgggtttcg ccagactcca 180
gacaagaggo tggagtgggt ogcaaccatt agtagtggtg gtagttacat ctactatcca 240
gaaagtgtga aggggcgatt caccatctcc agagacaatg ccaggaacat cctgtacctg 300
caaatgagca gtctgaagto tggagacaca gccatgtatt attgtgtaag actctacggt 360
ggtaggagag gctatgggtt ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca 420
gccaaaacaa cagcccccato ggtctatcca 450

```

<210> 85  
 <211> 150  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 85

```

Met Asn Phe Gly Leu Ser Leu Ile Phe Leu Ala Leu Ile Leu Lys Gly
1      5      10      15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Arg
20     25     30

Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe
35     40     45

Ser Ser Tyr Gly Met Ser Trp Phe Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu
50     55     60

Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Tyr Tyr Pro
65     70     75     80

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

Ile Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met
100    105    110

Tyr Tyr Cys Val Arg Leu Tyr Gly Gly Arg Arg Gly Tyr Gly Leu Asp
115    120    125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr
130    135    140

Ala Pro Ser Val Tyr Pro
145    150

```

<210> 86  
 <211> 450  
 <212> ADN  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 86

# ES 2 694 165 T3

```

atgaacttcg ggctcagctt gattttcctt gccctcattt taaaagggtg ccagtgtgag      60
gtgcagctgg tggagtctgg gggagactta gtgaggcctg gagggtcctt gaaactctcc      120
tgtgcagcct ctggattcag tticagtagc tatggcatgt ctgggtttcg ccagactcca      180
gacaagaggo tggagtgggt cgcaaccatt agtagtggtg gtagttacat ctactatcca      240
gaaagtgtga aggggagatt caccatctcc agagacaatg ccaggaacat cctgtacctg      300
caaatgagca gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt attgtgtaag actctacggt      360
ggtaggagag gctatggttt ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca      420
gccaaaacaa caccgccatc agtctatcca                                         450

```

<210> 87  
 <211> 150  
 5 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 87

```

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

```

10

130 135 140

Pro Pro Ser Val Tyr Pro  
145 150

15 <210> 88  
 <211> 472  
 <212> ADN  
 <213> Mus musculus

<400> 88

20

# ES 2 694 165 T3

```

atgaaagtgt tgagtctgtt gtacctgttg acagccattc ctggtatcct gtctgatgta    60
cagcttcagg agtcaggacc tggcctctgt aaacctttctc aatctctgtc tctcaccctgc    120
tctgtcactg gctactccat caccagtcac tattactgga cctggatccg gcagtttcca    180
ggaaacaaac tggaatggat gggctacata agctacgacg gtagcaataa ctacaaccca    240
tctctcaaaa atcgaatctc catcactcgt gacacatcta agaaccagtt ttctctgaag    300
ttgaattctg tgactactga ggacacagct acatataact gtgcaagaga gggcccgcctc    360
tactatggta acccctactg gtatttcgat gtctggggcg cagggaccac ggtcaccgtc    420
tctctagcca aaacaacacc cccatcagtc tatccactgg cccctaaggg cg          472

```

5 <210> 89  
 <211> 157  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 89

```

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

Leu Ser Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro
          20          25          30

Ser Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr
          35          40          45

Ser His Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu
          50          55          60

Glu Trp Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro
          65          70          75          80

Ser Leu Lys Asn Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln
          85          90          95

Phe Phe Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr
          100          105          110

Asn Cys Ala Arg Glu Gly Pro Leu Tyr Tyr Gly Asn Pro Tyr Trp Tyr
          115          120          125

Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Lys
          130          135          140

Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Lys Gly
          145          150          155

```

10  
  
 <210> 90  
 <211> 471  
 <212> ADN  
 15 <213> Mus musculus  
  
 <400> 90

# ES 2 694 165 T3

```

atgaaagtgt tgagtctgtt gtacctgttg acagccattc ctggtatcct gtctgatgta    60
cagcttcagg agtcaggacc tggcctctgt aaaccttctc agtctctgtc tctcacctgc    120
tctgtcactg gctactccat ctccagtcac tattactgga gttggatccg gcagtttcca    180
ggaaacagac tggaatggat gggctacata agctacgaag gtagcaataa ctacaaccca    240
tctctcaaaa atcgaatctc catcactcgt gacacatcta agaaccagtt ttctctgaag    300
ttgaattctg tgactactga ggacacagct acatataact gtgcaagaga gggcccgcctc    360
tactatggta acccctactg gtatttcgat gtctggggcg cagggaccac ggtcaccgtc    420
tcctcagcca aaacaacacc cccatcagtc tatccactgg cccctaaggg c          471

```

<210> 91  
 <211> 157  
 5 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 91

```

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

Leu Ser Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro
      20              25              30

Ser Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Ser
      35              40              45

Ser His Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Arg Leu
      50              55              60

Glu Trp Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro
      65              70              75              80

Ser Leu Lys Asn Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln
      85              90              95

Phe Phe Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr
      100              105              110

Asn Cys Ala Arg Glu Gly Pro Leu Tyr Tyr Gly Asn Pro Tyr Trp Tyr
      115              120              125

Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Lys
      130              135              140

Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Lys Gly
      145              150              155

```

<210> 92  
 <211> 470  
 <212> ADN  
 15 <213> Mus musculus  
  
 <400> 92

```

atgaaagtgt tgagtctgtt gtacctgttg acagccattc ctggtatcct gtctgatgta    60

```

# ES 2 694 165 T3

cagcttcagg agtcaggacc tggcctcgtg aaacottctc agtctctgtc tctcacctgc 120  
tctgtcactg gctactccat ctccagtcac tattactgga gtggatccg gcagtttcca 180  
ggaaacagac tggaatggat zggctacata agctacgacg gtagcaataa ctacaacca 240  
tctctcaaaa atcgaatctc catcactcgt gacacatcta agaaccagtt tttcctgaag 300  
ttgaattctg tgactactga ggacacagct acatataact gtgcaagaga gggcccgcgc 360  
tactatggta acccctactg gtatttcgat gtctggggcg cagggaccac ggtcaccgtc 420  
tcctcagcca aaacgacacc cccatctgtc tatccactgg ccctaaggg 470

<210> 93  
<211> 156  
5 <212> PRT  
<213> Mus musculus  
<400> 93

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

<210> 94  
<211> 421  
10 <212> ADN  
15 <213> Mus musculus  
<400> 94

# ES 2 694 165 T3

atgatgtcct ctgtcagtt ccttggtctc ctgttgctct gttttcaagg taccagatgt 60  
 gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgoot ctctgggaga cagagtcacc 120  
 atcagttgca gggcaagtca ggacattagc aattatttaa actggatatca gcagaaacca 180  
 gatggaactg ttaaactcct gatctactac acatcaagat tacaactcagg agtcccatca 240

aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa 300  
 gaagatatcg ccacttactt ttccaacag ggtaatacgc ttccgtggac gttcgggtga 360  
 ggcaccaago tggaaatcaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat caaggcgcaa 420  
 t 421

5 <210> 95  
 <211> 140  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

10 <400> 95

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

15 <210> 96  
 <211> 459  
 <212> ADN  
 <213> Mus musculus

20 <400> 96

# ES 2 694 165 T3

```

atgatgggcc ttgctcagtt tottgcatto ttgttgcttt ggtttccagg tgcaggatgt    60
gacatcctga tgaccaatc tccatcctcc atgtctgtat ctctgggaga cacagtcagc    120
atcacttgcc atgcaagtca gggcattaga agtaatatag ggtgggttgca gcagaaacca    180
gggaaatcat ttaagggcct gatctttcat ggaaccaact tggaagatgg agttccatca    240
aggttcagtg gcagaggatc tggagcagat tattctctca ccatcaacag cctggaatct    300
gaagattttg cagactatta ctgtgtacag tatgttcagt ttctccaac gttcggctcg    360
gggacaaaagt tggaaataag acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca    420
tccagtgago agttaacato tggagggtgcc tcagtcgtg    459

```

<210> 97  
 <211> 153  
 5 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 97

```

Met Met Val Leu Ala Gln Phe Leu Ala Phe Leu Leu Leu Trp Phe Pro
 1          5          10          15

Gly Ala Gly Cys Asp Ile Leu Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Ser
          20          25          30

Val Ser Leu Gly Asp Thr Val Ser Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Gly
          35          40          45

Ile Arg Ser Asn Ile Gly Trp Leu Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Phe
 50          55          60

Lys Gly Leu Ile Phe His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser
 65          70          75          80

Arg Phe Ser Gly Arg Gly Ser Gly Ala Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Asn
          85          90          95

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Gln Tyr Val
          100          105          110

Gln Phe Pro Pro Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Arg Arg
          115          120          125

Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
          130          135          140

Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val
 145          150

```

10  
  
 <210> 98  
 <211> 467  
 <212> ADN  
 15 <213> Mus musculus  
  
 <400> 98



# ES 2 694 165 T3

```

atgagtgtgc ccactcaggt cotggggttg ctgctgctgt ggcttacaga tgccagatgt    60
gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgtat ctgtgggaga aactgtogcc    120
atcacatgtc gagcaagtga gaataattac agtcatatag catggtatca gcagaaagag    180
ggaaaaatctc ctcagcgctt ggtctatggt gcaacaaact tagcacatgg tgtgccatca    240
aggttcagtg gcagtggtgc aggcacacag tattccctca agatcaacag ccttcagtct    300
gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttgggta ctccgtggac gttcgggtga    360
ggcaccaago tggaaatcaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca    420
tcagtgagc agttaacatc tggagggtgc tcagtcgtgt gcttctt    467

```

<210> 99  
 <211> 155  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 99

```

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

```

```

Asp Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser
20          25          30

```

```

Val Ser Val Gly Glu Thr Val Ala Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn
35          40          45

```

```

Ile Tyr Ser His Ile Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Glu Gly Lys Ser Pro
50          55          60

```

```

Gln Arg Leu Val Tyr Gly Ala Thr Asn Leu Ala His Gly Val Pro Ser
65          70          75          80

```

```

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn
85          90          95

```

```

Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp
100         105         110

```

```

Gly Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
115         120         125

```

```

Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
130         135         140

```

```

Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe
145         150         155

```

<210> 100  
 <211> 454  
 <212> ADN  
 <213> Mus musculus  
 <400> 100

# ES 2 694 165 T3

```

atgagtgtgc ccactcaggt cctgggggttg ctgctgctgt ggcttacaga tgccagatgt    60
gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgtat ctgtgggaga aactgtcgcc    120
atcacatgtc gagcaagtga gaatttttac agtcatatag catggtatca gcagaaagag    180
ggaaaatctc ctcagcgctt ggtctatggt gcaacaaact tagcacatgg tgtgccatca    240
aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag tattccctca agatcaacag cttcagttct    300
gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttggggta ctccgtggac gttcgggtgga    360
ggcaccaagc tggaaatcaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca    420
tccagtgagc agttaacatc tggagggtgcc tcag                                454

```

<210> 101  
 <211> 151  
 5 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 101

```

Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Trp Leu Thr
 1              5              10              15
Asp Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser
          20              25              30
Val Ser Val Gly Glu Thr Val Ala Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn

```

10

```

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

```

<210> 102  
 15 <211> 457  
 <212> ADN  
 <213> Mus musculus

<400> 102

20

# ES 2 694 165 T3

```

atgaagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttttgga ttctgtgttc cagcagtgat 60
gttgtgatga cccaaactcc actctccctg cctgtcagtc ttggagatca agcctccatc 120
tcttgacat ctagtacagc ccttgtagac agtaatggaa acacctattt acattggtag 180
ctgcagaagc caggccagtc tccaaagctc ctgacttaca aagtttccaa ccgattttct 240
ggggtccag acaggttcag tggcagtggg tcaggacag atttcacact caagatcagc 300
agagtggagg ctgaggatct gggagtttat ttctgtcttc acagtacaca tgttccattc 360
acgttcggct cggggacaaa gttgaaata aaacgggctg atgtgcacc aactgtatcc 420
atcttccac catccagtga gcagttaaca tctggag 457

```

<210> 103  
 <211> 152  
 5 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 103

```

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ala
1 5 10 15

Ser Ser Ser Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val
20 25 30

Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Thr Ser Ser Gln Thr Leu
35 40 45

Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
50 55 60

Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
65 70 75 80

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
85 90 95

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys
100 105 110

Ser His Ser Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu
115 120 125

Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
130 135 140

Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
145 150

```

<210> 104  
 15 <211> 423  
 <212> ADN  
 <213> Mus musculus  
 <400> 104

20

# ES 2 694 165 T3

```

atgaggttct ctgtcagct tctgggctg cttgtctct ggatccctgg atccactcgg 60
gaaattgtga tgacgcaggc tgcattctcc aatccagtca ctcttggaac atcagcttcc 120
atctcctgca ggtctagtaa gactctccta catagtgatg gcacactta tttgtattgg 180
tatctgcaga agccaggcca gtctctcag ctcttgattt atcagatgtc caacottgcc 240
tcaggagtcc cagacaggtt cagtagcagt gggtcaggaa ctgatttcac actgagaatc 300
agcagagtgg aggcagagga tgtgggtgtt tattactgtg ctcaaaatct agaactttac 360
acgttcggag gggggaccaa gctgaaata aaacgggctg atgtgcacc aactgtatcc 420
atc 423

```

<210> 105  
 <211> 141  
 5 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 105

```

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

```

<210> 106  
 15 <211> 423  
 <212> ADN  
 <213> Mus musculus

<400> 106

# ES 2 694 165 T3

```

atgaggttct ctgctcagct tctgggctg cttgtctct ggatccctgg atccactgcg      60
gaaattgtga tgacgcagco tgcattctcc aatccagtcg ctcttggaac atcagottcc-   120
atctcctgca ggtctagtaa gactctcta catagtgatg gcacactta tttgtattgg      180
tatctgcaga agccaggcca gtctctcag ctcttgattt atcagatgic caaccttgcc      240
tcaggagtcc cagacaggtt cagtagcagt gggtcaggaa ctgatttcac actgagaatc      300
agcagagtgg aggtgagga tgtgggtgtt tattactgtg ctcaaatct agaactttac      360
acgttcggag gggggaccaa gctggaaata aaacgggctg atgtgcacc aactgtatcc      420
atc                                                                           423

```

5 <210> 107  
 <211> 141  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 107

```

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

```

10  
 15 <210> 108  
 <211> 404  
 <212> ADN  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 108

# ES 2 694 165 T3

```

atgatgtcct ctgtcagtt ccttggtctc ctgttgctct gttttcaagg taccagatgt    60
gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctggggga cagagtcacc    120
atcagttgca gggcaagtca ggacattgac aattatttaa actggtatca gcagaaacca    180
gatggaactg ttaaaactct gatctactac acatcaagat tacactcagg agtcccatca    240
aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa    300
gaagatgttg ccacttactt ttgccagcag tttaatcgc ttctcggac gttcgggtga    360
ggcaccaaac tggaaatcaa acgggctgat gctgcaccaa ctgt                    404

```

<210> 109  
 <211> 134  
 5 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
  
 <400> 109

```

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
 1          5          10          15

Gly Thr Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser
          20          25          30

Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp
          35          40          45

Ile Asp Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val
          50          55          60

Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser
          65          70          75          80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser
          85          90          95

Asn Leu Glu Gln Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Phe Asn
          100          105          110

Thr Leu Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
          115          120          125

Ala Asp Ala Ala Pro Thr
          130

```

10  
 <210> 110  
 <211> 414  
 <212> ADN  
 15 <213> Mus musculus  
  
 <400> 110

```

atgatgtcct ctgtcagtt ccttggtctc ctgttgctct gttttcaagg taccagatgt    60
gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctggggga cagcgtcacc    120
atcagttgca gggcaagtca ggacattgac aattatttaa actggtatca gcaaaaacca    180

```

# ES 2 694 165 T3

gatggaactg ttaaactcct gatctactac acatcaagat tacactcagg agtcccatca 240  
 aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggaacaa 300  
 gaagatattg ccacttactt ttgccaacag tttataacgc ttctcggac gttcgggtga 360  
 ggcaccaagc tggaatcaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttc 414

<210> 111  
 <211> 138  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 111

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

<210> 112  
 <211> 465  
 <212> ADN  
 <213> Mus musculus  
 <400> 112

atgatgtcct ctgctcagtt ccttggtctc ctgttgcct gttttcaagg taccagatgt 60  
 gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggggg cagcgtcacc 120  
 atcagttgca gggcaagtca ggacattgac aattatttaa actggtatca gcaaaaacca 180  
 gatggaactg ttaaactcct gatctactac acatcaagat tacactcagg agtcccatca 240  
 aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggaacaa 300  
 gaagatattg ccacttactt ttgccaacag tttataacgc ttctcggac gttcgggtga 360  
 ggcaccaagc tggaatcaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttccacca 420  
 tccagtgagc agttaacatc tggagggtgc tcagtcgtgt gcttc 465

<210> 113

# ES 2 694 165 T3

<211> 155  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

5 <400> 113

```

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

<210> 114  
 <211> 93  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

10

<220>  
 <223> cebador  
 <400> 114

15

```

accaagcttg ccgccacocat gaaagtgttg agtctgttgt acctgttgac agccattcct      60
ggatatcctgt ctcagggtcca actgcagcag cct                                     93
  
```

20

<210> 115  
 <211> 42  
 <212> ADN  
 <213> Artificial

25

<220>  
 <223> cebador

30

<400> 115  
 cgatgggccc ttgtgctag ctgaggagac ggtgactgag gt 42

<210> 116  
 <211> 39  
 <212> ADN



<213> Artificial  
 <220>  
 <223> cebador  
 5 <400> 116  
 accaagcttg cggccacat gatgtcctct gctcagttc 39  
 10 <210> 117  
 <211> 33  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 15 <220>  
 <223> cebador  
 <400> 117  
 agccacagtt cggttgatt ccagcttggt gcc 33  
 20 <210> 118  
 <211> 33  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 25 <220>  
 <223> cebador  
 <400> 118  
 ctggaatca aacgaactgt ggctgcacca tct 33  
 30 <210> 119  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 35 <220>  
 <223> cebador  
 <400> 119  
 40 aaagaattcc tagcactctc ccctgttgaa 30  
 <210> 120  
 <211> 1401  
 <212> ADN  
 45 <213> Quimera sp.  
 <400> 120

atgaaagtgt tgagtctgtt gtacctgttg acagccattc ctggtatcct gtctcaggtc 60  
 caactgcagc agcctggggc tgaactgggtg aagcctggga cttcagttaa aatgtcctgc 120  
 aaggcttctg gctacacctt caccagctac tggatgcact gggatgaagca gaggccggga 180  
 caaggccctg agtggattgg agatatttat cctggtagtg atagtactaa ctacaatgag 240  
 aagttcaaga gcaaggccac actgactgta gacacatcct ccagcacagc ctacatgcaa 300  
 ctcagcagcc tgacatctga ggaactctgc gtctattact gtgcaagagg aggggtggtg 360  
 gatgctatgg actactgggg tcaaggaaac tcagtcaccg tctcctcagc tagcaccaa 420  
 ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 480  
 ctgggctgcc tggtaagga ctacttccc gaaccggtga cgggtgtgtg gaactcagcc 540  
 gccctgacca ggcgcgtgca cacttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 600  
 ctcagcagcg tggtagcctg gccctccagc agcttgggca ccagacota catctgcaac 660  
 gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggt gacaagaaag ttgagccaa atcttgtgac 720  
 aaaactcaca catgccacc gtgcccagca cctgaactcc tggggggacc gtcagtcttc 780  
 ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc 840

gtgggtggtg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 900  
 gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cactaccgt 960  
 gtggtcagcg tctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1020  
 aaggcttcca acaaagccct ccagccccc atcgagaaa ccatctcaa agccaaaggg 1080  
 cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggatgagct gaccaagaac 1140  
 caggctcagc tgacctgcct ggtcaaaggo ttctatcca gcgacatgc cgtggagtgg 1200  
 gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccagc ctcccgctgt ggactccgac 1260  
 ggctccttct tctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggggaa 1320  
 gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacagca gaagagcctc 1380  
 tccctgtctc cgggtaaatg a 1401

5 <210> 121  
 <211> 466  
 <212> PRT  
 <213> Quimera sp.

10 <400> 121

# ES 2 694 165 T3

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

Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro  
20 25 30

Gly Thr Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr  
35 40 45

Ser Tyr Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu  
50 55 60

Trp Ile Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Ser Asp Ser Thr Asn Tyr Asn Glu  
65 70 75 80

Lys Phe Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr  
85 90 95

Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr  
100 105 110

Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Trp Leu Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln  
115 120 125

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val  
130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala  
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser  
165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val  
180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

# ES 2 694 165 T3

195                      200                      205  
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys  
 210                      215                      220  
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp  
 225                      230                      235                      240  
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly  
 245                      250                      255  
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
 260                      265                      270  
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu  
 275                      280                      285  
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 290                      295                      300  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg  
 305                      310                      315                      320  
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
 325                      330                      335  
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
 340                      345                      350  
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
 355                      360                      365  
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
 370                      375                      380  
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
 385                      390                      395                      400  
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val  
 405                      410                      415  
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp  
 420                      425                      430  
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
 435                      440                      445  
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
 450                      455                      460  
 Gly Lys  
 465

<210> 122  
 <211> 705  
 <212> ADN  
 <213> Quimera sp.  
 <400> 122

atgatgtcct ctgctcagtt ccttgggtctc ctgttgctct gttttcaagg taccagatgt 60  
gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 120  
atcagttgca gggcaagtca ggacattagc aattatttaa actggtatca gcagaaacca 180  
gatggaactg ttaactcct gatctactac acatcaagat tacactcagg agtcccatca 240  
aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa 300  
gaagatattg ccacttactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtggac gttcgggtga 360  
ggcaccaagc tggaaatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcac cttcccacca 420  
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgtgaa taacttctat 480  
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540  
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600  
ctgagcaaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccacaggggc 660  
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gctag 705

<210> 123  
<211> 234  
5 <212> PRT  
<213> Quimera sp.  
<400> 123

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

# ES 2 694 165 T3

180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
225 230

<210> 124  
<211> 1521  
<212> ADN  
<213> Macaca mulata

<220>  
Gen <221>  
<222> (1)..(1521)

<400> 124

atgctgaagc ctcttcggag agcggcagtg acccccatgt ggccgtgctc catgctgccc 60  
cgccgcctgt gggacagaga ggctggcacg ttgcaggctc tgggagtgtt ggctatgtctg 120  
tggctgggct ccatggctct tacctacctc ctgtggcaag tgcgtgttcc tcccacctgg 180  
ggccagggtc agcccaggga cgtgccagg tcttgggggc atggttccag cctagctctg 240  
gagcccctgg aagcggaggt caggaagcag agggactcct gccagcttgt ccttgtggaa 300  
agcatccccc aggacctgcc atttgacgc ggacagctct cggccagcc tctggccag 360  
gcttgctgc agctgttga cactgcccag gagagcgtcc acgtggcttc atactactgg 420  
tcctcacag ggcccgacat tggggtcaac gactcatctt cccagctggg agaggccctt 480  
ctgcagaagc tgcagcagct gctgggcagg aacatttctt tggctgtgga caccagcagt 540  
ccaacactgg ccaggaagtc caccgacctg caggctcctg ctgcccagg tggccaggta 600  
cgacgggtgc ccatggggcg gctcaccagg ggctttttgc actccaaatt ctgggttgtg 660  
gatggacggc acatatacat gggcagtgcc aacatggact ggccgtccct gacgcaggtg 720  
aaggagcttg gcgtgtcat ctataactgc agccacctgg cccaagacct ggagaagacc 780  
ttccagacct actgggtgct ggggggtgcc aaggctgtcc tccccaaac ctggcctcag 840  
aacttctcat ctacatcaa cgtttccag cccttccagg gcctctttga tggggtgcc 900  
accactgctt acttctcagc atcgccccc gcaactgttc cccaggggcg caccctgac 960  
ctggaggcgc tgttggcgt gatggggagc gccaggagt tcactatgc ctccgtgatg 1020  
gagtatttcc ctaccagcg cttcagccac cccgcagggt actggccggg gctggacaac 1080  
gcgtcgggg cggcagcctt cagcaagggt gtgcgcgtgc gcctgtggt cagctgcgga 1140  
ctcaacacgg accccacct gtccccctat ctgcgggtcc tgcaggcgt cagcaacccc 1200  
ggggccaacg tctotgtga cgtgaaagtc ttcactgtgc cgggtgggaa tcattccaac 1260  
atcccgttca gcagggtgaa ccacagcaag ttcattgtca cggagaagga agcctacata 1320  
ggcacctcca actggtcgga ggattacttc agcagcagca cgggggtggg cctggtggtc 1380  
acccagagcc ccggcgcgca gcccgcggg gccacggtac agggagcagt gggcgagctc 1440

tttgagcggg actggagttc gogctacgcc gtccgctgg accgacagga tccgggccag 1500  
gactgcgttt ggcagggtg a 1521

<210> 125  
<211> 2142  
<212> ADN  
<213> Homo sapiens

5

<400> 125

```

atggagtttc agaccaggt ctttgtattc gtgttgctct ggttgctctg tgttgatgga    60
gattacaagg atgacgacga taaaggatcc cccagagggc ccacaatcaa gccctgtcct    120
ccatgcaaat gccagcacc taacctcttg ggtggaccat ccgtcttcat cttccctcca    180
aagatcaagg atgtactcat gatctccotg agccccatag tcacatgtgt ggtgggtggat    240
gtgagcgagg atgaccaga tgtccagatc agctggtttg tgaacaacgt ggaagtacac    300
acagctcaga cacaaccqa tagagaggat tacaacagta ctctccgggt ggtcagtgcc    360
ctcccatcc agcaccagga ctggatgagt ggcaaggagt tcaaatgcaa ggtcaacaac    420
aaagacctcc cagcgcccat cgagagaacc atctcaaac ccaaagggtc agtaagagct    480
ccacaggtat atgtcttgcc tccaccagaa gaagagatga ctaagaaaca ggtcactctg    540
acctgcatgg tcacagactt catgcctgaa gacatttacg tggagtggac caacaacggg    600
aaaacagagc taaactacaa gaacactgaa ccagtctctg actctgatgg ttcttacttc    660
atgtacagca agctgagagt ggaaaagaag aactgggtgg aaagaaatag ctactcctgt    720
tcagtgtgcc acgagggtct gcacaatcac cacacgacta agagcttctc ccggactccg    780
ggtaaacgtc ctcccacctg gggccagggt cagcccaagg acgtgccag gtcctgggag    840
catggtccca gccagcttg ggagccctg gaagcagagg ccaggcagca gagggaactcc    900
tgccagcttg tcttctgga aagcatcccc caggacctgc catctgcago cggcagcccc    960
tctgccagc ctctgggcca ggcctggctg cagctgtctg aactgcccc ggagagcgtc    1020
cacgtggctt cactactctg gtccctcaca gggcctgaca tgggggtcaa cgaactgtct    1080
tcccagctgg gagaggctct tctgcagaag ctgcagcago tctggggcag gaacatttcc    1140
ctggctgttg ccaccagcag ccgacactg gccaggacat ccaccgacct gcaggttctg    1200
gctgccagag gtgccatgt acgacagggt cccatggggc ggctcaccag ggggtgtttg    1260
cactccaaat totgggttgt ggtggacgg cacatataca tgggcagtgc caacatggac    1320
tggcggctct tgacgcaggt gaaggagctt ggcgctgtca tctataactg cagccacctg    1380
gcccaagacc tggagaagac cttccagacc tactgggtac tgggggtgcc caaggctgtc    1440
ctccccaaaa cotggcctca gaacttctca tctcacttca accgtttcca gcccttcac    1500
ggcctctttg atgggtgccc caccactgcc tacttctcag cgtcgccacc agcactctgt    1560
ccccagggcc gcacccggga cctggaggcg ctgctggcgg tgatggggag cggccaggag    1620
ttcatctatg cctccgtgat ggagtatttc cccaccacgc gtttcagcca ccccccagg    1680
tactggccgg tgctggacaa cgcgctgcgg gcggcagcct tcggcaaggg cgtgcgctg    1740
cgcctgctgg tcgctgcgg actcaacacg gacccacca tgttcccta cctgcggctc    1800
ctgcaggcgc tcagcaacco cgcggccaac gtctctgtgg acgtgaaagt cttcatcgtg    1860
cgggtgggga accattccaa catccattc agcagggtga accacagcaa gttcatggtc    1920
acggagaagg cagcctacat aggcacctcc aactggtcgg aggattactt cagcagcacg    1980

gggggggtgg gcttgggtgt caccagagc cctggcgcgc agcccgcggg ggccacggtg    2040
caggagcago tgggcagct ctttgagcgg gactggagtt cgcgctacgc cgtcggcctg    2100
gacggacagg ctccgggcca ggactgcgtt tggcagggtc ga                    2142

```

10

# ES 2 694 165 T3

<210> 126  
<211> 713  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

5

<400> 126

```

Met Glu Phe Gln Thr Gln Val Phe Val Phe Val Leu Leu Trp Leu Ser
 1          5          10          15

Gly Val Asp Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ser Pro Arg
          20          25          30

Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn
          35          40          45

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp
 50          55          60

Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp
 65          70          75          80

Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn
          85          90          95

Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn
          100          105          110

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

Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro
          130          135          140

Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala
          145          150          155          160

Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys
          165          170          175

Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile
          180          185          190

Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn
          195          200          205

Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys
          210          215          220

Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys
          225          230          235          240

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

```



# ES 2 694 165 T3

Ser Arg Thr Pro Gly Lys Arg Pro Pro Thr Trp Gly Gln Val Gln Pro  
 260 265 270  
 Lys Asp Val Pro Arg Ser Trp Glu His Gly Ser Ser Pro Ala Trp Glu  
 275 280 285  
 Pro Leu Glu Ala Glu Ala Arg Gln Gln Arg Asp Ser Cys Gln Leu Val  
 290 295 300  
 Leu Val Glu Ser Ile Pro Gln Asp Leu Pro Ser Ala Ala Gly Ser Pro  
 305 310 315 320  
 Ser Ala Gln Pro Leu Gly Gln Ala Trp Leu Gln Leu Leu Asp Thr Ala  
 325 330 335  
 Gln Glu Ser Val His Val Ala Ser Tyr Tyr Trp Ser Leu Thr Gly Pro  
 340 345 350  
 Asp Ile Gly Val Asn Asp Ser Ser Ser Gln Leu Gly Glu Ala Leu Leu  
 355 360 365  
 Gln Lys Leu Gln Gln Leu Leu Gly Arg Asn Ile Ser Leu Ala Val Ala  
 370 375 380  
 Thr Ser Ser Pro Thr Leu Ala Arg Thr Ser Thr Asp Leu Gln Val Leu  
 385 390 395 400  
 Ala Ala Arg Gly Ala His Val Arg Gln Val Pro Met Gly Arg Leu Thr  
 405 410 415  
 Arg Gly Val Leu His Ser Lys Phe Trp Val Val Asp Gly Arg His Ile  
 420 425 430  
 Tyr Met Gly Ser Ala Asn Met Asp Trp Arg Ser Leu Thr Gln Val Lys  
 435 440 445  
 Glu Leu Gly Ala Val Ile Tyr Asn Cys Ser His Leu Ala Gln Asp Leu  
 450 455 460  
 Glu Lys Thr Phe Gln Thr Tyr Trp Val Leu Gly Val Pro Lys Ala Val  
 465 470 475 480  
 Leu Pro Lys Thr Trp Pro Gln Asn Phe Ser Ser His Phe Asn Arg Phe  
 485 490 495  
 Gln Pro Phe His Gly Leu Phe Asp Gly Val Pro Thr Thr Ala Tyr Phe  
 500 505 510  
 Ser Ala Ser Pro Pro Ala Leu Cys Pro Gln Gly Arg Thr Arg Asp Leu  
 515 520 525  
 Glu Ala Leu Leu Ala Val Met Gly Ser Ala Gln Glu Phe Ile Tyr Ala  
 530 535 540  
 Ser Val Met Glu Tyr Phe Pro Thr Thr Arg Phe Ser His Pro Pro Arg  
 545 550 555 560

# ES 2 694 165 T3

Tyr Trp Pro Val Leu Asp Asn Ala Leu Arg Ala Ala Ala Phe Gly Lys  
565 570 575

Gly Val Arg Val Arg Leu Leu Val Gly Cys Gly Leu Asn Thr Asp Pro  
580 585 590

Thr Met Phe Pro Tyr Leu Arg Ser Leu Gln Ala Leu Ser Asn Pro Ala  
595 600 605

Ala Asn Val Ser Val Asp Val Lys Val Phe Ile Val Pro Val Gly Asn  
610 615 620

His Ser Asn Ile Pro Phe Ser Arg Val Asn His Ser Lys Phe Met Val  
625 630 635 640

Thr Glu Lys Ala Ala Tyr Ile Gly Thr Ser Asn Trp Ser Glu Asp Tyr  
645 650 655

Phe Ser Ser Thr Ala Gly Val Gly Leu Val Val Thr Gln Ser Pro Gly  
660 665 670

Ala Gln Pro Ala Gly Ala Thr Val Gln Glu Gln Leu Arg Gln Leu Phe  
675 680 685

Glu Arg Asp Trp Ser Ser Arg Tyr Ala Val Gly Leu Asp Gly Gln Ala  
690 695 700

Pro Gly Gln Asp Cys Val Trp Gln Gly  
705 710

<210> 127  
<211> 490  
5 <212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 127

Met Lys Pro Lys Leu Met Tyr Gln Glu Leu Lys Val Pro Ala Glu Glu  
1 5 10 15

Pro Ala Asn Glu Leu Pro Met Asn Glu Ile Glu Ala Trp Lys Ala Ala  
20 25 30

Glu Lys Lys Ala Arg Trp Val Leu Leu Val Leu Ile Leu Ala Val Val  
35 40 45

Gly Phe Gly Ala Leu Met Thr Gln Leu Phe Leu Trp Glu Tyr Gly Asp  
50 55 60

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

Cys Glu Ala Val Leu Val Glu Ser Ile Pro Glu Gly Leu Asp Phe Pro  
85 90 95

Asn Ala Ser Thr Gly Asn Pro Ser Thr Ser Gln Ala Trp Leu Gly Leu  
100 105 110

Leu Ala Gly Ala His Ser Ser Leu Asp Ile Ala Ser Phe Tyr Trp Thr  
115 120 125

# ES 2 694 165 T3

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

# ES 2 694 165 T3

Trp Ser Gly Asn Tyr Phe Thr Glu Thr Ala Gly Thr Ser Leu Leu Val  
 435 440 445  
 Thr Gln Asn Gly Arg Gly Gly Leu Arg Ser Gln Leu Glu Ala Ile Phe  
 450 455 460  
 Leu Arg Asp Trp Asp Ser Pro Tyr Ser His Asp Leu Asp Thr Ser Ala  
 465 470 475 480  
 Asp Ser Val Gly Asn Ala Cys Arg Leu Leu  
 485 490

<210> 128  
 <211> 445  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 128

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

# ES 2 694 165 T3

210                      215                      220  
 Leu Phe Cys Pro Lys Asn Arg Ser Phe Asp Ile Asp Ala Ile Tyr Ser  
 225                      230                      235                      240  
 Val Ile Asp Asp Ala Lys Gln Tyr Val Tyr Ile Ala Val Met Asp Tyr  
                          245                      250                      255  
 Leu Pro Ile Ser Ser Thr Ser Thr Lys Arg Thr Tyr Trp Pro Asp Leu  
                          260                      265                      270  
 Asp Ala Lys Ile Arg Glu Ala Leu Val Leu Arg Ser Val Arg Val Arg  
                          275                      280                      285  
 Leu Leu Leu Ser Phe Trp Lys Glu Thr Asp Pro Leu Thr Phe Asn Phe  
                          290                      295                      300  
 Ile Ser Ser Leu Lys Ala Ile Cys Thr Glu Ile Ala Asn Cys Ser Leu  
 305                      310                      315                      320  
 Lys Val Lys Phe Phe Asp Leu Glu Arg Glu Asn Ala Cys Ala Thr Lys  
                          325                      330                      335  
 Glu Gln Lys Asn His Thr Phe Pro Arg Leu Asn Arg Asn Lys Tyr Met  
                          340                      345                      350  
 Val Thr Asp Gly Ala Ala Tyr Ile Gly Asn Phe Asp Trp Val Gly Asn  
                          355                      360                      365  
 Asp Phe Thr Gln Asn Ala Gly Thr Gly Leu Val Ile Asn Gln Ala Asp  
                          370                      375                      380  
 Val Arg Asn Asn Arg Ser Ile Ile Lys Gln Leu Lys Asp Val Phe Glu  
 385                      390                      395                      400  
 Arg Asp Trp Tyr Ser Pro Tyr Ala Lys Thr Leu Gln Pro Thr Lys Gln  
                          405                      410                      415  
 Pro Asn Cys Ser Ser Leu Phe Lys Leu Lys Pro Leu Ser Asn Lys Thr  
                          420                      425                      430  
 Ala Thr Asp Asp Thr Gly Gly Lys Asp Pro Arg Asn Val  
                          435                      440                      445

<210> 129

<211> 506

5 <212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<400> 129

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

# ES 2 694 165 T3

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

# ES 2 694 165 T3

Arg Tyr Trp Pro Val Leu Asp Asn Ala Leu Arg Ala Ala Ala Phe Ser  
355 360 365

Lys Gly Val Arg Val Arg Leu Leu Val Ser Cys Gly Leu Asn Thr Asp  
370 375 380

Pro Thr Met Phe Pro Tyr Leu Arg Ser Leu Gln Ala Leu Ser Asn Pro  
385 390 395 400

Ala Ala Asn Val Ser Val Asp Val Lys Val Phe Ile Val Pro Val Gly  
405 410 415

Asn His Ser Asn Ile Pro Phe Ser Arg Val Asn His Ser Lys Phe Met  
420 425 430

Val Thr Glu Lys Ala Ala Tyr Ile Gly Thr Ser Asn Trp Ser Glu Asp  
435 440 445

Tyr Phe Ser Ser Thr Thr Gly Val Gly Leu Val Val Thr Gln Ser Pro  
450 455 460

Gly Ala Gln Pro Ala Gly Ala Thr Val Gln Glu Gln Leu Arg Gln Leu  
465 470 475 480

Phe Glu Arg Asp Trp Ser Ser Arg Tyr Ala Val Gly Leu Asp Gly Gln  
485 490 495

Ala Pro Gly Gln Asp Cys Val Trp Gln Gly  
500 505

<210> 130  
<211> 506  
5 <212> PRT  
<213> Macaca mulata  
  
<400> 130

Met Leu Lys Pro Leu Arg Arg Ala Ala Val Thr Pro Met Trp Pro Cys  
1 5 10 15

Ser Met Leu Pro Arg Arg Leu Trp Asp Arg Glu Ala Gly Thr Leu Gln  
20 25 30

Val Leu Gly Val Leu Ala Met Leu Trp Leu Gly Ser Met Ala Leu Thr  
35 40 45

Tyr Leu Leu Trp Gln Val Arg Cys Pro Pro Thr Trp Gly Gln Val Gln  
50 55 60

Pro Arg Asp Val Pro Arg Ser Trp Gly His Gly Ser Ser Leu Ala Leu  
65 70 75 80

Glu Pro Leu Glu Ala Glu Val Arg Lys Gln Arg Asp Ser Cys Gln Leu  
85 90 95

Val Leu Val Glu Ser Ile Pro Gln Asp Leu Pro Phe Ala Ala Gly Ser  
100 105 110

Leu Ser Ala Gln Pro Leu Gly Gln Ala Trp Leu Gln Leu Leu Asp Thr  
115 120 125

# ES 2 694 165 T3

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



# ES 2 694 165 T3

Val Thr Glu Lys Ala Ala Tyr Ile Gly Thr Ser Asn Trp Ser Glu Asp  
 435 440 445

Tyr Phe Ser Ser Thr Thr Gly Val Gly Leu Val Val Thr Gln Ser Pro  
 450 455 460

Gly Ala Gln Pro Ala Gly Ala Thr Val Gln Glu Gln Leu Arg Gln Leu  
 465 470 475 480

Phe Glu Arg Asp Trp Ser Ser Arg Tyr Ala Val Gly Leu Asp Gly Gln  
 485 490 495

Ala Pro Gly Gln Asp Cys Val Trp Gln Gly  
 500 505

<210> 131  
 <211> 1512  
 <212> ADN  
 <213> Mus musculus  
 <400> 131

atggacaaga agaaagagca cccagagatg cggataccac tccagacagc agtggaggtc 60  
 totgattggc cctgotccac atctcatgat ccacatagcg gacttggcat ggtactgggg 120  
 atgctagctg tactgggact cagctctgtg actctcatct tgttctgtg gcaaggggccc 180  
 acttctttca ccagtcacg gatgttccct gaggaagtgc cctcctggtc ctgggagacc 240  
 ctgaaaggag acgctgagca gcagaataac tctgtcagc tcactcttgt ggaaagcacc 300  
 cccgaggact tgccatttgc agctggcagc cccactgccc agccctggc ccaggcttgg 360  
 ctgcagcttc ttgacactgc tcgggagagc gtccacattg cctcgtacta ctggtccctc 420  
 actggactgg acattggagt caatgactcg tcttctcgcc agggagaggc ccttctacag 480  
 aagttccaac agcttcttct caggaaacac tctgtgttgg tggccacca cagcccaaca 540  
 ttggccaaga catccactga cctccaggtc ttggtgccc atggtgcca gatacgacaa 600  
 gtgccatga aacagcttac tgggggtgtt ctacaotcca aattctgggt tgtggatggg 660  
 cgacacgtct acgtgggcag cgcacaatg gactggcggc cctgactca ggtgaaggaa 720  
 cttggtgcaa tcactataca ctgcagcaac ctggtcgaag accttgagaa aacattccag 780  
 acctactggg tgctagggac tcccgaagct gttctcccta aaacctggcc tcggaacttc 840  
 tcactccaca tcaaccgtt ccatcccttg cggggtccct ttgatgggt tcccaccag 900  
 gccattttct cggcctcccc tccctccctc tggcgcagc gccggaccgg ggaactggac 960  
 gcagtgttgg gactgatgga ggggtctcgc cagttcatct atgtctcgtt gatggagtat 1020  
 ttccctacca cgcgottcac ccacatgccc aggtactgga cgtgtgtgga caatgcgcta 1080  
 cgggcagcgg cctcaataa ggggtgtcat gtgcgcttac tggtcagctg ctggttcaac 1140  
 acagacccca ccatgttcgc ttatctgagg tccctgcagg ctttcagtaa cccctcggct 1200  
 ggcatctcag tggatgtgaa agttctcacc gtgcctgttg gaaatcattc caacatcccg 1260  
 ttcagccgcg tgaaccacag caagttcatg gtcacagaca agacagccta ttaggcacc 1320  
 tctaactggt cagaagacta cttcagccac accgtgtgtg tgggcctgat tgtcagccag 1380  
 aagaccccca gagccagcc agggcgaacc accgtgcagg agcagctgag gcaactcttt 1440  
 gaacagagact ggagttccca ctatgctatg gaactagaca gacaagtccc gagccaggac 1500

tgtgtctggt ag

1512

# ES 2 694 165 T3

<210> 132  
 <211> 503  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

5

<400> 132

```

Met Asp Lys Lys Lys Glu His Pro Glu Met Arg Ile Pro Leu Gln Thr
 1          5          10          15

Ala Val Glu Val Ser Asp Trp Pro Cys Ser Thr Ser His Asp Pro His
      20          25          30

Ser Gly Leu Gly Met Val Leu Gly Met Leu Ala Val Leu Gly Leu Ser
      35          40          45

Ser Val Thr Leu Ile Leu Phe Leu Trp Gln Gly Ala Thr Ser Phe Thr
      50          55          60

Ser His Arg Met Phe Pro Glu Glu Val Pro Ser Trp Ser Trp Glu Thr
      65          70          75          80

Leu Lys Gly Asp Ala Glu Gln Gln Asn Asn Ser Cys Gln Leu Ile Leu
      85          90          95

Val Glu Ser Ile Pro Glu Asp Leu Pro Phe Ala Ala Gly Ser Pro Thr
      100          105          110

Ala Gln Pro Leu Ala Gln Ala Trp Leu Gln Leu Leu Asp Thr Ala Arg
      115          120          125

Glu Ser Val His Ile Ala Ser Tyr Tyr Trp Ser Leu Thr Gly Leu Asp
      130          135          140

Ile Gly Val Asn Asp Ser Ser Ser Arg Gln Gly Glu Ala Leu Leu Gln
      145          150          155          160

Lys Phe Gln Gln Leu Leu Leu Arg Asn Ile Ser Val Val Val Ala Thr
      165          170          175

His Ser Pro Thr Leu Ala Lys Thr Ser Thr Asp Leu Gln Val Leu Ala
      180          185          190

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

Gly Val Leu His Ser Lys Phe Trp Val Val Asp Gly Arg His Val Tyr
      210          215          220

Val Gly Ser Ala Asn Met Asp Trp Arg Ser Leu Thr Gln Val Lys Glu
      225          230          235          240

Leu Gly Ala Ile Ile Tyr Asn Cys Ser Asn Leu Ala Gln Asp Leu Glu
      245          250          255

Lys Thr Phe Gln Thr Tyr Trp Val Leu Gly Thr Pro Gln Ala Val Leu
      260          265          270
    
```

# ES 2 694 165 T3

Pro Lys Thr Trp Pro Arg Asn Phe Ser Ser His Ile Asn Arg Phe His  
275 280 285

Pro Leu Arg Gly Pro Phe Asp Gly Val Pro Thr Thr Ala Tyr Phe Ser  
290 295 300

Ala Ser Pro Pro Ser Leu Cys Pro His Gly Arg Thr Arg Asp Leu Asp  
305 310 315 320

Ala Val Leu Gly Val Met Glu Gly Ala Arg Gln Phe Ile Tyr Val Ser  
325 330 335

Val Met Glu Tyr Phe Pro Thr Thr Arg Phe Thr His His Ala Arg Tyr  
340 345 350

Trp Pro Val Leu Asp Asn Ala Leu Arg Ala Ala Ala Leu Asn Lys Gly  
355 360 365

Val His Val Arg Leu Leu Val Ser Cys Trp Phe Asn Thr Asp Pro Thr  
370 375 380

Met Phe Ala Tyr Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Ser Asn Pro Ser Ala  
385 390 395 400

Gly Ile Ser Val Asp Val Lys Val Phe Ile Val Pro Val Gly Asn His  
405 410 415

Ser Asn Ile Pro Phe Ser Arg Val Asn His Ser Lys Phe Met Val Thr  
420 425 430

Asp Lys Thr Ala Tyr Val Gly Thr Ser Asn Trp Ser Glu Asp Tyr Phe  
435 440 445

Ser His Thr Ala Gly Val Gly Leu Ile Val Ser Gln Lys Thr Pro Arg  
450 455 460

Ala Gln Pro Gly Ala Thr Thr Val Gln Glu Gln Leu Arg Gln Leu Phe  
465 470 475 480

Glu Arg Asp Trp Ser Ser His Tyr Ala Met Asp Leu Asp Arg Gln Val  
485 490 495

Pro Ser Gln Asp Cys Val Trp  
500

## REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína fosfolipasa D4 humana (PLD4) en una célula dendrítica plasmocitoide.

2. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 1,

(a) que tiene la secuencia SYWMH como CDR1, la secuencia DIYPGSDSTNYNEKFKS como CDR2 y la secuencia GGWLDAMDY como CDR3 en la región variable de cadena pesada;

(b) que tiene la secuencia RASQDISNYLN como CDR1, la secuencia YTSRLHS como CDR2 y la secuencia QQGNTLPW como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(c) que tiene la secuencia SYWMH como CDR1, la secuencia DIYPGSDSTNYNEKFKS como CDR2 y la secuencia GGWLDAMDY como CDR3 en la región variable de cadena pesada, y tiene la secuencia

RASQDISNYLN como CDR1, la secuencia YTSRLHS como CDR2, y la secuencia QQGNLLPWC en la región variable de cadena ligera;

(d) que tiene la secuencia TYWMH como CDR1, la secuencia AIYPGNSETSYNQKFKG como CDR2 y la secuencia GYSDFDY como CDR3 en la región variable de cadena pesada;

(e) que tiene la secuencia HASQGIRSNIG como CDR1, la secuencia HGTNLED como CDR2 y la secuencia VQYVQFP como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(f) que tiene la secuencia TYWMH como CDR1, la secuencia AIYPGNSETSYNQKFKG como CDR2, y la secuencia GYSDFDY como CDR3 en la región variable de cadena pesada, y tiene la secuencia

HASQGIRSNIG como CDR1, la secuencia HGTNLED como CDR2, y la secuencia VQVVVQQQ en la región variable de cadena ligera;

(g) que tiene la secuencia DYNLH como CDR1, la secuencia YIYPYNGNTGYNQKFKR como CDR2 y la secuencia GGIYDDYYDYAIDY como CDR3 en la región variable de cadena pesada;

(h) que tiene la secuencia RASENIYSHIA como CDR1, la secuencia GATNLAH como CDR2 y la secuencia QHFWGTP como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(i) que tiene la secuencia DYNLH como CDR1, la secuencia YIYPYNGNTGYNQKFKR como CDR2, y la secuencia GGIYDDYYDYAIDY como CDR3 en la región variable de cadena pesada, y tiene la secuencia

RASENIYSHIA como CDR1, la secuencia GATNLAH como CDR2, y la secuencia QHFWGTP como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(j) que tiene la secuencia SYLY como CDR1, la secuencia LINPTNSDTIFNEKFKS como CDR2, y la secuencia EGGYGYGPFAY como CDR3 en la región variable de cadena pesada;

(k) que tiene la secuencia TSSQTLVHSNGNTYLH como CDR1, la secuencia KVSNRFS como CDR2, y la secuencia HSTHVP como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(l) que tiene la secuencia SYLY como CDR1, la secuencia LINPTNSDTIFNEKFKS como CDR2, y la secuencia EGGYGYGPFAY como CDR3 en la región variable de cadena pesada, y tiene la secuencia

TSSQTLVHSNGNTYLH como CDR1, la secuencia KVSRRFS como CDR2, y la secuencia HSTHVP como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(m) que tiene la secuencia SYGMS como CDR1, la secuencia TISSGGSYIYPESVKG como CDR2 y la secuencia LYGGRRGYGLDY como CDR3 en la región variable de cadena pesada;

(n) que tiene la secuencia RSSKSLHSDGITYLY como CDR1, la secuencia QMSNLAS como CDR2, y la secuencia AQNLEL como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(o) que tiene la secuencia SYGMS como CDR1, la secuencia TISSGGSYIYPESVKG como CDR2, y la secuencia LYGGRRGYGLDY como CDR3 en la región variable de cadena pesada, y tiene la secuencia

RSSKSLHSDGITYLY como CDR1, la secuencia QMSNLAS como CDR2, y la secuencia AQNLEL como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(p) que tiene la secuencia SHYYWT como CDR1, la secuencia YISYDGSNNYNPSLKN como CDR2, y la secuencia EGPLYYGPNPYWYFDV como CDR3 en la región variable de cadena de la cadena pesada;

(q) que tiene la secuencia RASQDIDNYLN como CDR1, la secuencia YTSRLHS como CDR2 y la secuencia QQFNTLP como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(r) que tiene la secuencia SHYYWT como CDR1, la secuencia YISYDGSNNYNPSLKN como CDR2, y la secuencia EGPLYYGPNPYWYFDV como CDR3 en la región variable de cadena pesada, y tiene la secuencia

RASQDIDNYLN como CDR1, la secuencia YTSRLHS, como CDR2, y la secuencia QQFNTLP como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(s) que tiene la secuencia SHYYWS como CDR1, la secuencia YISYDGSNNYNPSLKN como CDR2, y la secuencia EGPLYYGPNPYWYFDV como CDR3 en la región variable de cadena pesada;

(t) que tiene la secuencia RASQDIDNYLN como CDR1, la secuencia YTSRLHS como CDR2 y la secuencia QQFNTLP como CDR3 en la región variable de cadena ligera;

(u) que tiene la secuencia SHYYWS como CDR1, la secuencia YISYDGSNNYNPSLKN como CDR2, y la secuencia EGPLYYGPNPYWYFDV como CDR3 en la región variable de cadena pesada, y tiene la secuencia

RASQDIDNYLN como CDR1, la secuencia YTSRLHS como CDR2, y la secuencia QQFNTLP como CDR3 en la región variable de cadena ligera.

3. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contienen la región de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 2, que tiene una cadena pesada expuesta en SEQ ID: 121 y una cadena ligera expuesta en SEQ ID: 123.
- 5 4. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo suprimen una actividad de la célula dendrítica plasmocitoide.
- 10 5. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la actividad es la producción de interferón (IFN) y/o la supervivencia de la célula dendrítica plasmocitoide.
- 15 6. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el anticuerpo es un anticuerpo quimérico o un anticuerpo humanizado.
- 20 7. Un anticuerpo monoclonal, o un fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo, que está siendo producido por uno cualquiera de los hibridomas mp5B7, mp7B4, mp13D4 y mpl3HI 1 que se depositan bajo los Números de Acceso: NITE BP-1211, NITE BP-1212, NITE BP-1213, y NITE BP-1214.
8. Un método para preparar una célula que produce un anticuerpo monoclonal que se une a PLD4 de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 4 y 5, que comprende los siguientes procedimientos:
- 25 1) un procedimiento de administración de la proteína de fusión PLD4-Ig recombinante que codifica una secuencia de aminoácidos que contiene un dominio extracelular de PLD4 para inmunizar a un animal no humano; y
- 30 2) un procedimiento de selección de una célula productora de anticuerpos que produce un anticuerpo que se une a PLD4 a partir de células productoras de anticuerpos del animal no humano inmunizado mediante la unión de dicho anticuerpo de unión a PLD4 a una célula que expresa PLD4; y opcionalmente
- 3) un procedimiento de clonación de las células productoras de anticuerpos obtenidas de forma gradual.
9. El método de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la célula que expresa PLD4 es una célula que retiene un polinucleótido extrínseco que codifica una secuencia de aminoácidos que contiene el dominio extracelular de PLD4 de una manera expresable.
- 35 10. Un método para preparar un anticuerpo monoclonal que se une a un dominio extracelular de PLD4, que comprende cultivar células animales productoras de anticuerpos obtenidas mediante el método de acuerdo con la reivindicación 9 y recoger un anticuerpo monoclonal del cultivo.
- 40 11. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 4 y 5, que se puede obtener mediante los siguientes procedimientos;
- 45 1) administrando una proteína de fusión PLD4-Ig recombinante que codifica una secuencia de aminoácidos que contiene un dominio extracelular de PLD4 para inmunizar a un animal no humano,
- 2) seleccionando una célula productora de anticuerpos que produce un anticuerpo que se une a PLD4 de células productoras de anticuerpos del animal no humano inmunizado, y
- 50 3) cultivando las células productoras de anticuerpos seleccionadas en el procedimiento 2), y recolectando un anticuerpo que reconoce PLD4 del cultivo.
12. Un método *ex vivo* para detectar una célula dendrítica plasmocitoide humana, que comprende poner en contacto con una célula de prueba el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, y detectar el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo que se une a la célula.
- 55 13. El uso del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 como reactivo para la detección de una célula dendrítica plasmocitoide *ex vivo*.
- 60 14. Un método para suprimir una actividad de una célula dendrítica plasmocitoide humana *ex vivo*, que comprende poner en contacto con la célula cualquiera de los componentes descritos a continuación:
- (a) el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, y

(b) una inmunoglobulina o un fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno en la que se transplantan las regiones determinantes de complementariedad del anticuerpo monoclonal de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

5 15. Cualquiera de:

(a) el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, y

10 (b) una inmunoglobulina o un fragmento de anticuerpo que contiene una región de unión a antígeno en la que se transplantan las regiones determinantes de complementariedad del anticuerpo monoclonal de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7,

para su uso en un método para suprimir una actividad de una célula dendrítica plasmocitoide humana en un ser humano vivo, que comprende administrar cualquiera de (a) y (b) al ser humano vivo.

15

FIG. 1

| Dominio transmembrana             |               |             |             |             |              |
|-----------------------------------|---------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| 10                                | 20            | 30          | 40          | 50          | 60           |
| MLKPLWKA                          | AV APTWPCSMPP | RRPWDREAGT  | LQVLGALAVL  | WLGSAVALICL | LWQVPRPPTW   |
| 70                                | 80            | 90          | 100         | 110         | 120          |
| GQVQPKDVPR                        | SWEHGSSPAW    | EPLAEAFARQQ | RDSCQLVVE   | SIPQDLPSAA  | GPSAQPLGQ    |
| 130                               | 140           | 150         | 160         | 170         | 180          |
| AWLQLLDTAQ                        | ESVHVASYW     | SLTGPDIGVN  | DSSSQLGEAL  | LQKLQQLLGR  | NISLAVATSS   |
| 190                               | 200           | 210         | 220         | 230         | 240          |
| PTLARTSTD                         | L QVLAARGAHV  | RQVPMGRLTR  | GVLHSEKFWVV | DGRHIYMGSA  | NMDWRSLSLTQV |
| 250                               | 260           | 270         | 280         | 290         | 300          |
| KELGAVIYNC                        | SHLAQDLEKT    | FQTYWVLGVP  | KAVLPKTPQ   | NFSSHFNRFQ  | PFHGLFDGVP   |
| 310                               | 320           | 330         | 340         | 350         | 360          |
| TTAYFSASPP                        | ALCPQGRTRD    | LEALLAVMGS  | AQEFYIASVM  | EYFPTTRFSH  | PPRYWPVLDN   |
| 370                               | 380           | 390         | 400         | 410         | 420          |
| ALRAAAFGKG                        | VRVRLLVGCG    | LNTDPTMFPY  | LRSLLQALSNP | AANVSVDVKV  | FIVPVGNHNS   |
| 430                               | 440           | 450         | 460         | 470         | 480          |
| IPFSRVNHSK                        | FMVTEKAAYI    | GTSNWSSEDF  | SSTAGVGLVV  | TQSPGAQPA   | G ATVQEQLRQL |
| 490                               | 500           |             |             |             |              |
| FERDWSSRYA                        | VGLDGQAPGQ    | DCVWQ       |             |             |              |
| Dominio 2PLD externo (motivo HKD) |               |             |             |             |              |

FIG. 2

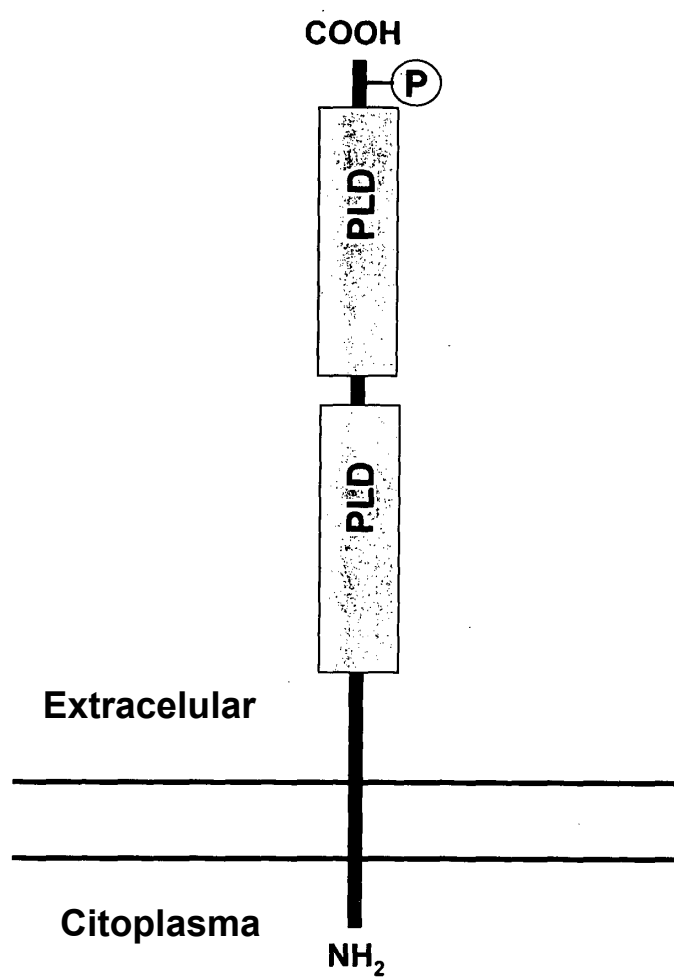




FIG. 3

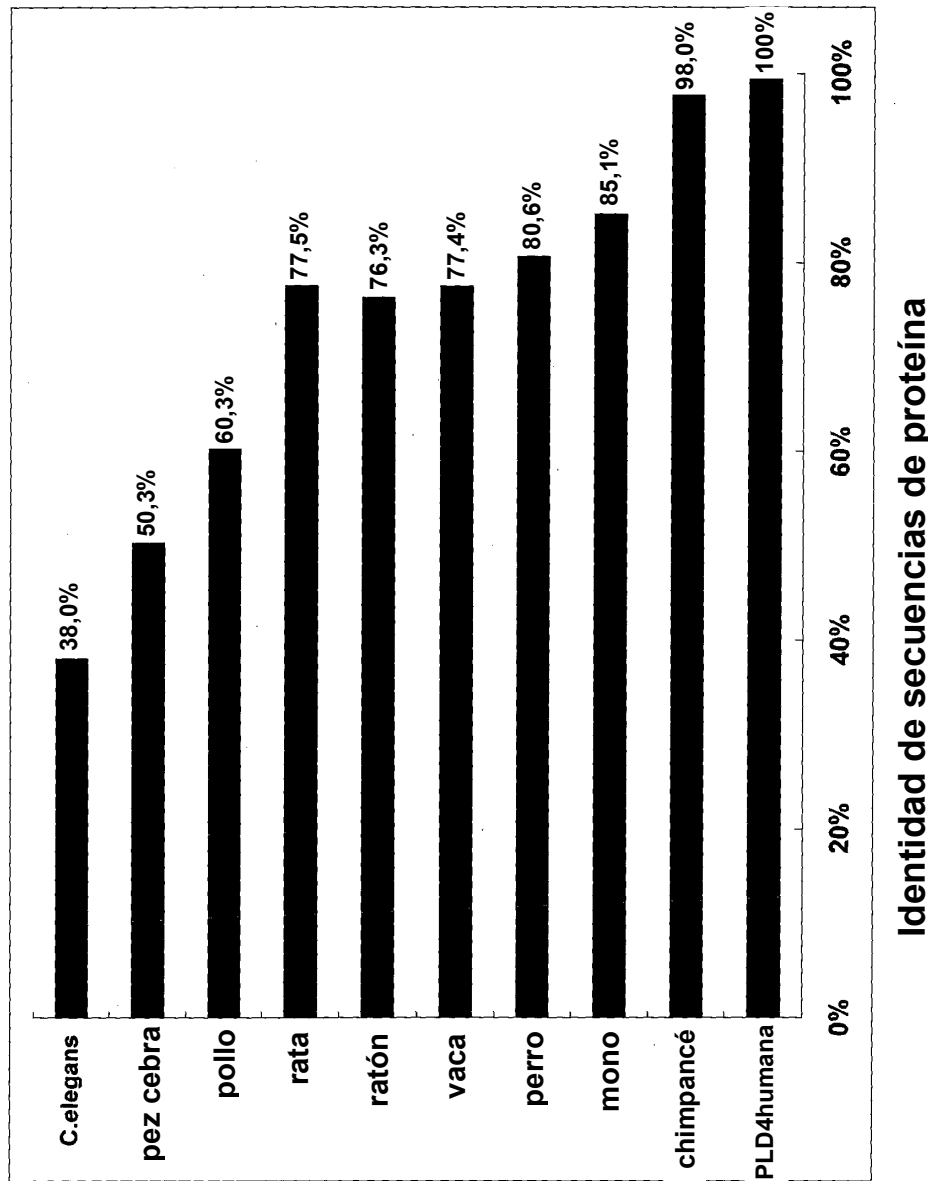


FIG. 4

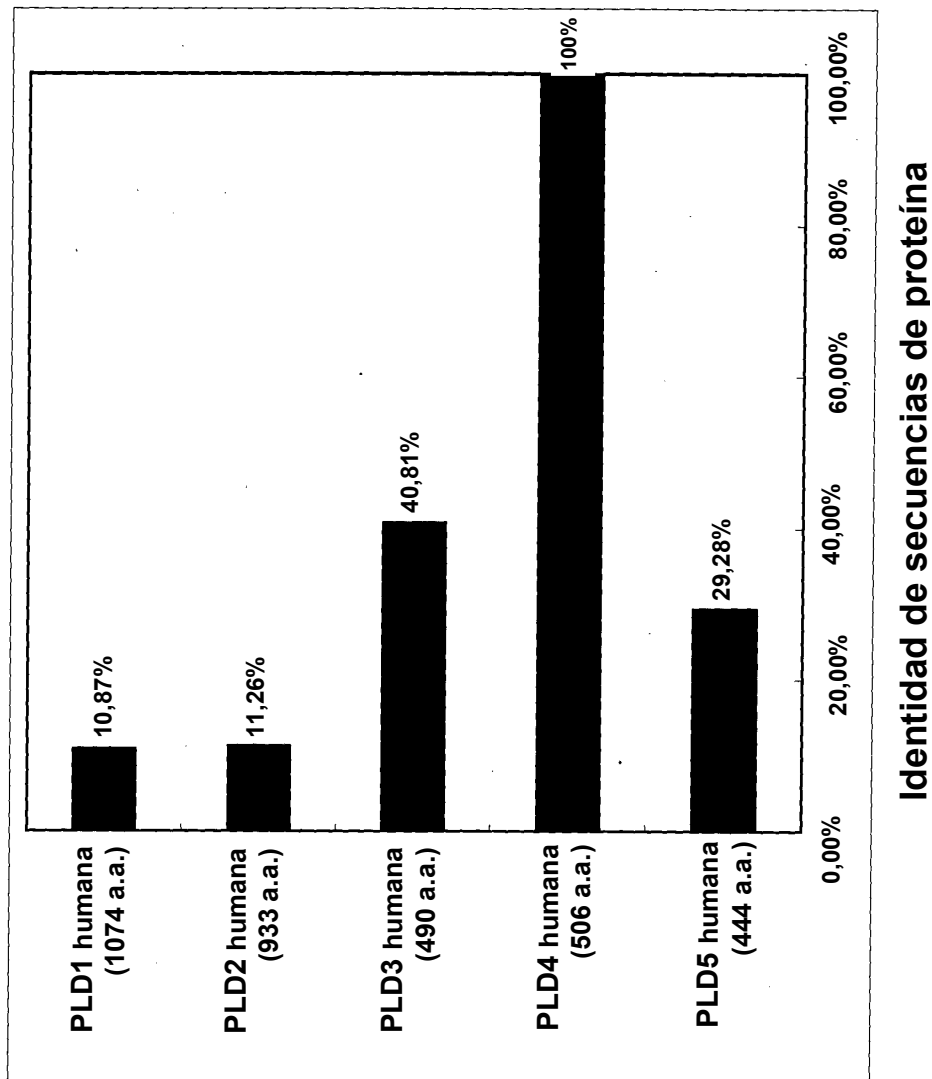


FIG. 5

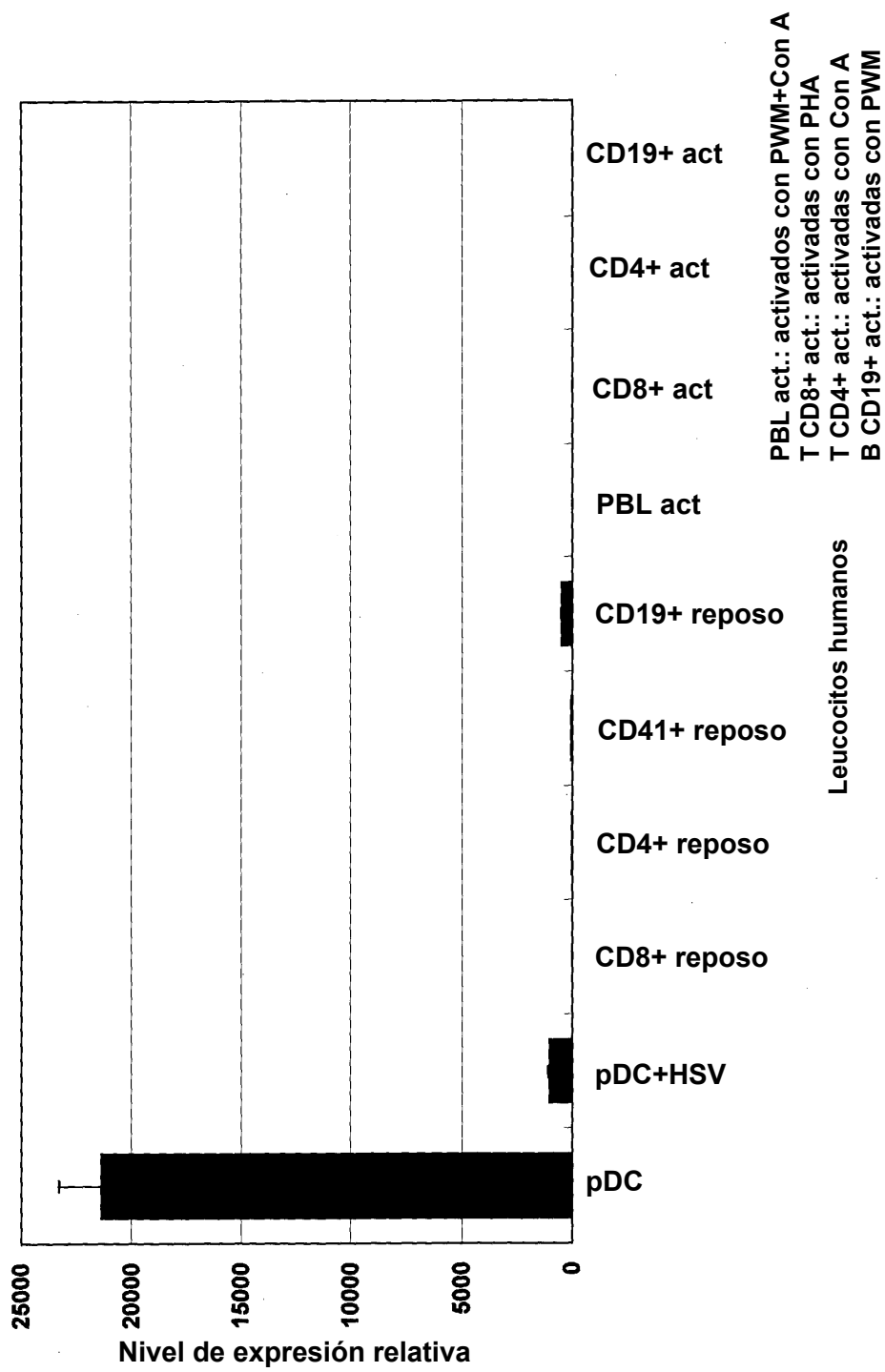


FIG. 6

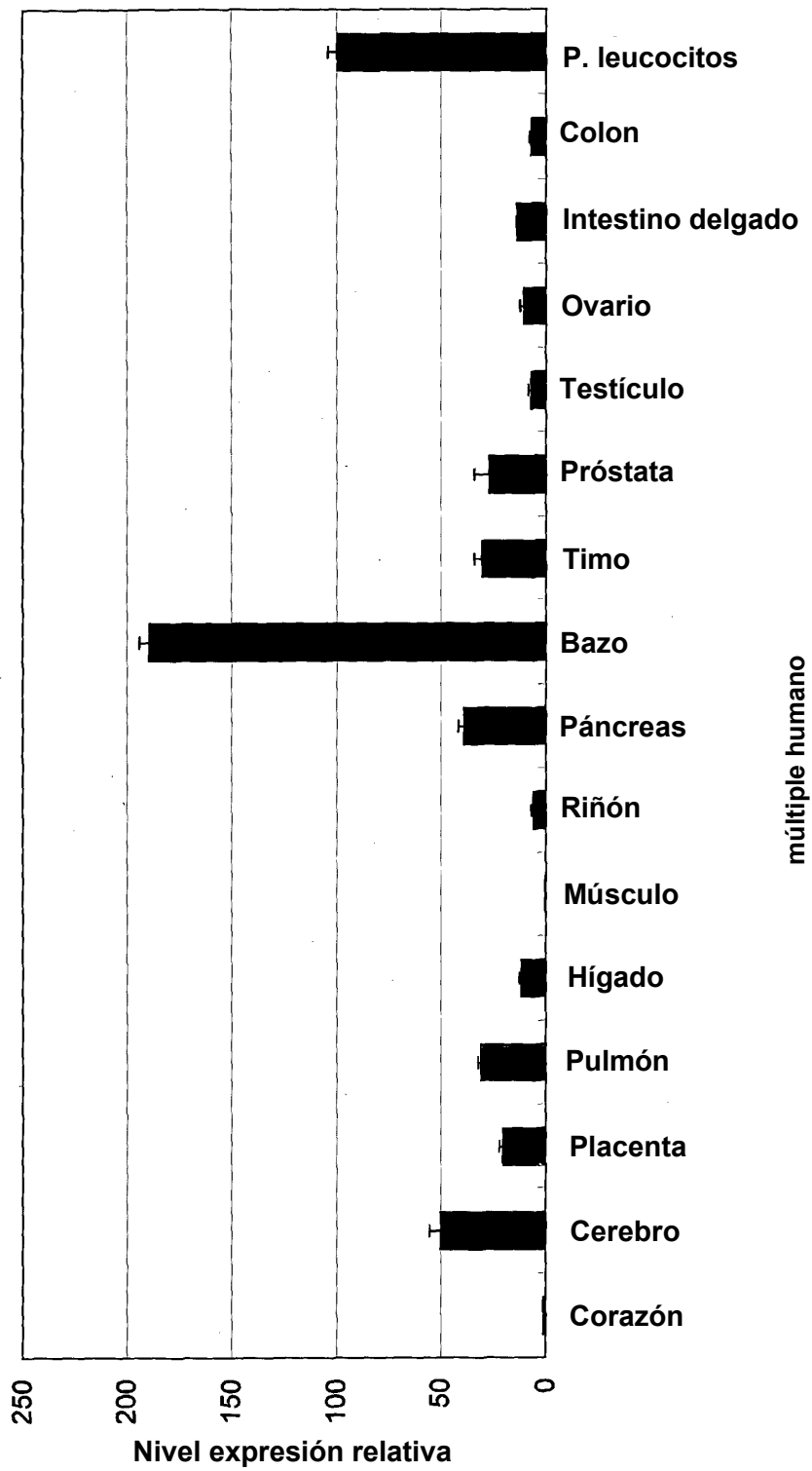


FIG. 7



- 713 a.a.
- Mw Teórico: 82 kDa

FIG. 8

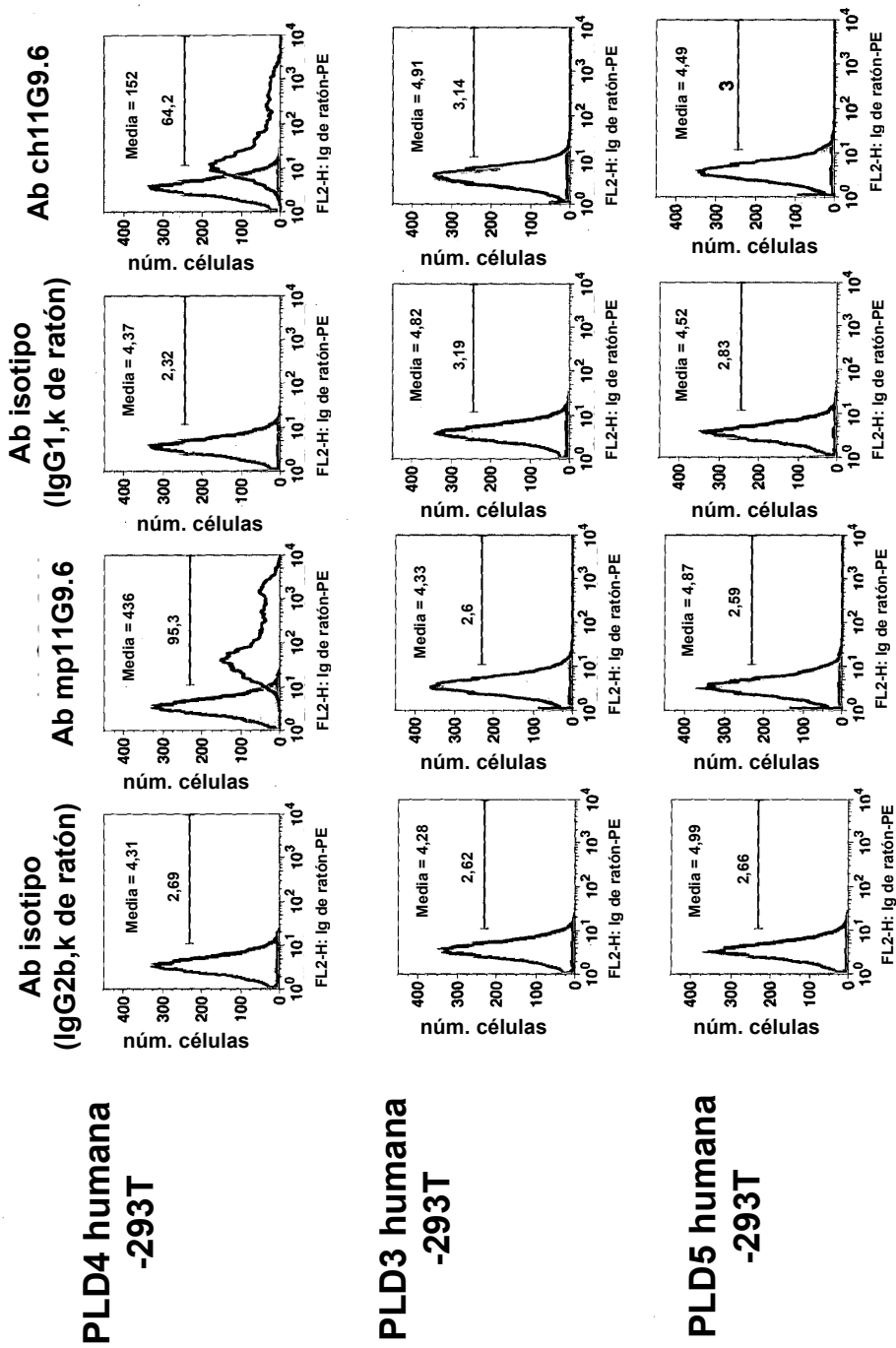


FIG. 9

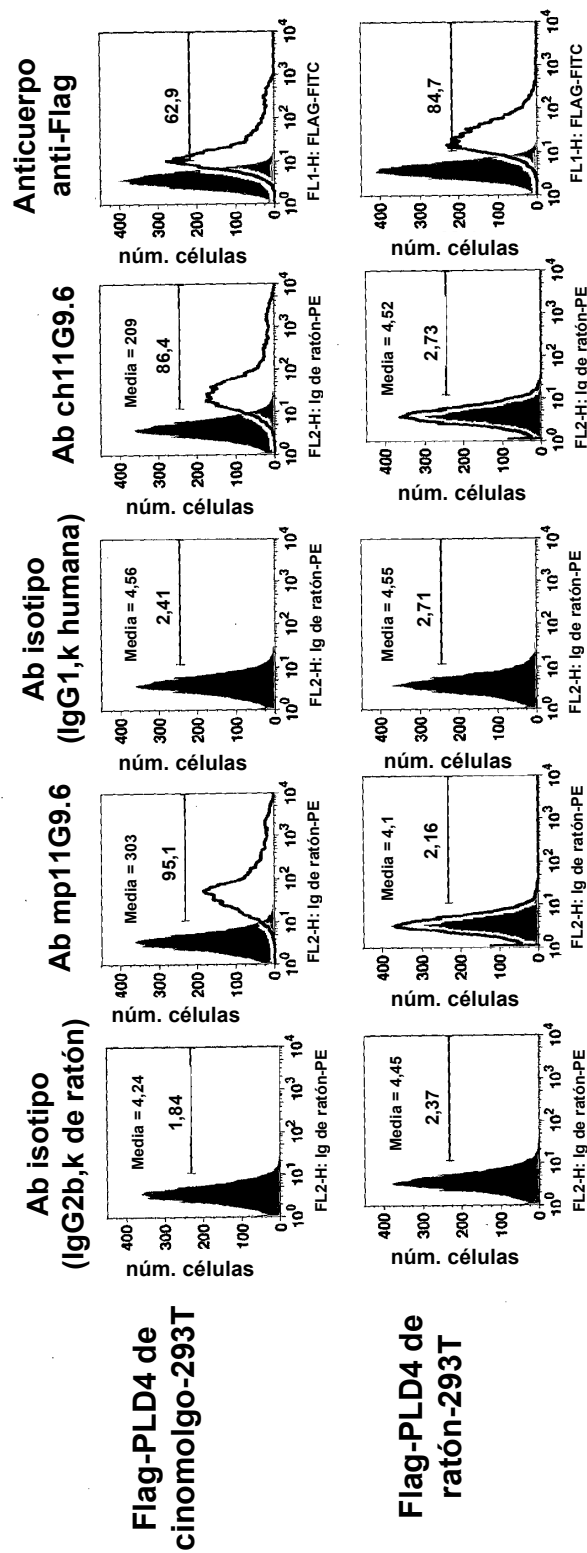
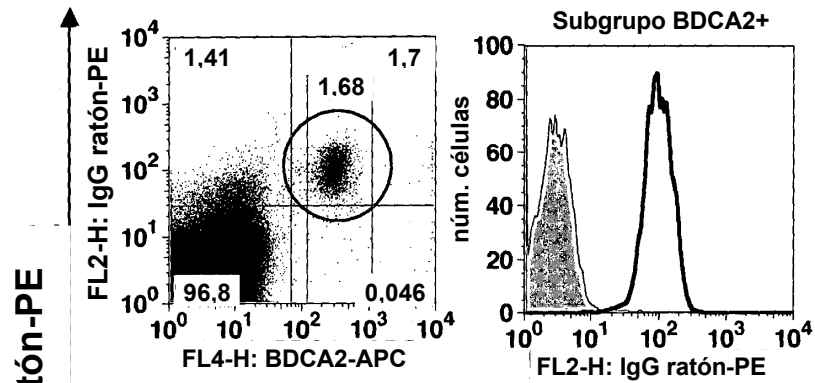
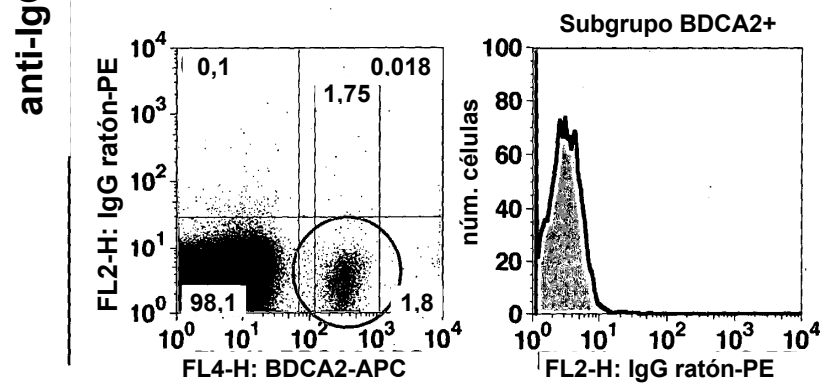


FIG. 10

Ab mp11G9.6



Ab isotipo (IgG2b, k de ratón)

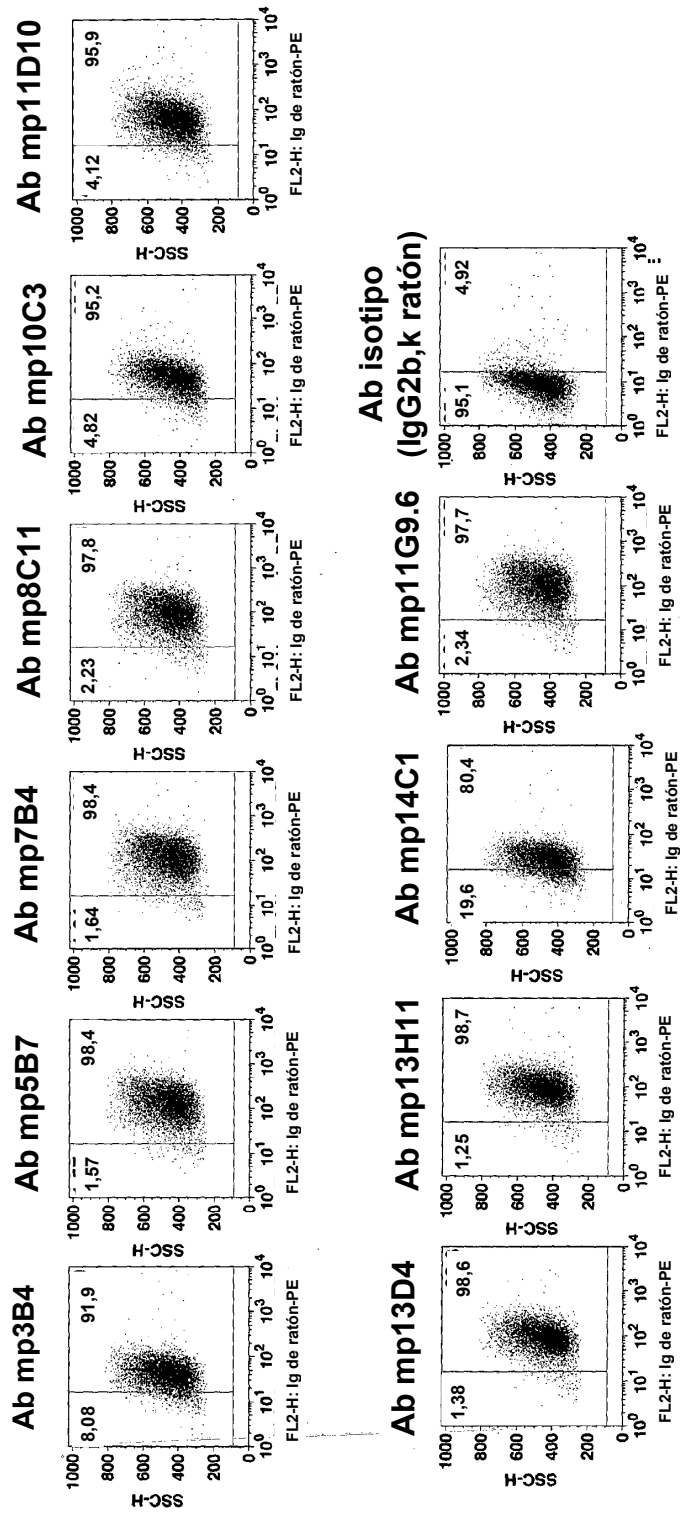


BDCA2

conc. Ab: 10 ug/ml)



FIG. 11



(conc. Ab: 5 ug/ml)

FIG. 12

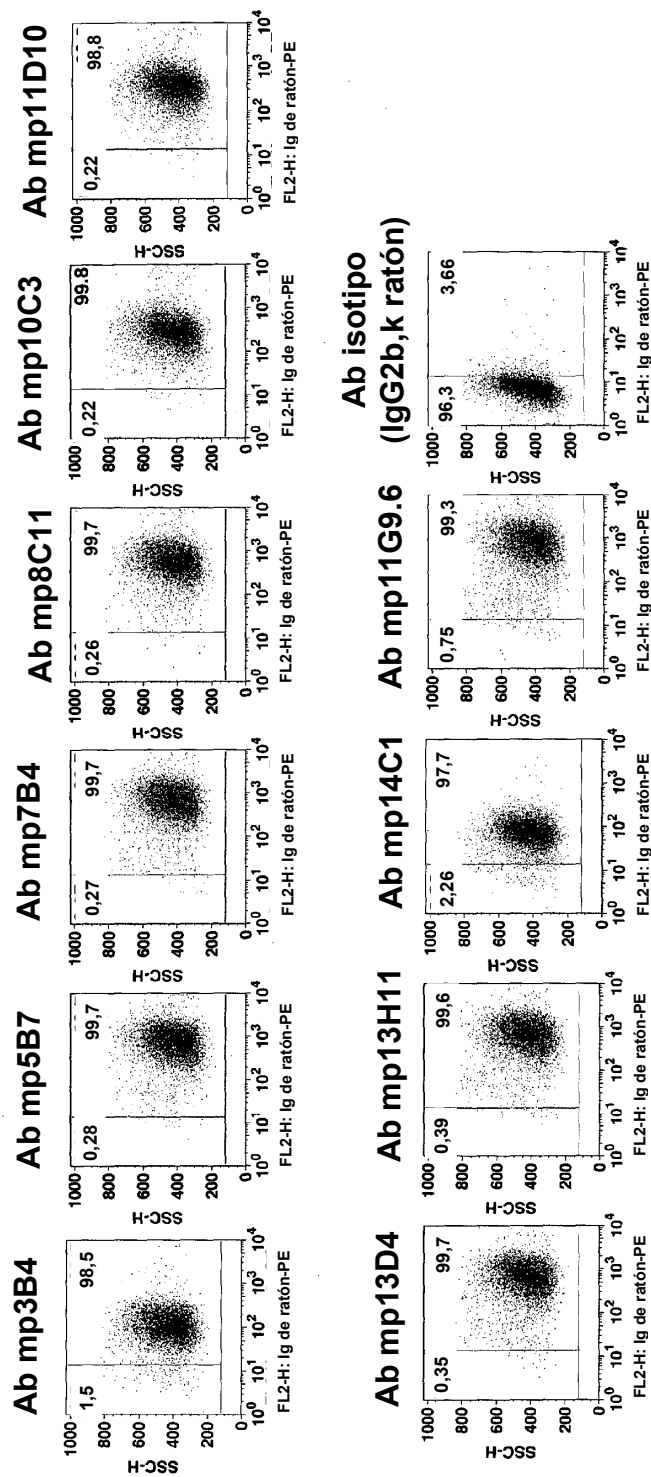
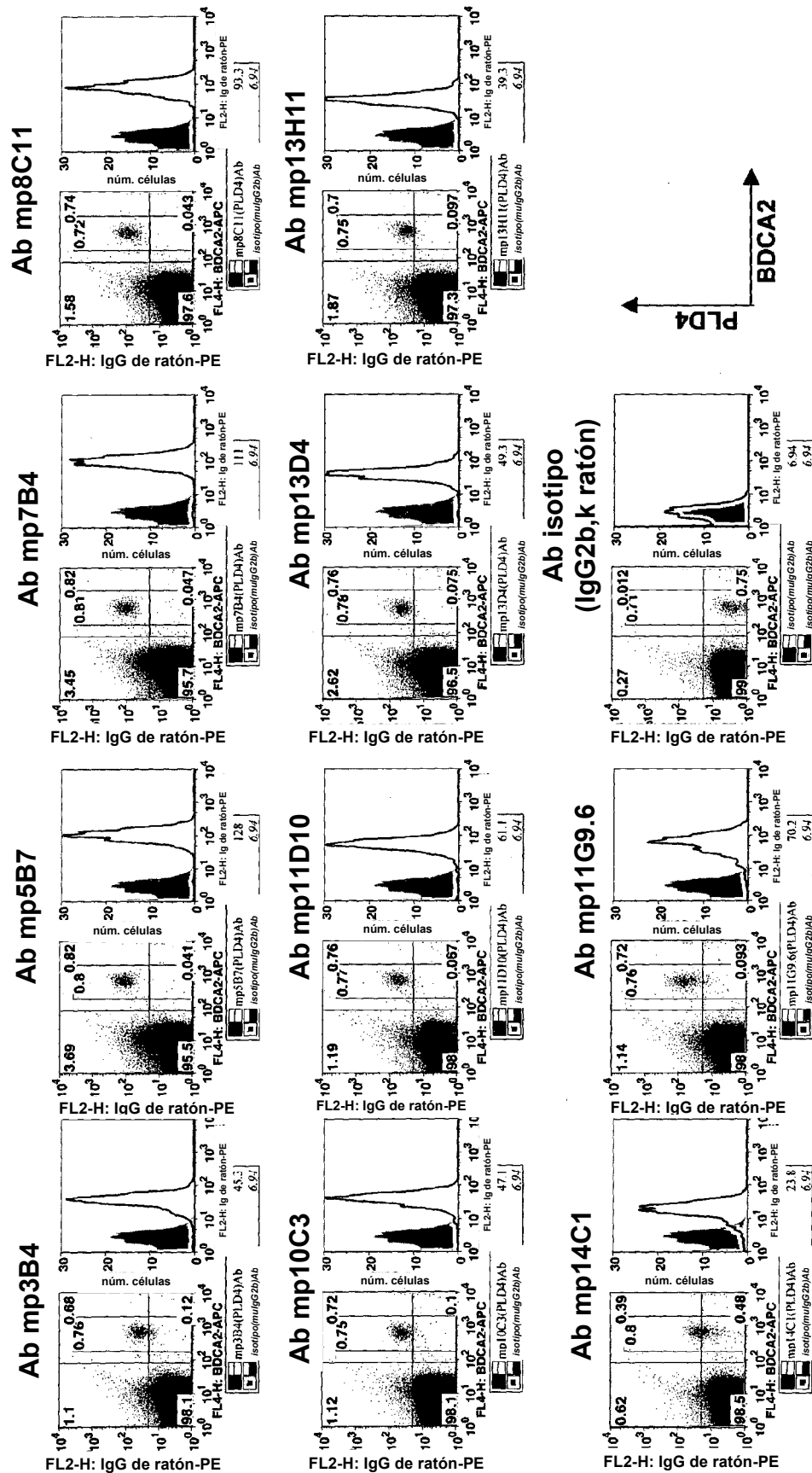


FIG. 13



(conc. Ab: 10 ug/ml)

|             |                                                                |
|-------------|----------------------------------------------------------------|
| PLD4 Cyno   | -----MLKPLRRAAVTPMPCSNLPRRLWDREAGTLQVLGVLAAMLWLGSMALTYYLL      |
| PLD4 Rhesus | -----MLKPLRRAAVTPMPCSNLPRRLWDREAGTLQVLGVLAAMLWLGSMALTYYLL      |
| PLD4 humana | -----MLKPLWKAAPVTPWPCSMPPRRPWPDRREAGTLQVLGALAVLWLGSAVALICLL    |
| PLD4 ratón  | MDKKKEHPMIRIPQTAVEVSDWPCSTS---HDPHSGGLGMLVGLSSVTILFL           |
|             | * * * * *                                                      |
| PLD4 Cyno   | WQVRPPTWGQVQPKDVPRSWGHGSSPALEAEVRKQDSCQLVLVESIPQDLFFAAG        |
| PLD4 Rhesus | WQVRCPPTWGQVQPRDVPRSWGHGSSIALPLEAEVRKQDSCQLVLVESIPQDLFFAAG     |
| PLD4 humana | WQVPRPPTWGQVQPKDVPRSWEHGSSPAWELEAEARQDSCQLVLVESIPQDLPSAAG      |
| PLD4 ratón  | WQGATSFTHRMFPPEVP-----SWSWETLKGDAEQNNSCQLLIVESIPEDLFFAAG       |
|             | ** . * :: *::** * : *:::****:*****:**** *                      |
| PLD4 Cyno   | SLSAQPLGQAWLQLLDTAQESVHVASYWSLTGPDIGVNDSSQLGEALLQKLQQLGRN      |
| PLD4 Rhesus | SLSAQPLGQAWLQLLDTAQESVHVASYWSLTGPDIGVNDSSQLGEALLQKLQQLGRN      |
| PLD4 humana | SPSAQPLGQAWLQLLDTAQESVHVASYWSLTGPDIGVNDSSQLGEALLQKLQQLGRN      |
| PLD4 ratón  | SPTAQPLAQAWLQLLDTARES VHTASYWSLTGLDIGVNDSSRQGEALLQKFQQLLRN     |
|             | * :*****:*****:*****:*****:*****:***** *                       |
| PLD4 Cyno   | ISLAVATSSPTLARKSTDQLVLARGAQVRRVPMGRLTGRGLVHSHKFWVVDGRHIYMGSAN  |
| PLD4 Rhesus | ISLAVATSSPTLARKSTDQLVLARGAQVRRVPMGRLTGRGLVHSHKFWVVDGRHIYMGSAN  |
| PLD4 humana | ISLAVATSSPTLARTSTDQLVLARGAHVQVPMGRLTGRGLVHSHKFWVVDGRHIYMGSAN   |
| PLD4 ratón  | ISVVVATHSPTLAKTSTDQLVLAHGAQIQQVPMKQLTGGVLHSHKFWVVDGRHIYVGSAN   |
|             | ***.*** *****:*****:*****:*****:*****:*****:*****              |
| PLD4 Cyno   | MDWRSLTQVKELGAVIYNCSHLAQDLEKTFQTYWVLGVPKAVLPKTPWQNFSSHINRFQP   |
| PLD4 Rhesus | MDWRSLTQVKELGAVIYNCSHLAQDLEKTFQTYWVLGVPKAVLPKTPWQNFSSHINRFQP   |
| PLD4 humana | MDWRSLTQVKELGAVIYNCSHLAQDLEKTFQTYWVLGVPKAVLPKTPWQNFSSHINRFQP   |
| PLD4 ratón  | MDWRSLTQVKELGAILIYNCNLAAQDLEKTFQTYWVLGTPOAVLPKTPWPRNFSSHINRFHP |
|             | *****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****          |

- PLD4 humana: 506 a.a.
- PLD4 Cynomolgus: 506 a.a. (94,4% homología)
- PLD4 Rhesus: 506 a.a. (93,9% homología)
- PLD4 ratón: 503 a.a. (72,5% homología)

FIG. 15

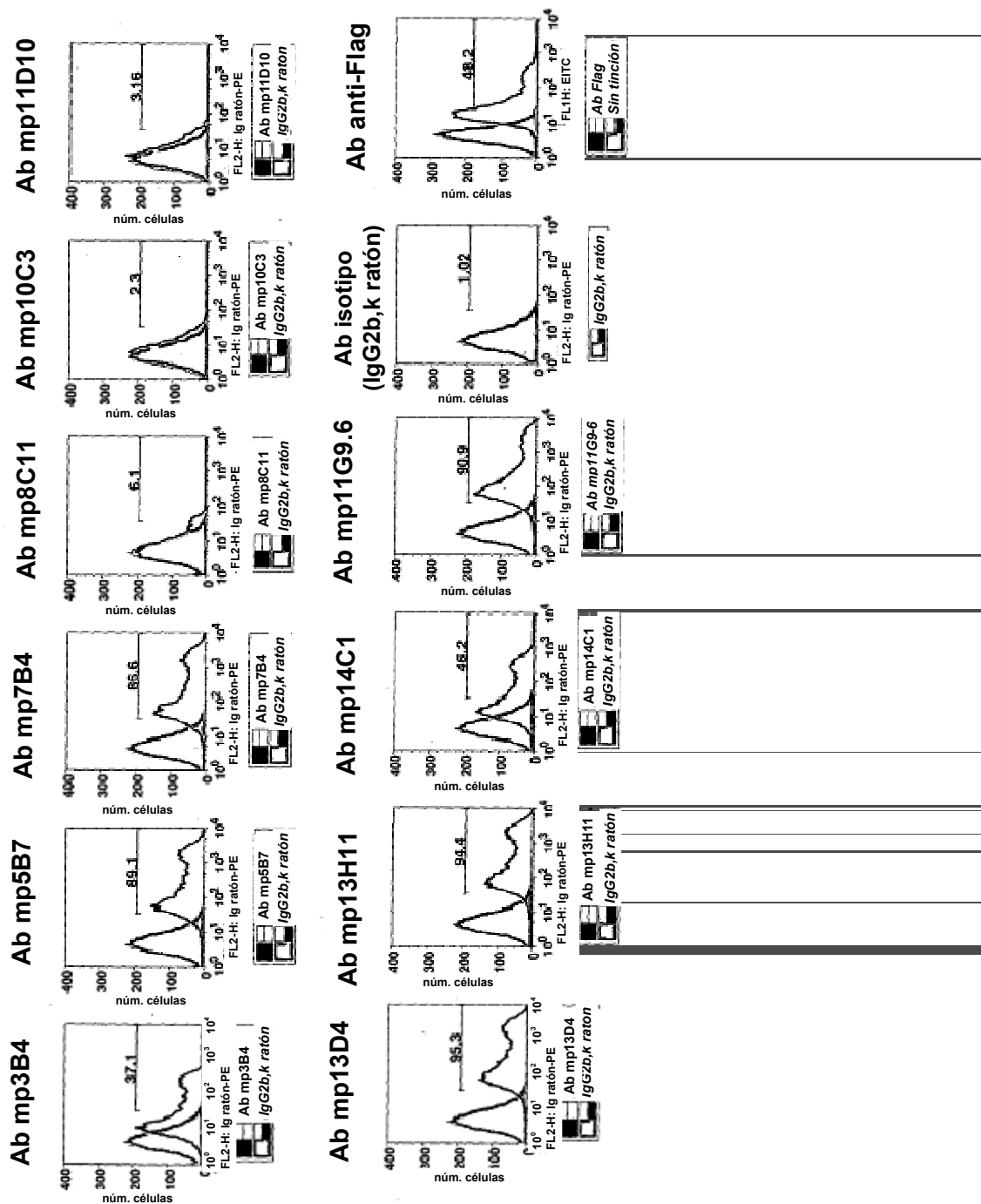


FIG. 16

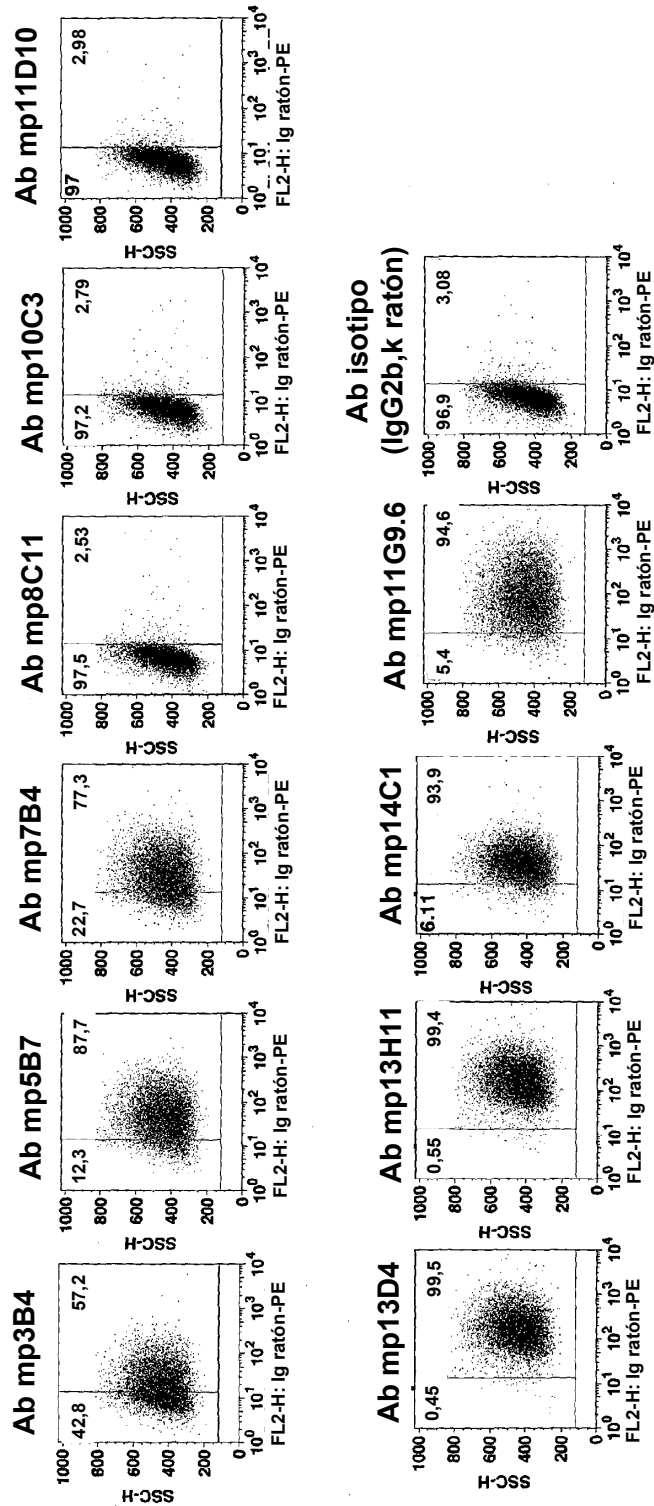


FIG. 17

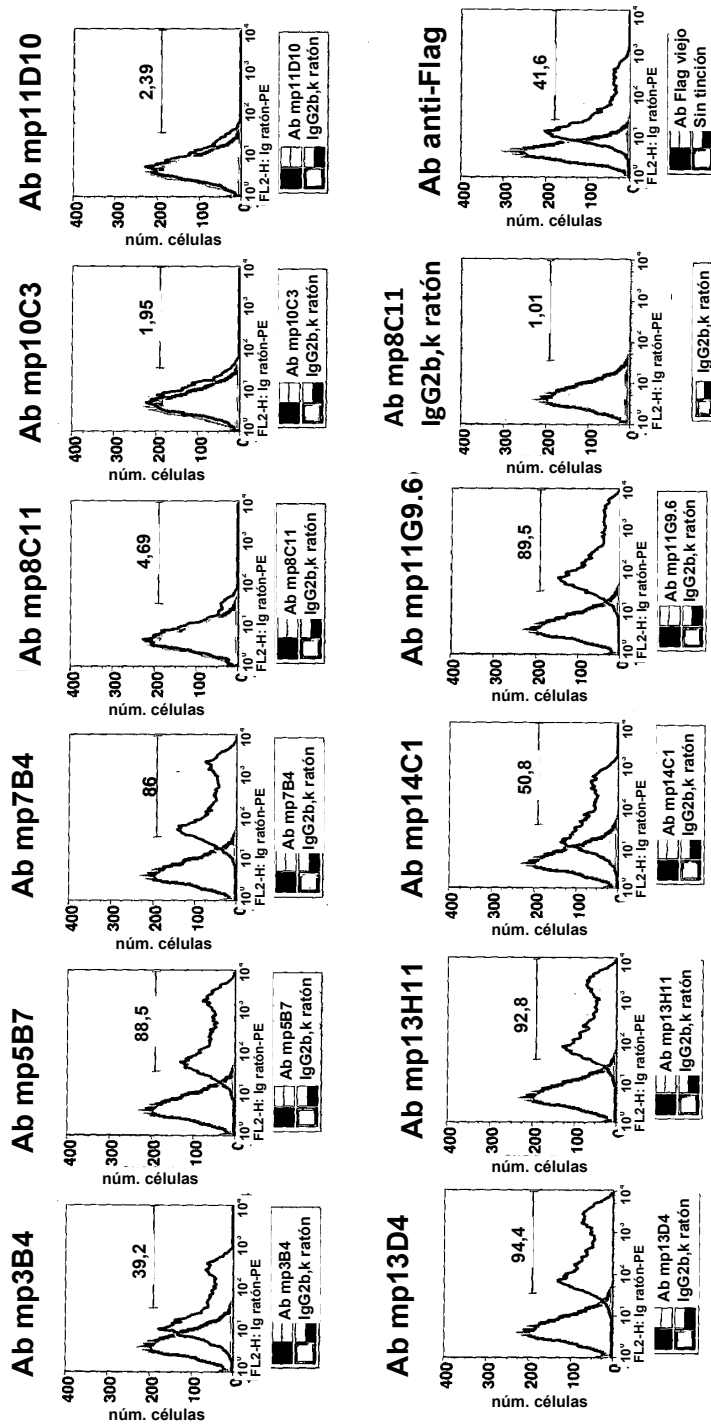
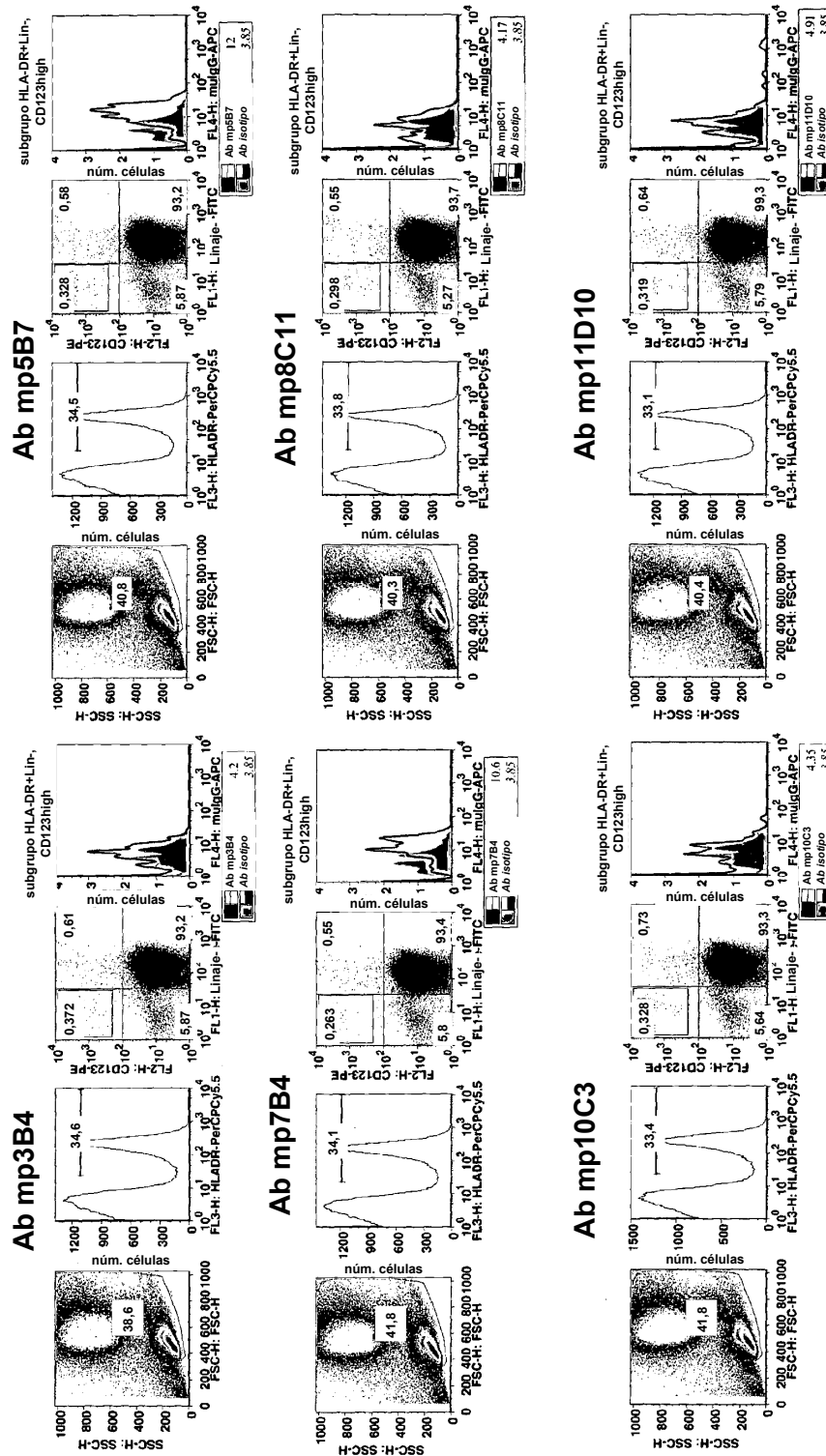


FIG. 18-1





**FIG. 18-2**

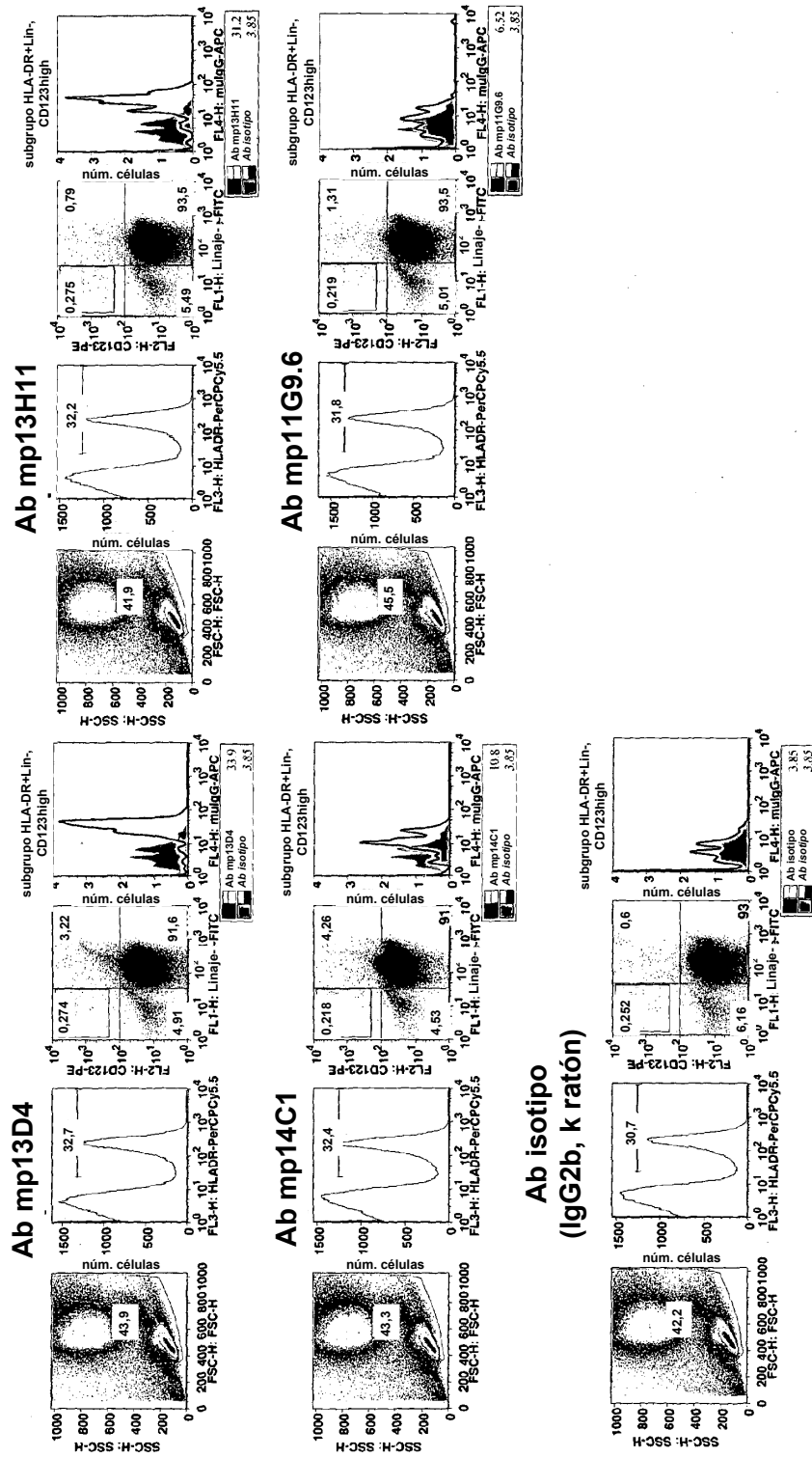


FIG. 19

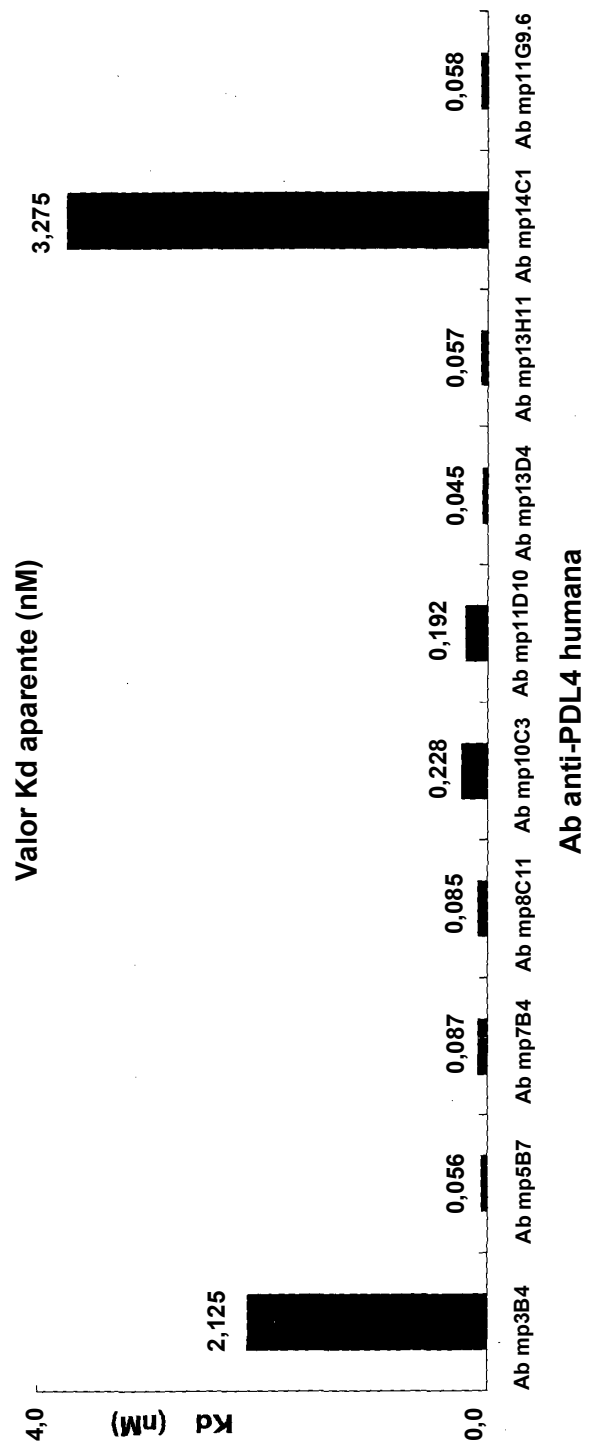


FIG. 20

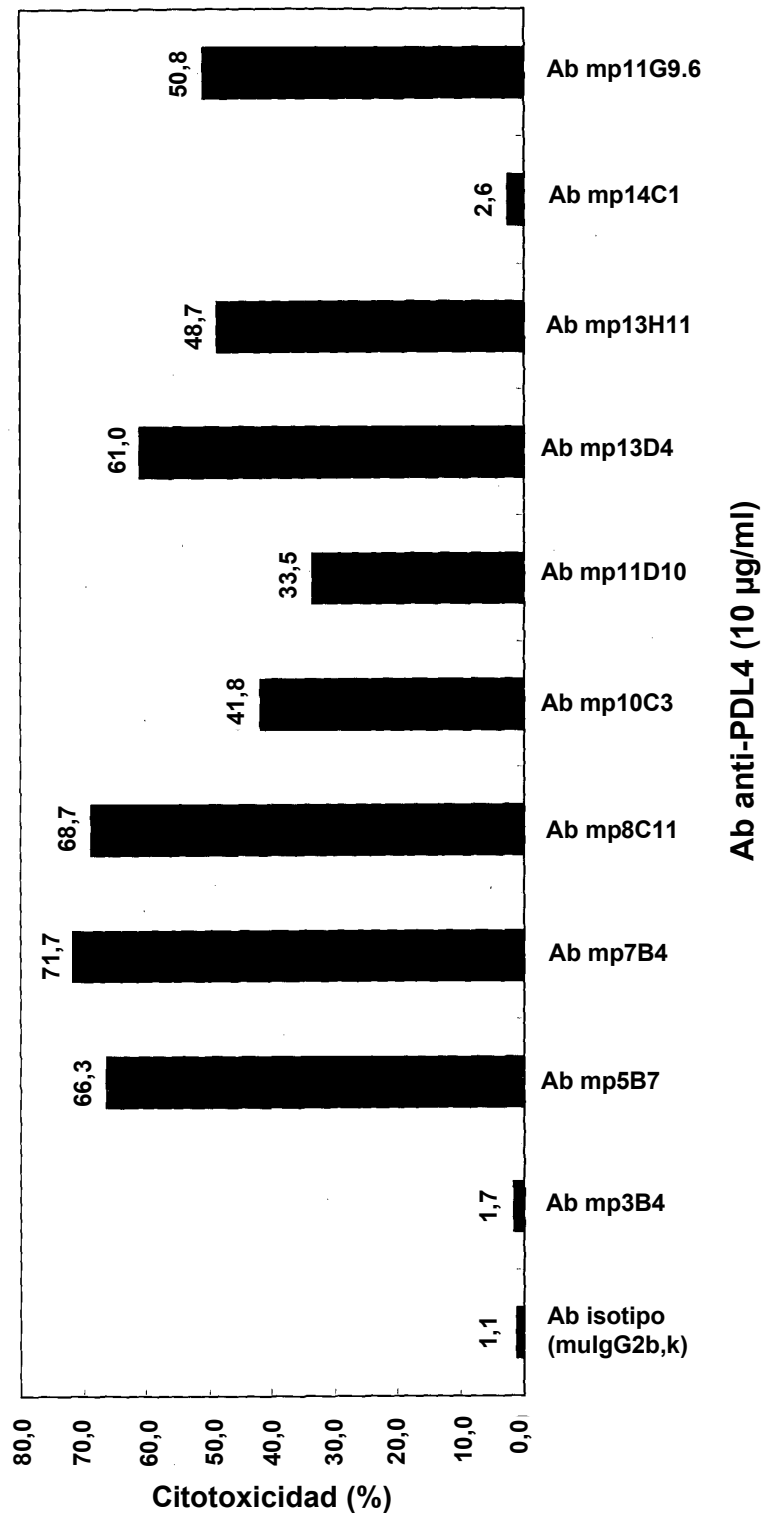


FIG. 21

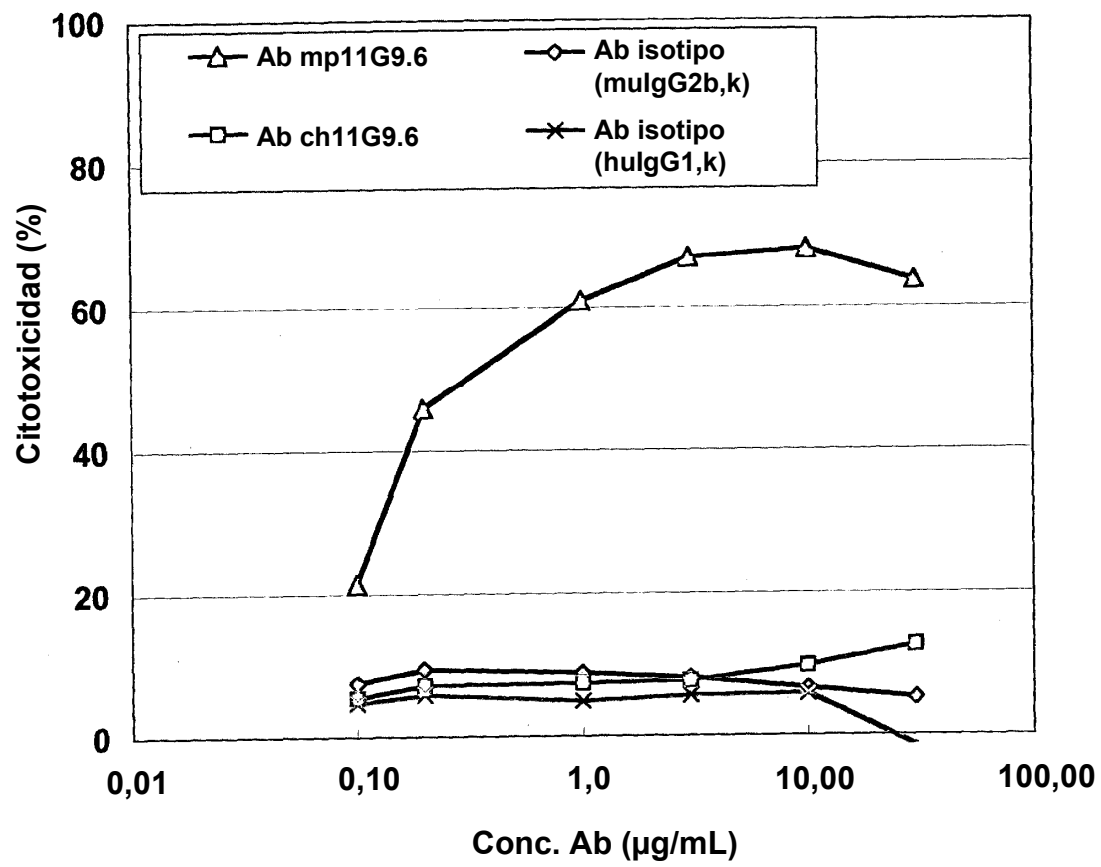


FIG. 22

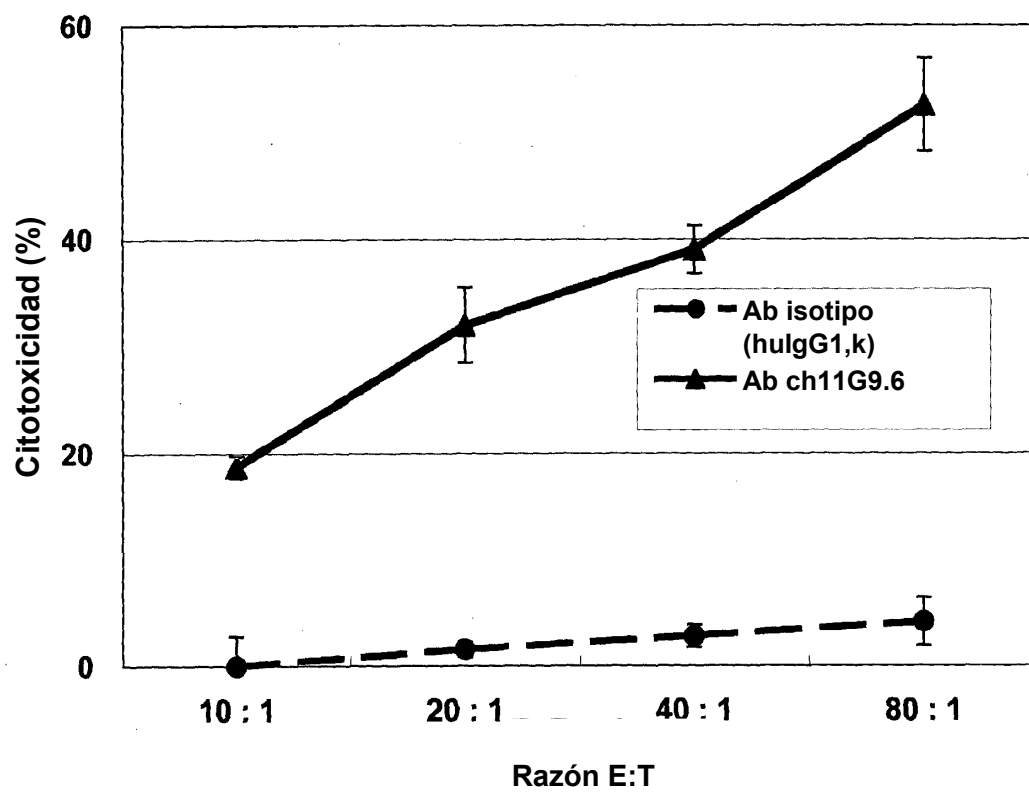
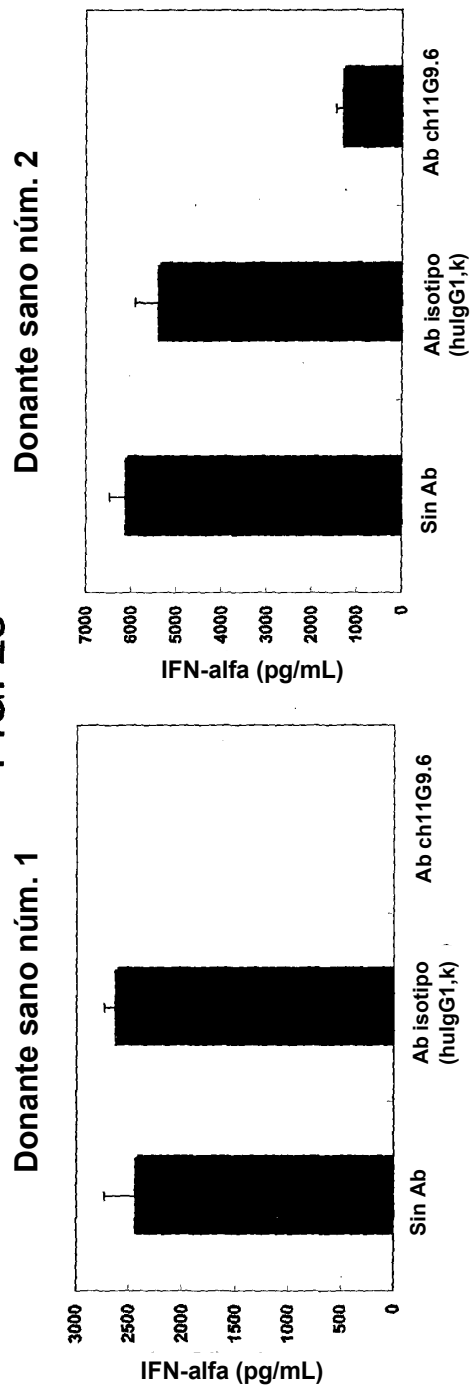


FIG. 23



**Donante sano núm. 3**

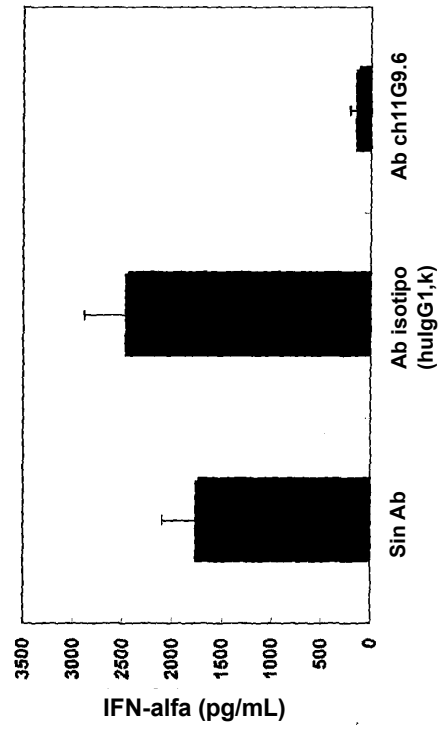


FIG. 24

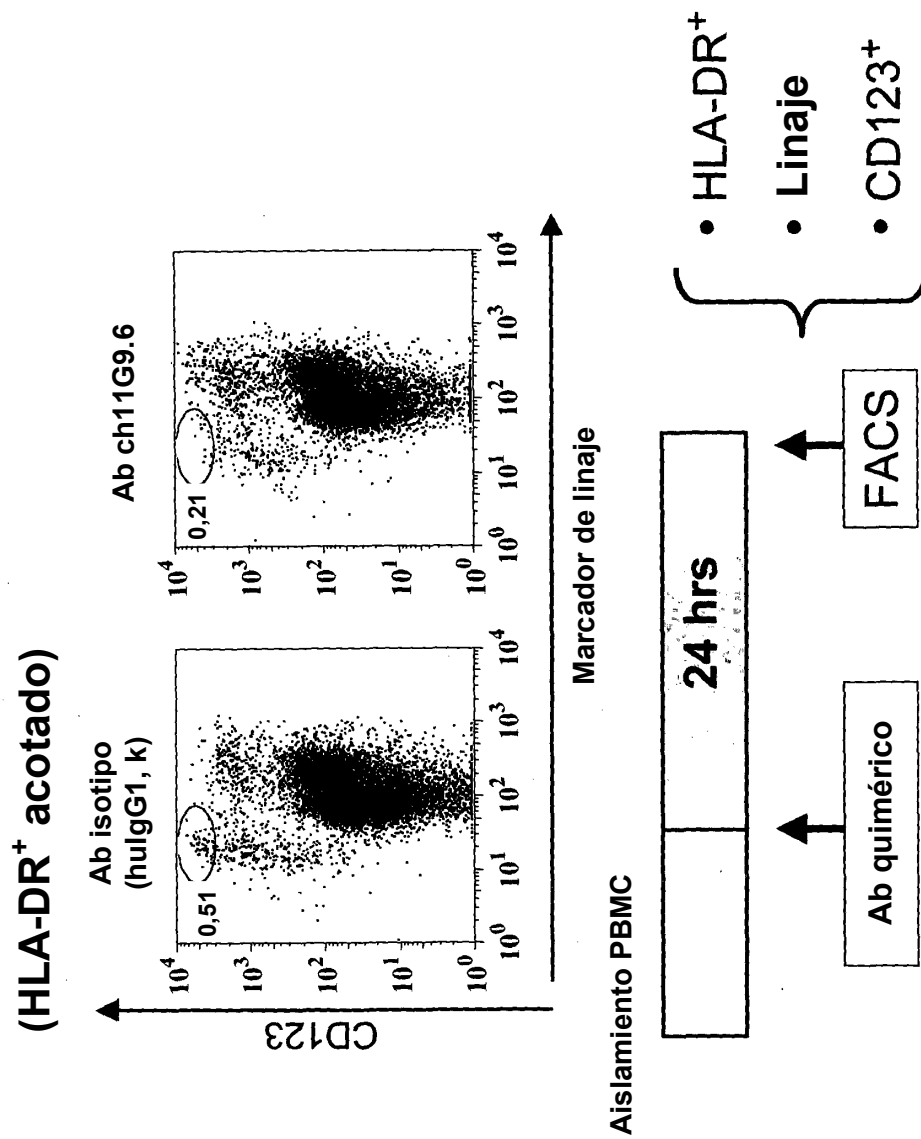


FIG. 25

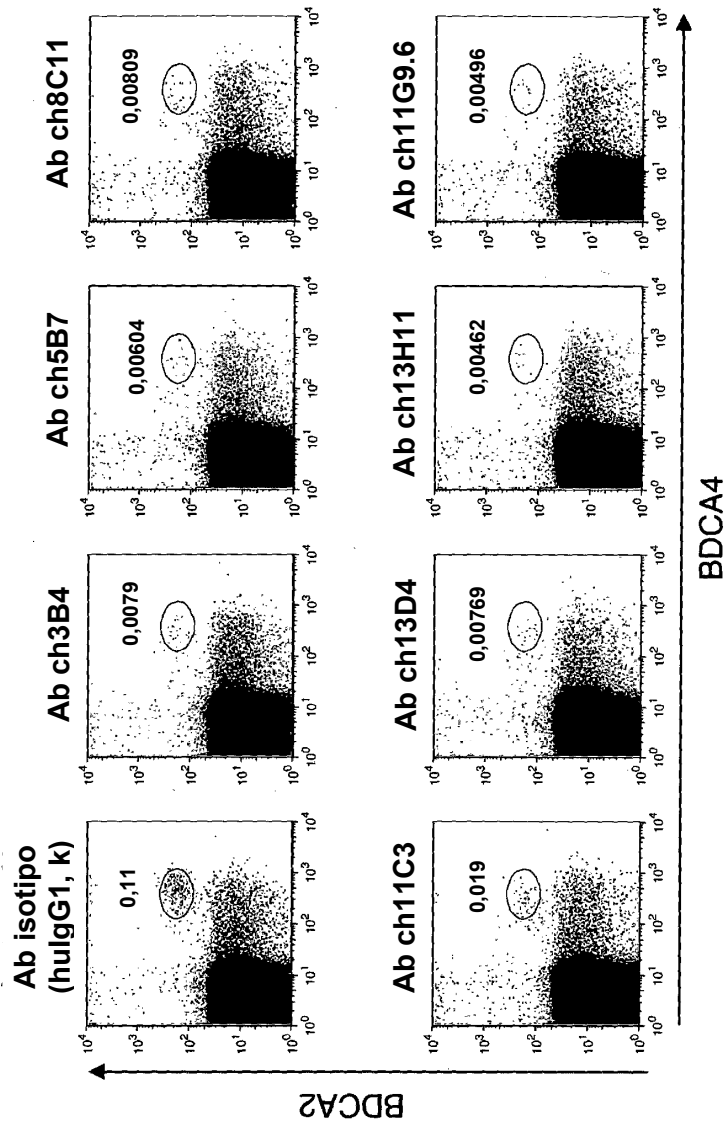




FIG. 26

