

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 704 030**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/541** (2006.01)

**G01N 33/538** (2006.01)

**G01N 33/68** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.08.2010 PCT/US2010/044690**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.02.2011 WO11017605**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.08.2010 E 10807223 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.10.2018 EP 2462444**

54 Título: **Métodos para la identificación inmunológica de líquido cefalorraquídeo**

30 Prioridad:

**07.08.2009 US 232033 P**

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

**13.03.2019**

73 Titular/es:

**AFFINIMARK TECHNOLOGIES, INC. (100.0%)  
10 Justin Drive  
Ellington, CT 06029, US**

72 Inventor/es:

**PIERIBONE, VINCENT**

74 Agente/Representante:

**CAMPELLO ESTEBARANZ, Reyes**

ES 2 704 030 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

Métodos para la identificación inmunológica de líquido cefalorraquídeo

### 5 CAMPO DE LA DIVULGACIÓN

La presente divulgación se refiere a la detección de la presencia o ausencia de líquido cefalorraquídeo (LCR) en una muestra mediante la detección de una o más proteínas que están enriquecidas con LCR en comparación con sus niveles en otros fluidos corporales. En el presente documento se describen dispositivos y métodos para la detección de la presencia o ausencia de líquido cefalorraquídeo en muestras de líquidos corporales mixtos de una amplia diversidad de poblaciones humanas que cruzan la etnicidad, la edad, el sexo, el estado de salud y la variabilidad genética.

### ANTECEDENTES

El líquido cefalorraquídeo (LCR), o líquido cerebroespinal, se encuentra en el espacio subaracnoideo, así como en los ventrículos que rodean y penetran en el sistema nervioso central (SNC). El LCR baña el cerebro y la médula espinal y proporciona una eliminación de desechos hidratantes, nutritivos, metabólicos y un tampón de impacto hidrostático para las neuronas y la glía. El LCR se produce a partir de la sangre arterial por los plexos coroideos de los ventrículos laterales y cuarto por un proceso combinado de difusión, pinocitosis y transferencia activa. El líquido también contiene constituyentes producidos por las neuronas y la glía. Después de la difusión a través del sistema ventricular hacia el espacio subaracnoideo, la mayor parte del LCR se reabsorbe por las granulaciones aracnoideas para reingresar al torrente sanguíneo a través del plexo venoso dural. Se generan aproximadamente 500 ml de líquido cada día; con un volumen total de 140-150 ml para un adulto, el LCR completo se renueva cada 6-8 horas. El LCR está limitado por la duramadre en todo el SNC. Se produce más líquido en el SNC rostral y, en última instancia, se drena en la médula espinal caudal para producir un flujo de líquido rostral a caudal neto. El LCR es una mezcla isotónica principalmente de sales, glucosa, proteínas y agua. El LCR de la región lumbar contiene de 15 a 45 mg/dl de proteína (0,3-1 % de la concentración de proteína sérica) y 50-80 mg/dl de glucosa (60 % de la glucosa en sangre). La concentración de proteínas en el LCR cisternal y ventricular es menor.

El paisaje proteico del LCR se puede dividir en dos grupos: Proteínas derivadas de la sangre, que constituyen la fracción principal en el LCR de individuos sanos, y proteínas derivadas del cerebro. Aproximadamente el 20 % de las proteínas en el LCR se originan en el parénquima cerebral, pero solo un subconjunto de estas, son en realidad específicas del cerebro.

A pesar del hecho de que la mayoría de las proteínas del líquido también se encuentran en el suero, existen múltiples fuentes de proteínas únicas para el LCR: Proteínas que se liberan de las neuronas y las células gliales, por ejemplo, proteína tau, S-100 y enolasa específica de neuronas (NSE).

Proteínas liberadas a partir de leptomeninges, por ejemplo, proteína  $\beta$  traza y cistatina C.

Las proteínas se modifican diferencialmente por glucosilación o fosforilación durante la síntesis en el plexo coroideo, por ejemplo, transtiretina (TTR), angiotensina II y factor de crecimiento de tipo insulina II.

Hay una superposición sustancial en el perfil de proteínas entre el LCR y el plasma, un número considerable de proteínas son exclusivas del LCR o están modificadas de forma única por fosforilación o glucosilación en el SNC.

El documento WO 01/63295 divulga una isoforma proteica relacionada con Dickkopf 3 (DKK-3), DPI-6, y su uso en el diagnóstico, la profilaxis y el tratamiento de afecciones neuropsiquiátricas y neurológicas tales como trastorno bipolar afectivo, esquizofrenia y demencia vascular.

El documento WO 2007/047796 proporciona métodos para identificar glucoproteínas y glucósidos derivados de tejido en plasma, paneles de reactivos de detección para detectar los mismos, así como métodos para detectar una enfermedad usando dichos paneles. La invención proporciona además una base de datos de glucoproteínas y glucósidos derivados de tejido detectables en plasma. DKK-3 se enumera como un ejemplo (SEQ ID NO. 9863 de 14918).

Las pruebas de flujo lateral, o también conocidas como ensayos inmunocromatográficos de flujo lateral o tiras

reactivas, están diseñadas para detectar rápidamente la presencia o ausencia de un analito dado en una matriz heterogénea. Actualmente hay en el mercado una diversidad de Pruebas de Flujo Lateral para pruebas en el hogar, pruebas en el lugar de atención, o uso en el laboratorio, por ejemplo, pruebas de embarazo (por ejemplo, FirstResponse®, ClearBlue®), pruebas del VIH (por ejemplo, OraQuick ADVANCE®, Clearview® Complete), o 5 pruebas de clamidia (por ejemplo, Clearview® Chlamydia, inSTIcheck™ Chlamydia).

Lo que se necesita es una prueba adecuada para la detección de LCR que sea comparable con las pruebas del VIH como OraQuick ADVANCE® o Clearview® Complete: Es una prueba en punto de atención; la prueba es solo cualitativa; el operador necesita una capacitación mínima para usar la prueba; la prueba tiene un control interno en 10 la tira para verificar el muestreo preciso.

## RESUMEN

En un aspecto, la invención proporciona el uso de un dispositivo en un método *in vitro* para detectar la presencia o 15 ausencia de líquido cefalorraquídeo (LCR) en una muestra, comprendiendo dicho método poner en contacto la muestra con un compañero de unión específico para una proteína enriquecida con LCR, y detectar complejos de compañero de unión-proteína enriquecida con LCR, si están presentes, en donde la presencia de complejos detectables indica la presencia de dicha proteína enriquecida con LCR en la muestra; en el que la proteína enriquecida con LCR es un precursor de homólogo de dickkopf 3, ADNc FLJ59893 (SEQ ID 20 NO: 13; Número de Acceso gi|40548389); o una forma desfosforilada o fosforilada enriquecida con LCR de la proteína enriquecida con LCR anterior, comprendiendo dicho dispositivo una región de aplicación de muestras, una región de etiquetado de muestras que comprende un primer anticuerpo contra dicha proteína enriquecida con 25 LCR, en donde el primer anticuerpo está conjugado con una partícula móvil; una región de detección de muestras que comprende un segundo anticuerpo contra dicha proteína enriquecida con LCR, en donde el segundo anticuerpo se fija a la región de detección de muestras, en donde la formación de una banda detectable en la segunda región después de la aplicación de la muestra a la región de aplicación de muestras indica la presencia de dicha proteína enriquecida con LCR en la muestra. 30 En un aspecto, la invención proporciona un método *in vitro* para detectar la presencia o ausencia de LCR en una muestra, comprendiendo dicho método poner en contacto la muestra con un compañero de unión específico para una proteína enriquecida con LCR, y detectar complejos de compañero de unión-proteína enriquecida con LCR, si están presentes, en donde la presencia de complejos detectables indica la presencia de dicha proteína enriquecida con LCR en la muestra; 35 en el que la proteína enriquecida con LCR es un precursor de homólogo de dickkopf 3, ADNc FLJ59893 (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gi|40548389); o una forma desfosforilada o fosforilada enriquecida con LCR de la proteína enriquecida con LCR anterior.

También se describe en el presente documento un dispositivo para la detección de la presencia o ausencia de 40 líquido cefalorraquídeo en una muestra que comprende una región de aplicación de muestras, una región de etiquetado de muestras que comprende un primer anticuerpo contra una proteína enriquecida con LCR, en donde el primer anticuerpo está conjugado con una partícula móvil; una región de detección de muestras que comprende un segundo anticuerpo contra la proteína enriquecida con 45 LCR, en donde el segundo anticuerpo se fija a la región de detección de muestras, en donde la presencia de una banda detectable en la segunda región indica la presencia de líquido cefalorraquídeo en la muestra.

También se describe en el presente documento un método para detectar la presencia o ausencia de LCR en una 50 muestra, que comprende poner en contacto la muestra con un compañero de unión específico para una proteína enriquecida con LCR, y detectar complejos de compañero de unión-proteína enriquecida con LCR, si están presentes, en donde la presencia de complejos detectables indica la presencia de LCR en la muestra.

55 En las formas de realización anteriores, el antígeno en LCR es la Isoforma 1 de proteína de tipo molécula de adhesión celular neural (SEQ ID NO: 1; Número de Acceso gi:62088238); Cadena A, mesotripsina humana en complejo con el inhibidor de tripsina pancreática bovina (Bpti) (SEQ ID NO:2; Número de acceso gi:162330095); precursor de Contactina 2 CNTN2 (SEQ ID NO: 3; Número de Acceso gi|4827022); Isoforma 2 de Contactina 1 CNTN1 (SEQ ID NO: 4; Número de Acceso gi:28373119); ADNc muy

similar a la proteína 1 de tipo SPARC (producto proteico anónimo) (SEQ ID NO: 5; Número de Acceso: gij194388050); fragmento posiblemente ligeramente más largo (~96 kDa) de la proteína NRCAM (molécula de adhesión celular neuronal)[Homo sapiens] (SEQ ID NO: 6; Número de Acceso: gij68534652 y SEQ ID NO: 7; gij109731501); molécula de adhesión celular neural 2 NCAM2, isoforma CRA\_a (SEQ ID NO: 8; Número de Acceso gij119630409); inhibidor de serpina peptidasa SERPINA3, clado A, clado F (alfa-2 antiplasmina, factor derivado del epitelio pigmentario, Pedf), factor de la isoforma 4 del elemento 1 (SEQ ID NO: 14; Número de Acceso gij15988024); antiqumiotripsina/proteína de inhibición del crecimiento 25 [Homo sapiens] o fragmento ligeramente más largo del precursor de alfa-1-antiquimiotripsina (SEQ ID NO: 9; Número de Acceso gij46981961); angiotensinógeno AGT (SEQ ID NO: 10; Número de Acceso gij553181); precursor de angiotensinógeno (Serpina A8) (SEQ ID NO: 11; Número de Acceso gij4557287); producto proteico anónimo también denominado superfamilia de inmunoglobulinas, elemento 4B; en seres humanos, también se denomina molécula de adhesión celular 3 (SEQ ID NO: 12; Número de Acceso gij187608363); precursor de homólogo de dickkopf 3, ADNc FLJ59893, (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gij40548389); inhibidor de serina (o cisteína) proteinasa SERPINF1, clado F (alfa-2 antiplasmina, factor derivado del epitelio pigmentario, Pedf), factor de la isoforma 4 del elemento 1 (SEQ ID NO: 14; Número de Acceso gij15988024); proteína humana similar a la proteína de unión a vitamina D GC PREVISTA: proteína de unión a vitamina D [Pan troglodytes] (SEQ ID NO: 15; Número de Acceso 181482); antígeno CD14 de monocitos humanos CD14 (CD14) (SEQ ID NO: 16; Número de Acceso gij117646212); molécula de adhesión celular de Homo sapiens 3 CADM3 (CADM3), variante de transcripción 1 (SEQ ID NO: 17; Número de Acceso gij90080503; SEQ ID NO: 18; gij187608363 (humana); variante de molécula de adhesión celular neural (SEQ ID NO: 19; Número de Acceso gi:62088238); proteína anónima similar a ADNc CLU FLJ57622, muy similar a la clusterina (SEQ ID NO: 20; Número de acceso gij189054091); proteína muy similar a la clusterina (SEQ ID NO: 21; Número de acceso gij193787502); proteína de la membrana integral vesicular LMAN2 VIP36 (SEQ ID NO: 22; Número de acceso gij157834800); isoforma 1 de clusterina [Homo sapiens] (SEQ ID NO: 23; Número de acceso NM\_001831.2); superóxido dismutasa 3, precursor extracelular (SEQ ID NO: 24; Número de acceso gij118582275); fragmento del extremo C de fibrina alfa (SEQ ID NO: 25; Número de acceso gij223057); Cadena A, Forma activa de caliceína humana 6 (Hk6) o la Isoforma 1 de caliceína 6 KLK6 (SEQ ID NO: 26; Número de acceso gij21465970); componente P de amiloide sérico APCs/componente P de amiloide sérico humano de cadena A o pentamérico (SEQ ID NO: 27; Número de acceso gij576259); proteína FAM3C FAM3C/familia con similitud de secuencia 3, precursor del elemento C [Homo sapiens] nota = "proteína de osteoblastos prevista; inductor EMT de tipo interleucina (SEQ ID NO: 28; Número de acceso gij55629272); proteína similar al producto proteico anónimo [Macaca fascicularis], también se denomina superfamilia de inmunoglobulinas, elemento 4B; en seres humanos, también se denomina molécula de adhesión celular 3 (SEQ ID NO: 29; Número de acceso gij187608363); una forma desfosforilada o fosforilada enriquecida con LCR de los antígenos en LCR anteriores; o una combinación de dos o más de los antígenos en LCR anteriores.

En el presente documento también se describe un método para la detección de un reactivo en un fluido corporal, tejido o microorganismo que comprende poner en contacto el fluido corporal, tejido o microorganismo con dos o más anticuerpos, en el que cada anticuerpo reacciona específicamente con un antígeno en el reactivo, en el que la reacción con cada anticuerpo individual no indica una prueba positiva para el reactivo, y en el que la reacción con los dos o más anticuerpos indica una prueba positiva para el reactivo.

#### 40 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Figura 1 Ensayo de flujo lateral. El analito se añade al extremo izquierdo de la tira, ya sea por un gotero o por inmersión directa. El líquido (aproximadamente 75 µl) se filtra a través de la tira a la derecha. La almohadilla de conjugado contiene IgG soluble unida a una partícula visible (es decir, microesferas de oro o látex). Si la solución de analito contiene el analito, el conjugado de anticuerpos y el complejo migra a través de la tira. La mezcla se encuentra primero con la tira reactiva, que contiene el anticuerpo inmovilizado contra el analito. El analito, la etiqueta primaria y visible soluble, se unen entonces a la línea de prueba. Si no hay analito presente, la fracción soluble pasa por la línea de prueba. Ya esté presente o no el analito, el exceso de IgG soluble unida al indicador se une a la IgG anti-globina inmovilizada unida a la tira de control. La Figura 2 muestra las ventajas de un enfoque de antígenos múltiples para la detección de LCR. La figura superior representa los resultados del ensayo de antígeno único para diversas condiciones de prueba y la figura inferior muestra los resultados del ensayo de antígenos múltiples. Las barras a lo largo del eje X representan diferentes condiciones de ensayo y el eje Y representa el grado de inmunorreactividad observado por el ensayo. La zona sombreada superior indica una respuesta colorimétrica positiva en la línea de prueba del ensayo de flujo lateral. Los ensayos con inmunorreactividad que entran en la zona sombreada producirán un resultado de prueba positivo. Barra 1: Las barras de LCR en el gráfico superior ilustran la inmunorreactividad del antígeno único, que es suficiente para producir un resultado de prueba positivo. Como alternativa, en el gráfico de antígenos múltiples (inferior), una combinación de antígenos, cada uno de los cuales produce una señal parcial, se acumula para producir un resultado de ensayo

positivo. Barra 2: El LCR contaminado con sangre produce una respuesta positiva similar con una inmunorreactividad sanguínea menor pero aditiva (barra superior con borde grueso). Barra 3: Muestra de LCR/sangre inusual en la que el antígeno 1 es poco inmunorreactivo. En el ensayo de antígeno único, el ensayo produce un falso negativo, mientras que el ensayo de antígenos múltiples aún está por encima del umbral de ensayo como resultado de que las otras cinco inmunorreactividades de antígeno están intactas. Barra 4: LCR/sangre sin inmunorreactividad al antígeno 1. Los mismos resultados que en la Barra 3. Barra 5: No hay LCR, sino antígeno de reacción cruzada transmitido por la sangre. En este caso, el ensayo de antígeno único produce un falso positivo, pero como la inmunorreactividad del antígeno único no es suficiente para producir una señal positiva en el ensayo de antígenos múltiples, el ensayo notifica el resultado negativo correcto. Barra 6: No hay LCR, sino nivel de antígeno 1 en sangre patológicamente alto. El ensayo de antígeno único produce reacciones de falso positivo a niveles sanguíneos elevados. El ensayo de antígenos múltiples reacciona a los niveles de antígeno 1 patógeno en la sangre, pero no alcanza el umbral para un falso positivo. Este ensayo se muestra con 5 mezclas de antígeno/anticuerpo1/anticuerpo2, sin embargo, otras formas de realización podrían contener entre 2 y hasta 10 mezclas de antígeno/anticuerpo1/anticuerpo2.

Figura 3: Electroforesis en gel bidimensional de LCR y proteínas sanguíneas. Un ejemplo de un experimento único en el que se separan en dos dimensiones 100 µg de proteína de LCR marcada con Cy (A) y 100 µg de proteínas de sangre marcadas con Cy3 (B). A y B son imágenes en escala de grises del mismo gel que utilizan diferentes configuraciones de excitación y emisión. El intervalo de pH es de 4-8. C) es la combinación RGB de los dos canales con puntos amarillos que indican una superposición significativa. D) es una extracción automatizada de puntos con >5x de enriquecimiento en el LCR o la sangre. Todas las muestras se agotaron 2 veces de las proteínas principales de suero/LCR (véase Métodos).

Figura 4: Análisis por cromatografía líquida-espectroscopía de masas de algunos de los puntos enriquecidos con LCR observados en el gel en la Figura 3.

Figura 5: Proteínas enriquecidas con LCR FLJ55 y precursor homólogo 3 de dickkopf (DKK3). A) Inmunotransferencia de FLJ55. El anticuerpo anti-humano de conejo policlonal purificado por afinidad producido contra un fragmento recombinante de FLJ55 produce inmunorreactividad al peso molecular correcto en la muestra de LCR, pero no en la muestra de suero. B) El anticuerpo anti-humano de conejo policlonal purificado por afinidad producido contra un fragmento recombinante de DKK3 también produce inmunorreactividad al peso molecular correcto en la muestra de LCR, pero no en la muestra de suero. En ambos casos, la proteína sérica excesiva se cargó a niveles superiores a los de los sueros. C) Cuatro muestras separadas de LCR que indican inmunorreactividad para DKK3 con un anticuerpo purificado por afinidad diferente (izquierda). Cinco muestras de sangre no producen inmunorreactividad. La sangre del carril 5 es un entorno elevado no específico.

Figura 6: Formas fosforiladas de angiotensinógeno que están altamente enriquecidas en el LCR. Una combinación RGB de la sangre Cy3 (verde) y LCR Cy5 (rojo). Se han identificado varias versiones fosforiladas novedosas y no superpuestas (cuatro puntos rojos a la derecha) que no están presentes en la sangre. Al menos otras tres combinaciones (tres puntos a la izquierda) están presentes tanto en el LCR como en la sangre.

Figura 7: Modificaciones postraduccionales específicas del LCR. Cambio en el patrón de distribución de proteínas en gel LCR 2D antes (panel superior) y después (panel central) de la eliminación de todas las modificaciones secundarias de las proteínas extraídas. Los puntos rojos en el panel inferior indican una reducción en la señal de proteína particular tras la eliminación de la modificación postraduccionales.

Figura 8: Diagrama de flujo experimental para la producción de tiras reactivas de detección de LCR.

Figura 9: Proteínas del LCR que están fosforiladas. Un único gel DIGE en el que se ejecutaron dos muestras de LCR empobrecido en proteínas de suero. A) las proteínas marcadas con Cy3 de la muestra de LCR que se incubó en fosfatasa alcalina durante una hora. B) Muestra equivalente de LCR empobrecido en proteína de suero no tratado con fosfatasa alcalina. C) Diferencia generada por ordenador (límites azules) entre el volumen puntual de los dos geles (A frente a B). Todos los puntos azules representan proteínas de LCR fosforiladas.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA

En el presente documento se describen proteínas que están enriquecidas con LCR en comparación con otros fluidos corporales y métodos para la detección de la presencia o ausencia de líquido cefalorraquídeo (LCR) en una muestra por la detección de estas proteínas. En el presente documento también se describen dispositivos y métodos para la detección de la presencia o ausencia de LCR en muestras de líquidos corporales mixtos de una amplia diversidad de poblaciones humanas que cruzan la etnicidad, la edad, el sexo, el estado de salud y la variabilidad genética. Las proteínas enriquecidas con LCR se detectan con un compañero de unión a proteínas específico, tal como un

anticuerpo, un ligando, un receptor y similares. Los compañeros de unión pueden ser compañeros de unión naturales o sintéticos.

La unión puede detectarse directa o indirectamente, tal como con una etiqueta fluorescente unida al compañero de unión. Aunque se incluyen varias formas de realización que utilizan anticuerpos como compañeros de unión, debe entenderse que se pueden usar otros compañeros de unión en lugar de anticuerpos.

En ciertas formas de realización, se cuantifica el nivel de proteínas enriquecidas con LCR. Dicha cuantificación es particularmente útil en la identificación de una lesión cerebral. La cuantificación se puede realizar utilizando un compañero de unión con una etiqueta detectable. El "resto detectable" o una "etiqueta" se refiere a una composición detectable por medios espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, inmunoquímicos o químicos. Las etiquetas útiles incluyen <sup>32</sup>P, <sup>35</sup>S, tintes fluorescentes, reactivos densos en electrones, enzimas (por ejemplo, como se usan comúnmente en un ELISA), biotina-estreptavidina, dioxigenina, haptenos y proteínas para las que están disponibles antisueros o anticuerpos monoclonales. El resto detectable a menudo genera una señal medible, tal como una señal radiactiva, cromogénica o fluorescente que se puede usar para cuantificar la cantidad de resto detectable unido en una muestra. El resto detectable puede incorporarse o unirse a un compañero de unión covalentemente, o a través de enlaces iónicos, van der Waals o de hidrógeno. El resto detectable puede detectarse directa o indirectamente. La detección indirecta puede implicar la unión de un segundo resto detectable directa o indirectamente al resto detectable.

En algunas formas de realización, la detección de LCR se realiza usando un ensayo de flujo lateral, empleando, por ejemplo, anticuerpos específicos para la proteína de LCR de interés. Un ensayo de flujo lateral puede ser un ensayo de antígeno único o un ensayo de antígenos múltiples. Una prueba de antígenos múltiples utiliza todos los antígenos juntos para proporcionar una única respuesta fácil de leer (es decir, una banda única en un ensayo de tira). Una prueba de antígenos múltiples puede calificar o cuantificar cada uno de varios antígenos individualmente para dar un perfil más complejo de los antígenos que están presentes. Tal perfil puede ser útil para determinar la gravedad de un traumatismo craneal, es decir, la lesión en la cabeza es menos grave cuando están presentes ciertas proteínas específicas del LCR y más grave cuando están presentes otras proteínas específicas del LCR o cuando los niveles de cada proteína proporcionan un grado de lesión.

**Ensayo de antígeno único:**

Aunque la tecnología de flujo lateral se ha utilizado con éxito en muchos ensayos clínicos, el enfoque único e innovador descrito en este documento extiende la tecnología a i.) la unión a proteínas enriquecidas con LCR únicas o múltiples, aumentando de este modo la sensibilidad y especificidad del ensayo, y/o ii.) la detección de una modificación postraduccional específica del LCR (por ejemplo, fosforilación).

Como se usa en el presente documento, una proteína enriquecida con LCR o un antígeno o polipéptido de LCR es un antígeno o polipéptido que es específico para el LCR o está sustancialmente enriquecido con LCR en comparación con otros fluidos corporales. La Tabla 1 identifica varias proteínas que se sabe están concentradas en el LCR. Estas no son proteínas identificadas en la solicitud actual, aunque pueden, en algunas formas de realización, combinarse en un ensayo con una o más proteínas identificadas en el presente documento en un ensayo multi-antígeno.

45

Tabla 1

| Proteína            | PM (kDa) | Concentración de LCR | Relación LCR/suero |
|---------------------|----------|----------------------|--------------------|
| Proteína de β traza | 25       | 16,6 mg/l            | 34:1               |
| Cistatina C         | 13,3     | 3,1 mg/l             | 5:1                |
| Proteína Tau        | 55-74    | 0,2 µg/l             | 10:1               |
| S-100 B             | 21       | 1,5 µg/l             | 18:1               |
| NSE                 | 78       | 8 mg/l               | 1:1                |
| Transtiretina       | 55       | 17 mg/l              | 1:18               |
| Albúmina            | 67       | 245 mg/l             | 1:205              |
| IgG                 | 150      | 25 mg/l              | 1:440              |

En el presente documento se describen proteínas que están presentes en cantidades suficientes y enriquecidas significativamente en el LCR en comparación con sus niveles en otros fluidos corporales, para actuar como un marcador del LCR. Las proteínas encontradas en muestras agrupadas de LCR se compararon con las proteínas en

la sangre, el fluido nasal, la saliva, el sudor, las lágrimas y los efluentes de los oídos (denominados "otros fluidos corporales"). Se examinó el LCR de un intervalo de edades (1-70 años) y tanto de hombres como de mujeres. Antes de la electroforesis en gel 2D comparativa, todos los fluidos se trataron para eliminar las proteínas séricas dominantes que están presentes en la mayoría de los fluidos corporales (es decir, albúmina, IgG, etc.). Las proteínas restantes de LCR y otro fluido corporal se marcaron diferencialmente con Cy3 y Cy5 y se ejecutaron en PAGE bidimensional. Usando este enfoque, se identificó un nuevo conjunto de proteínas que están altamente concentradas en el LCR sobre otros fluidos corporales. También se han identificado proteínas modificadas secundarias enriquecidas con LCR (es decir, fosforiladas). La desfosforilación de extractos de LCR confirmó que los puntos únicos de LCR representan una migración diferencial en la dimensión isoelectrónica basada en la fosforilación.

10 En una forma de realización, un precursor de homólogo de dickkopf 3, ADNc FLJ59893 (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gij40548389); o una forma fosforilada o desfosforilada enriquecida con LCR del mismo y, opcionalmente, las demás proteínas que están enriquecidas con LCR descritas en el presente documento se utilizan para detectar el LCR en un ensayo, tal como un ensayo de flujo lateral. Un sistema de flujo lateral consiste en  
 15 membranas superpuestas que contienen los componentes secos necesarios para el desempeño de la prueba (Figura 1). Estas membranas se ensamblan en pequeñas tiras que se pueden colocar en una carcasa de plástico para una mejor manipulación. El material del paciente se carga en la *Almohadilla de muestra*. En el caso de muestras de sangre entera/sangre capilar, se produce una separación de las células sanguíneas y el plasma. La fracción líquida de la muestra del paciente se difunde a través de la *Almohadilla de conjugado* que contiene anticuerpos marcados, que se dirigen específicamente contra el analito de interés. Los anticuerpos (conjugado) se vuelven a disolver y el analito está específicamente unido por el conjugado de oro (o látex). El complejo analito-conjugado de oro se difunde adicionalmente a través de la *Membrana analítica*. En esta membrana, se disponen dos líneas una después de la otra: (i) la **Línea de prueba** que contiene un segundo conjunto de analito-anticuerpos específicos responsables de la inmovilización de los complejos de analito-conjugado de oro y (ii) la **Línea de control**  
 20 que fija los anticuerpos de oro no unidos que indica que el conjugado ha sobrepasado la **Línea de prueba**. Si el analito de interés está disponible por encima del límite de detección, la Línea de prueba y la Línea de control son claramente visibles; si el analito está por debajo del límite de detección, solo aparece la Línea de control durante el tiempo de prueba. El último componente de la prueba rápida es la *Almohadilla absorbente (o de sedimentación)*, que simplemente recoge el líquido que transcurre a través del sistema de prueba y evita el reflujo del líquido a través del  
 25 sistema de prueba.  
 30

Los ensayos inmunocromatográficos de flujo lateral se diseñan como ensayos en sándwich o como ensayos competitivos. Los ensayos en sándwich aprovechan dos anticuerpos diferentes generados contra el mismo analito, uno para colorear el analito y otro para concentrar el analito en la línea de prueba. La línea de prueba se mostrará como una banda de color en muestras positivas. Los ensayos competitivos proporcionan un analito ya coloreado en la tira reactiva y un conjunto de anticuerpos contra el analito en la línea de prueba. La muestra fluye con el analito coloreado proporcionado hacia la línea de prueba y compite por la unión del anticuerpo. La línea de prueba se mostrará como una banda de color en muestras negativas.

#### 40 **Especificaciones de diseño del ensayo de LCR:**

El ensayo descrito en el presente documento se puede usar para identificar con precisión trazas de LCR cuando se mezcla con una diversidad de fluidos corporales diferentes de LCR. Estos "otros fluidos" son, por ejemplo, efluentes nasales y de los oídos, saliva, lágrimas, sudor, orina y sangre. El ensayo pretende minimizar los resultados falsos  
 45 positivos o negativos, independientemente del estado fisiológico, metabólico o patológico, el sexo, la edad o el origen étnico del sujeto.

En una forma de realización, el límite de detección es >5 % de LCR en un fluido puro o mezcla de cualquiera de los fluidos anteriores. Puede ser posible lograr una mayor sensibilidad, pero será esencial mantener la especificidad además del aumento de la sensibilidad. Por lo tanto, en algunas formas de realización, se alcanza un límite de  
 50 detección de >1 % de LCR.

#### **Ensayo de "tejido" de LCR de antígenos múltiples:**

55 En una forma de realización, el ensayo es uno que permitirá detectar la presencia de LCR mediante la detección simultánea de múltiples proteínas enriquecidas con LCR, incluido el precursor del homólogo 3 de dickkopf, ADNc FLJ59893 (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gij40548389); o una forma desfosforilada o fosforilada enriquecida con LCR de las mismas. Es decir, la prueba incluye dos o más marcadores para LCR para proporcionar una fiabilidad mejorada de la detección de LCR. En lugar de probar un solo "biomarcador", el ensayo de marcadores

múltiples será fuerte y proporcionará la respuesta correcta en una diversidad de circunstancias potenciales y desconocidas con alta selectividad y sensibilidad. Por ejemplo, un ensayo de antígeno único puede producir un falso positivo si el anticuerpo reconoce un antígeno en un líquido distinto del LCR (es decir, sangre). Si el ensayo analiza un antígeno que está "enriquecido" con LCR, pero no es "exclusivo" del LCR, un nivel sanguíneo aberrantemente alto podría producir un falso positivo. Esto puede ser problemático porque no es factible probar la tira en todas las condiciones fisiológicas, patológicas, étnicas, sexuales, dietéticas, relacionadas con la edad, etc. para buscar resultados falsos. Además, el nivel de antígeno en LCR particular puede reducirse por debajo del nivel de detección, o un antígeno en LCR particular puede tener una diferencia genotípica rara, reduciendo de este modo la reactividad en ciertas poblaciones humanas produciendo un falso negativo. Estas son todas las dificultades potenciales que surgen al basar una prueba en un único antígeno enriquecido con LCR (véase la Figura 2). El nuevo ensayo "Multi-antígeno" para detectar LCR en muestras de fluidos corporales mixtos debería proporcionar una mejora sustancial con respecto a las pruebas de antígeno único. En ciertas formas de realización, la prueba multi-antígeno incluye al menos un anticuerpo específico para cada uno de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 antígenos que están enriquecidos con LCR en comparación con sus niveles en otros fluidos corporales, incluyendo el precursor del homólogo 3 de dickkopf, ADNc FLJ59893 (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gij40548389); o una forma desfosforilada o fosforilada enriquecida con LCR de las mismas. En otras formas de realización, se emplean al menos dos anticuerpos específicos para cada antígeno, incluido el precursor del homólogo 3 de dickkopf, ADNc FLJ59893 (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gij40548389); o una forma desfosforilada o fosforilada enriquecida con LCR de los mismos.

Como se describe en el presente documento, se ha extraído una gran cantidad de puntos de proteínas enriquecidas con LCR y se han analizado por LC-MS. La razón para este enfoque se ilustra en la Figura 2. Se han identificado varios antígenos enriquecidos con LCR y se han producido al menos dos anticuerpos diferentes para cada antígeno. Las mezclas de cada uno de los dos conjuntos de IgG se añaden a las porciones móviles e inmovilizadas de la tira reactiva (véase la Figura 2), respectivamente. El ensayo de antígenos múltiples funciona mediante la aplicación de una concentración de anticuerpos para un antígeno particular que está por debajo del umbral de detección cuando todas las moléculas de anticuerpo están unidas. En el ensayo se utiliza una mezcla de varios anticuerpos, cada uno por debajo de los niveles de umbral. Cuando se añade LCR, todos los anticuerpos se unen y se acumulan produciendo una señal positiva. La forma de realización óptima usará al menos 5-6 antígenos diferentes con un umbral de detección de 4, por lo que la pérdida de un antígeno único no causará un falso negativo. En una forma de realización, el dispositivo o prueba comprende de 4 a 10 anticuerpos diferentes, cada uno de los cuales se une específicamente a un antígeno LCR diferente, incluido el precursor del homólogo 3 de dickkopf, ADNc FLJ59893 (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gij40548389); o una forma fosforilada o desfosforilada enriquecida con LCR de los mismos, en donde una prueba positiva no requiere la unión a todos los anticuerpos. La acumulación de IgG/antígeno en la tira reactiva es lineal y se utilizan niveles por debajo del umbral para la detección individual de cada anticuerpo, por lo que solo la adición de otros anticuerpos positivos producirá una reacción positiva. En una respuesta positiva que requiera la acumulación de al menos 4 IgG/antígenos, el ensayo será más fuerte ante las fluctuaciones en los niveles de cualquier antígeno. El ensayo también será más fuerte ante los aumentos aberrantes en la inmunorreactividad de antígeno único en fluidos corporales contaminantes. La inmunorreactividad artificial de 1-3 de los antígenos no producirá una prueba positiva, por lo tanto, la prueba será más sólida y producirá menos falsos positivos.

#### Identificación de proteínas enriquecidas con LCR:

Las muestras de LCR de 1-40 individuos se agrupan y se analizan 200 µl de las muestras agrupadas. Se agrupan muestras de sueros de 1-40 individuos y se analiza 1 ml de sueros agrupados. Las proteínas principales compartidas por la sangre y el LCR (es decir, albúmina, inmunoglobinas, etc.) se eliminaron de ambas muestras mediante cromatografía de afinidad repetida.

Etiqueta *in vitro* de 50 µg del extracto de proteína de control y 50 µg del extracto de proteína experimental con colorantes de GE Healthcare Cy-3 y Cy-5 N-hidroxisuccinimidil éster. Estos tintes se han emparejado con respecto a la carga y la masa, reemplazando la única carga positiva del tinte la carga perdida por la lisina modificada o el extremo N de la proteína. Las proteínas marcadas con Cy-3 y Cy-5 migran conjuntamente, añadiendo la etiqueta del tinte aproximadamente 450 Da a las proteínas en cada muestra.

Se mezclaron entre sí muestras de control, experimentales y de patrones internos (es decir, 150 µg de proteína total) y luego se añadió un volumen igual de tampón de muestra 2X.

El volumen se llevó hasta 450 µl con tampón de rehidratación. Las tiras secas Immobiline™ (IPG) (GE Healthcare)



de 24 cm se rehidrataron durante 10-24 horas y se realizó un enfoque isoeléctrico. Se usaron varios intervalos de pH diferentes incluyendo: 3-7, 4-7, 3,5-4,5, 4,0-5,0, 4,5-5,5, 5,0-6,0, 5,5-6,7, y 6-9. La (segunda) dimensión de electroforesis en gel de poliacrilamida SDS se realizó en un gel de 10 pulgadas de ancho por 7,5 pulgadas de alto por 1,0 mm de espesor con un lado cubierto con Gelbond®. Se usó un gel de poliacrilamida al 12,5 % que separará de manera óptima las proteínas de 12-100 kD.

Inmediatamente después de SDS PAGE, el gel (que todavía se mantiene entre dos placas de vidrio) se explora en las 3 longitudes de onda simultáneamente en el generador de imágenes GE Healthcare Typhoon™ 9410. Después de la exploración, los archivos TIFF de 16 bits de cada canal de color se exportaron para el análisis de imágenes utilizando el módulo de análisis diferencial en gel del paquete de software GE Healthcare DeCyder. Después de la detección puntual (que incluye la corrección automática del fondo, la normalización del volumen puntual y el cálculo de la relación en volumen), se aplicó un "filtro de polvo" definido por el usuario a cada gel. Esto tiene el efecto de eliminar automáticamente las características de los puntos no proteicos del gel y va seguido del cálculo de nuevo de los parámetros experimentales.

Se eliminó la placa de vidrio frontal y luego se fijó el gel y se tiñó con Sypro Ruby, que es la tinción fluorescente que se usó como guía para eliminar los puntos de interés del gel. La razón para usar Sypro Ruby, que tiñe todas las proteínas en el gel, es que el etiquetado con tinte Cy se realiza de tal forma que el grado de incorporación será <5 % en términos de tinte Cy molar/proteína molar. Dado que el tinte Cy tiene un PM de aproximadamente 580 Da, las proteínas de bajo PM (por ejemplo, 10 Kd) marcadas con tintes Cy no co-migrarán exactamente en la dimensión SDS PAGE con sus equivalentes no marcados.

Se usó el software GE Healthcare DeCyder™ para cuantificar la imagen en gel y para identificar una "lista de selección" de puntos de proteínas expresados diferencialmente a eliminar y someter a una identificación de proteínas basada en MS. El software DeCyder™ puede analizar cualquiera de las dos imágenes en gel tintadas con Cy, ya sea en el mismo gel o en diferentes geles, hacer coincidir los puntos entre las dos imágenes, y después identificar los puntos de proteínas expresados de manera diferente. El software DeCyder™ genera automáticamente una lista de diferencias estadísticamente significativas en la expresión de proteínas, incluidos los valores de la prueba t, utilizando el patrón interno Cy-2. Los puntos expresados diferencialmente se identificaron utilizando una serie de criterios que incluyen área, volumen, pendiente de pico 3D, altura de pico 3D y/o variación estadística. Los puntos de proteínas que muestran diferentes grados de intensidad entre las dos muestras se resaltaron por el software y se confirmaron manualmente. El software DeCyder™ también se usó para analizar las imágenes de Sypro Ruby, hacer coincidir los puntos encontrados con la tinción Sypro con aquellos identificados con las tinciones de tinte Cy, y después elegir una "lista de selección" de la imagen en gel teñida con Sypro.

La lista de selección de puntos de proteínas se transfirió al instrumento Ettan™ Spot Picker (GE Healthcare), que eliminó automáticamente los puntos de proteínas seleccionados del gel y los transfirió a una placa de microtitulación de 96 pocillos.

Los puntos de proteína eliminados se sometieron entonces a digestión triptica en gel automatizada en el Ettan™ TA Digester.

Se detectó una alícuota de cada digestión (junto con la matriz) en una diana MALDI-MS.

Se adquirieron espectros de MALDI-MS/MS automatizados de alta precisión en cada diana (usando un instrumento Applied Biosystems 4800 Tof/Tof) y las masas peptídicas resultantes se sometieron a una búsqueda en la base de datos utilizando algoritmos Mascot.

Las alícuotas restantes de las digestiones de los puntos de proteínas que no se identificaron mediante este enfoque se sometieron a nanopulverización o análisis LC/MS/MS (Micromass Q-Tof), sometiéndose después los espectros de MS/MS resultantes a búsquedas en la base de datos Sequest para identificar las proteínas presentes en la muestra.

#### **Sitios de fosforilación de proteínas enriquecidas con LCR como antígenos para una tira reactiva de LCR:**

Durante el transcurso de la electroforesis en gel de diferencia de fluorescencia (DIGE) se identificaron experimentos para identificar proteínas enriquecidas con LCR, pero se identificaron puntos distribuidos en la dimensión del pH que estaban altamente enriquecidos con LCR (es decir, no presentes en muestras de sangre), sin embargo, tras la identificación de proteínas por LC-MS, se estableció que muchas de estas proteínas estaban, de hecho, presentes

en la sangre pero tenían patrones diferentes en la dimensión del pH del gel (Figura 6). Los puntos regularmente espaciados del mismo peso molecular a menudo representan versiones fosforiladas diferencialmente de la misma proteína. La migración diferencial y regular en la dimensión del pH es indicativa de la naturaleza grande pero cuántica de la carga negativa en los grupos  $\text{PO}_3^-$ . Tras el mapeo de los fosfopéptidos de estas matrices puntuales, se determinó que éste era de hecho el caso. Varias de estas proteínas (incluido el angiotensinógeno, (Figura 6) tenían fosforilaciones altamente enriquecidas con LCR. En algunos casos, estos sitios de fosforilación eran fosforilaciones de serina/treonina, y en otros casos eran fosforilaciones de tirosina. En total, las proteínas se seleccionaron con múltiples sitios enriquecidos con LCR por proteína (es decir, angiotensinógeno). Como es posible producir anticuerpos que reconocen un solo epítipo solo cuando está fosforilado, los sitios de fosforilación se incluirán como antígenos en los ensayos descritos en el presente documento. Estos epítopos fosforilados son atractivos como candidatos ya que son muy prevalentes y la presencia de dos sitios de fosforilación enriquecidos con LCR en una sola proteína abre la puerta a la producción de pares de anticuerpos con respecto a diferentes sitios que se pueden usar de manera diferencial en las regiones móviles e inmóviles de la tira para requerir una doble fosforilación para una respuesta positiva. Se han ejecutado geles DIGE que comparan proteínas de LCR que se han desfosforilado con fosfatasa alcalina (Figura 9). Esto ha identificado proteínas enumeradas en el presente documento como fosforiladas diferencialmente en el LCR.

La identificación de antígenos se realiza utilizando electroforesis en gel bidimensional DIGE seguida de digestión con tripsina y LC-MS. Las proteínas dominantes tanto en la sangre como en el LCR se eliminan mediante columnas de afinidad antes de la electroforesis. Estas proteínas están presentes de manera ubicua en los fluidos corporales (es decir, albúmina, inmunoglobinas, etc.). Se ejecutan todas las muestras en columnas de forma doble para eliminar 14 proteínas séricas dominantes. Se ejecutaron las proteínas extraídas de 1-2 ml de sangre completa en geles junto con proteínas de 200  $\mu\text{l}$  de LCR. Esto enriqueció las proteínas de la sangre para asegurar que se están identificando proteínas que están enriquecidas en el LCR. Las proteínas del LCR se etiquetan utilizando fluoróforos Cy3 o Cy5. En contraste, las proteínas de la sangre se etiquetan con Cy5 o Cy3, respectivamente. Después, las muestras se mezclan y se cargan en un gel PAGE bidimensional. Se ejecutan numerosos geles diferentes que se enfocan en diferentes regiones de la dimensión de masa molecular (dimensión Y) y la dimensión del pH (dimensión X). Después de la ejecución del gel, la intensidad de las proteínas marcadas con fluorescencia visualizadas diferencialmente se cuantifica y se compara mediante un programa informático automatizado. Los puntos que están enriquecidos en al menos 5 veces en el LCR se recogen de forma robótica, se digieren con tripsina y se analizan mediante LC-MS. Los pesos moleculares peptídicos se comparan con las bases de datos publicadas. Las proteínas enriquecidas se seleccionan como candidatas y se emplea metodología biológica molecular estándar para la producción de proteínas recombinantes marcadas con histidina en bacterias o, como alternativa, los péptidos correspondientes a regiones específicas de las proteínas se producen de forma sintética. Los anticuerpos monoclonales y policlonales se producen por una casa comercial utilizando los antígenos proporcionados. La purificación por afinidad se realiza mediante técnicas de columna estándar que utilizan columnas activadas con bromuro de cianógeno y proteínas recombinantes utilizadas para la inmunización. Los antígenos específicos de LCR se identifican mediante digestión con tripsina y quimiotripsina, seguida de LC-MS y determinación de fosfopéptidos.

La validación de anticuerpos enriquecidos con LCR se realiza mediante la separación de volúmenes discretos de proteínas de fluidos corporales en SDS-PAGE, la transferencia a membranas de nitrocelulosa, la inmunotransferencia primero con anticuerpos primarios contra los antígenos y luego los anticuerpos secundarios marcados con HRP seguidos de la cuantificación de ECL. Se buscan antígenos que tienen una inmunorreactividad  $>5x$  en el LCR en niveles superiores a los volúmenes más grandes de sangre entera, efluentes nasales y de los oídos, lágrimas, saliva o sudor. Se analizan muestras de fluidos corporales de 20 a 30 individuos diferentes de cada uno para cada antígeno. Las muestras de fluidos se adquieren en laboratorios comerciales que garantizan la pureza o se recogen directamente. Los fluidos corporales se analizan en individuos de edades comprendidas entre bebés y ancianos (75 años), hombres y mujeres, así como varias afecciones patológicas comunes (es decir, diabetes en etapa avanzada, enfermedad coronaria, asma, etc.).

Para identificar los antígenos específicos del estado de fosforilación, se producen geles bidimensionales como se ha descrito anterior; sin embargo, se producen tres fracciones de proteínas marcadas (Cy2, Cy3 y Cy5): LCR, sangre entera y proteínas de LCR en las que todas las fosforilaciones de proteínas se han eliminado mediante fosfatasa alcalina en una etapa adicional antes del etiquetado. Después se realiza una comparación entre los canales de LCR desfosforilados y normales para determinar las alteraciones. Los puntos que desaparecen después de la desfosforilación y no están presentes en el canal de fluorescencia de la proteína de la sangre se recolectan y se secuencian. La identificación absoluta del sitio de fosforilación se determina mediante el análisis de fosfopéptidos y fosfoaminoácidos, la fosforilación *in vitro* de proteínas recombinantes y fragmentos de proteínas y la inmunorreactividad con anticuerpos específicos de fosfoestado.

Una vez que los anticuerpos se han seleccionado para su uso en las tiras reactivas, la afinidad relativa de cada uno de los anticuerpos se determinará mediante la ejecución de curvas de dilución utilizando muestras puras de antígenos recombinantes. Esto guiará la mezcla de anticuerpos para su inclusión en las tiras reactivas.

5

En una forma de realización, se incluyen en el presente documento el uso de dispositivos y métodos para realizar pruebas rápidas, junto al paciente en cama o en la clasificación, de fluidos corporales, sitios quirúrgicos o heridas para detectar la presencia de líquido cefalorraquídeo. En otra forma de realización, se propone una prueba que permite la detección de proteínas enriquecidas con LCR en muestras de sangre, plasma o sueros como una indicación de lesión, brecha o daño en el sistema nervioso central (SNC). Las pruebas pueden incluir uno o varios de los antígenos descritos en el presente documento además del precursor del homólogo 3 de dickkopf, ADNc FLJ59893 (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gij40548389); o una forma fosforilada o desfosforilada enriquecida con LCR de los mismos como marcadores de daño al SNC. En el presente documento se describen antígenos enriquecidos o específicos del LCR recién identificados que pueden usarse individualmente o en combinación, además del precursor de homólogo de dickkopf 3, ADNc FLJ59893 (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gij40548389); o una forma fosforilada o desfosforilada enriquecida con LCR de los mismos para detectar LCR en un amplio espectro de individuos, desde pediátricos hasta geriátricos, y a pesar de la presencia de enfermedades, hábitos personales o variabilidad genética individual que podrían alterar la composición de los fluidos corporales.

10

15

20 En una forma de realización, en el presente documento se incluye el uso de dispositivos para la detección de líquido cefalorraquídeo en muestras tales como las sospechosas de contener líquido cefalorraquídeo, en donde los dispositivos pueden incluir además de un anticuerpo contra el precursor de homólogo de dickkopf 3, ADNc FLJ59893 (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gij40548389); o una forma fosforilada o desfosforilada enriquecida con LCR del mismo, uno o más anticuerpos específicos para uno o más de los antígenos en LCR como se ha descrito anteriormente. Los antígenos en LCR pueden emplearse en combinaciones para mejorar la relación señal-ruido y superar la variabilidad individual en la expresión de los antígenos descritos anteriormente en diferentes fluidos corporales. En algunas formas de realización, la detección de múltiples antígenos proporciona una sensibilidad y selectividad superiores a la detección de un único antígeno enriquecido con LCR.

25

30 En una forma de realización, en el presente documento se describe el uso de dispositivos para la detección de líquido cefalorraquídeo en muestras tales como las sospechosas de contener líquido cefalorraquídeo, en donde los dispositivos pueden incluir además de un anticuerpo contra el precursor de homólogo de dickkopf 3, ADNc FLJ59893 (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gij40548389); o una forma fosforilada o desfosforilada enriquecida con LCR del mismo, uno o más anticuerpos específicos para uno o más antígenos en LCR en un estado de modificación postraduccional que sea específico para el líquido cefalorraquídeo y se pueda distinguir del mismo antígeno en otros líquidos corporales en virtud de la modificación postraduccional.

35

En algunas formas de realización, en el presente documento se describe el uso de dispositivos para la detección de líquido cefalorraquídeo en muestras tales como las sospechosas de contener líquido cefalorraquídeo, en donde los dispositivos pueden incluir además de un anticuerpo contra el precursor de homólogo de dickkopf 3, ADNc FLJ59893 (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gij40548389); o una forma fosforilada o desfosforilada enriquecida con LCR del mismo, uno o más anticuerpos específicos para uno o más antígenos en LCR en un estado de fosforilación que sea específico para el líquido cefalorraquídeo y se pueda distinguir del mismo antígeno en otros líquidos corporales en virtud de la fosforilación.

40

45

Las muestras para las pruebas utilizando los dispositivos divulgados en el presente documento pueden tomarse de diferentes sitios en el cuerpo humano, tal como en un sitio de cirugía (es decir, cirugías de cabeza, cuello, orejas, garganta, nasales o espinales) donde existe la posibilidad de fugas potenciales de LCR; en un sitio de inyección epidural o punción espinal; o en un sitio de heridas en áreas donde es posible una rotura de las meninges (es decir, cabeza, cuello, médula espinal, compartimiento nasal, nariz, orejas, garganta, cráneo, etc.), o donde la parte lesionada demuestra signos de una posible rotura de meninges o lesión grave del sistema nervioso central; o en un sitio de inyección epidural, inyección espinal o punción espinal. Los antígenos identificados en el presente documento son marcadores particularmente buenos para la lesión cerebral. Las muestras adicionales incluyen muestras de saliva y orina.

50

55

El enfoque único de realizar estudios DIGE 2D para comparar los componentes del LCR humano y el suero ha producido una serie de antígenos que son específicos para, o muy enriquecidos con LCR. Los anticuerpos específicos para estos antígenos son marcadores de la presencia de LCR en fluidos corporales, o en sitios de heridas, quirúrgicos o de inyecciones donde su presencia sería atípica y podría amenazar la salud o la vida de un

paciente o víctima de un trauma.

En algunas formas de realización, los antígenos en LCR descritos anteriormente tienen modificaciones postraduccionales tales como fosforilación, glucosilación, sumoilación, ubiquitinación, lipidación, nitrosilación, acetilación, modificación de proteínas por nedd-8, donde estas modificaciones postraduccionales son específicas de la forma del LCR del antígeno y pueden usarse por el ensayo de flujo lateral, transferencias de western, ELISA o inmunoprecipitación.

En algunas formas de realización, pueden usarse múltiples antígenos, incluyendo el precursor del homólogo de dickkopf 3, ADNc FLJ59893 (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gij40548389); o una forma fosforilada o desfosforilada enriquecida con LCR del mismo, y pueden incluir combinaciones de anticuerpos que detectan antígenos simples (es decir, antígenos no modificados) con anticuerpos que detectan antígenos modificados postraduccionales tales como los descritos anteriormente y en cualquiera de los diversos ensayos, flujo lateral, transferencia de Western, ELISA o inmunoprecipitación.

En una forma de realización, los anticuerpos se usan para determinar si una muestra contiene, además del precursor del homólogo de dickkopf 3, ADNc FLJ59893 (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gij40548389); o una forma fosforilada o desfosforilada enriquecida con LCR del mismo, polipéptidos asociados con la presencia de LCR que indican la presencia o ausencia de LCR. La unión del anticuerpo se detecta, por ejemplo, mediante radioinmunoensayo, ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), inmunoensayos de tipo "sándwich", ensayos inmunoradiométricos, resonancia de plasmón superficial, inmunocitoquímica, inmunohistoquímica, reacciones de precipitación por difusión de gel, ensayos de inmunodifusión, inmunoensayos *in situ* (por ejemplo, utilizando etiquetas de oro coloidal, enzimas o radioisótopos, por ejemplo), transferencias de Western, reacciones de precipitación, ensayos de aglutinación (por ejemplo, ensayos de aglutinación en gel, ensayos de hemaglutinación, etc.), ensayos de fijación del complemento, ensayos de inmunofluorescencia, ensayos de proteína A y ensayos de inmunoelectroforesis, y similares. La detección de la unión del anticuerpo se puede lograr utilizando métodos enzimáticos, colorimétricos, fluorescentes, bioluminiscentes, luminiscentes, de perlas de látex coloreadas, oro coloidal y/o plata.

En una forma de realización, la unión del anticuerpo se detecta detectando una etiqueta en el anticuerpo primario. En otra forma de realización, el anticuerpo primario se detecta detectando la unión de un anticuerpo secundario o reactivo al anticuerpo primario. En una forma de realización adicional, el anticuerpo secundario está marcado. Se conocen muchos métodos en la técnica para detectar la unión en un inmunoensayo.

En algunas formas de realización, se utiliza un ensayo de detección automatizado. Los métodos para la automatización de inmunoensayos incluyen los descritos en las Pat. de Estados Unidos N.º 5.885.530, 4.981.785, 6.159.750, y 5.358.691. En algunas formas de realización, el análisis y presentación de resultados también es automatizado. Por ejemplo, en algunas formas de realización, se utiliza un software que genera una puntuación que se correlaciona con la presencia de polipéptidos específicos y la probabilidad de LCR en una muestra basada en el resultado del inmunoensayo.

En otras formas de realización, el inmunoensayo es como se describe en la Pat. de Estados Unidos N.º 5.599.677 y 5.672.480.

En el presente documento se proporcionan anticuerpos aislados o fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, fragmentos Fab, fragmentos Fab<sub>2</sub> y similares). Se pueden generar anticuerpos para permitir la detección de polipéptidos asociados con la presencia de LCR. Los anticuerpos se preparan utilizando diversos polipéptidos, péptidos sintéticos y/o proteínas recombinantes asociadas con la presencia de LCR y fragmentos de los mismos. En una forma de realización, los inmunógenos utilizados para generar anticuerpos que reconocen los polipéptidos asociados con la presencia de LCR son polipéptidos, péptidos sintéticos y/o proteínas recombinantes asociadas con la presencia de LCR. En una forma de realización, el anticuerpo es reactivo con una proteína nativa o "plegada". En otra forma de realización, un anticuerpo es reactivo con la proteína desnaturalizada (incluido el detergente solubilizado). Dichos anticuerpos incluyen, pero sin limitación, anticuerpos policlonales, monoclonales, quiméricos, monocatenarios, fragmentos Fab, bibliotecas de expresión de Fab, o recombinantes (por ejemplo, quiméricos, humanizados, etc.), siempre que puedan reconocer la proteína. Los anticuerpos pueden producirse usando una proteína o péptido como antígeno de acuerdo con un proceso de preparación de anticuerpos o antisuero convencional.

Se utilizan diversos procedimientos para la producción de anticuerpos policlonales dirigidos contra polipéptidos

asociados con la presencia de LCR. Para la producción de un anticuerpo, se inmunizan diversos animales huésped mediante inyección con los polipéptidos, péptidos sintéticos y/o proteínas recombinantes asociadas con la presencia de LCR o un fragmento de las mismas, incluyendo, pero sin limitación, conejos, ratones, ratas, ovejas, cabras, pollos, burros, etc. En un caso específico, el péptido se conjuga con un vehículo inmunógeno (por ejemplo, toxoide diftérico, albúmina de suero bovino (BSA) o hemocianina de lapa californiana (KLH)). Se pueden usar diversos adyuvantes para aumentar la respuesta inmunológica, dependiendo de la especie huésped, incluyendo, pero sin limitación, adyuvantes de Freund (completos e incompletos), geles minerales (por ejemplo, hidróxido de aluminio), sustancias de superficie activa (por ejemplo, lisolecitina, polioles plurónicos, polianiones, péptidos, emulsiones de aceite, hemocianinas de lapa californiana, dinitrofenol, y adyuvantes humanos potencialmente útiles tal como BCG (bacilo Calmette-Guerin) y *Corynebacterium parvum*).

Para la preparación de anticuerpos monoclonales dirigidos hacia polipéptidos, péptidos sintéticos y proteínas recombinantes asociadas con la presencia de LCR, se contempla que una técnica que proporcione la producción de moléculas de anticuerpo por líneas celulares continuas en cultivo encontrará uso en el presente documento. Estas incluyen, pero sin limitación, la técnica de hibridoma desarrollada originalmente por Kohler y Milstein, así como la técnica de trioma, la técnica de hibridoma de linfocitos B humanos y la técnica de hibridoma de VEB para producir anticuerpos monoclonales humanos.

En casos adicionales, los anticuerpos monoclonales se producen en animales libres de gérmenes. Además, se contempla que los anticuerpos humanos se generarán por hibridomas humanos o por transformación de linfocitos B humanos con el virus VEB *in vitro*.

Además, se contempla que las técnicas descritas para la producción de anticuerpos monocatenarios encontrarán uso en la producción de anticuerpos monocatenarios. Una forma de realización adicional utiliza las técnicas descritas para la construcción de bibliotecas de expresión de Fab para permitir la identificación rápida y fácil de fragmentos Fab monoclonales con la especificidad deseada.

En otras formas de realización, se contempla el uso de anticuerpos recombinantes o fragmentos de los mismos para polipéptidos asociados con la presencia de LCR. Los anticuerpos recombinantes incluyen, pero sin limitación, anticuerpos humanizados y quiméricos. Los métodos para generar anticuerpos recombinantes se conocen en la técnica.

Se contempla que una técnica adecuada para producir fragmentos de anticuerpos encontrará uso en la generación de fragmentos de anticuerpos que contengan el idiotipo (región de unión a antígeno) de la molécula de anticuerpo. Por ejemplo, dichos fragmentos incluyen, pero sin limitación: Fragmento F(ab')<sub>2</sub> que puede producirse por digestión con pepsina de la molécula de anticuerpo; fragmentos Fab' que pueden generarse reduciendo los puentes disulfuro del fragmento F(ab')<sub>2</sub>, y fragmentos Fab que pueden generarse tratando la molécula de anticuerpo con papaína y un agente reductor.

En una forma de realización, la unión del anticuerpo se detecta detectando una etiqueta en el anticuerpo primario. En otra forma de realización, el anticuerpo primario se detecta detectando la unión de un anticuerpo secundario o reactivo al anticuerpo primario. En una forma de realización adicional, el anticuerpo secundario está marcado. El péptido inmunogénico puede proporcionarse libre de la molécula portadora usada en cualquier protocolo de inmunización. Por ejemplo, si el péptido se conjugó con KLH, se puede conjugar con BSA, o se puede usar directamente en un ensayo de selección.

Los anticuerpos anteriores pueden usarse en métodos conocidos en la técnica relacionados con la localización y estructura de polipéptidos asociados con la presencia de LCR (por ejemplo, para transferencia de Western), midiendo los niveles de los mismos en muestras biológicas apropiadas, etc. Los anticuerpos pueden usarse para detectar polipéptidos asociados con la presencia de LCR en una muestra biológica de un individuo. La muestra biológica es un fluido biológico, tal como, pero sin limitación, tejido, sangre, suero, plasma, orina, efluentes nasales y de los oídos, saliva, sudor, lágrimas y similares. En una forma de realización, la muestra es de un individuo que se sospecha que tiene un traumatismo craneal, tal como un traumatismo craneal leve recibido durante la participación en eventos deportivos, accidentes automovilísticos, una actividad militar y accidentes de motocicleta. La prueba sería más útil cuando la lesión sea de gravedad leve a moderada. El traumatismo craneal más grave, incluyendo las lesiones penetrantes, generalmente ya reciben el nivel necesario de atención médica. El diagnóstico de lesiones cerebrales traumáticas generalmente requiere un breve examen neurológico (GCS). Las designaciones precisas de leve y moderado a veces son difíciles de identificar objetivamente sin un valor inicial reciente previo a la lesión. Otras lesiones o tratamientos (sedantes, anestésicos, etc.) pueden interferir con la prueba. El conjunto actual de antígenos

puede representar "biomarcadores" que podrían usarse para "representar" la existencia y la gravedad de un traumatismo craneal. Se puede utilizar una prueba rápida cualitativa o cuantitativa de la existencia de un subconjunto de estos antígenos en la sangre u otros fluidos corporales (sudor, orina, saliva, etc.) como medida de la gravedad de una lesión en combinación con un GCS o cualquier examen neurológico. A menudo, no se conoce la gravedad de un traumatismo craneal leve a moderado y hasta qué punto la persona debe continuar participando en actividades críticas (es decir, continuar participando en un evento deportivo, continuar trabajando o conduciendo un vehículo, permanecer en el campo de combate, continuar asumiendo una posición de mando en combate, operar maquinaria pesada, etc.). Una prueba más objetiva de proteínas transmitidas por la sangre o proteínas secretadas que normalmente se encuentran enriquecidas solo en el LCR representará una prueba de diagnóstico de lesión.

Las muestras biológicas se pueden analizar entonces directamente para determinar la presencia de polipéptidos asociados con la presencia de LCR usando una estrategia (por ejemplo, ELISA o radioinmunoensayo) y formato apropiados (por ejemplo, micropocillos, varilla de medición (por ejemplo, como se describe en la Publicación de Patente Internacional WO 93/03367), etc. Como alternativa, las proteínas en la muestra pueden separarse por tamaño (por ejemplo, mediante electroforesis en gel de poli(acrilamida) (PAGE), en presencia o no de dodecilsulfato de sodio (SDS) Triton, Nonidet (u otro detergente iónico o no iónico), y la presencia de un antígeno en LCR detectado por inmunotransferencia (transferencia de Western). Las técnicas de inmunotransferencia son generalmente más eficaces con los anticuerpos generados contra un péptido que corresponde a un epítipo de una proteína, y por lo tanto, son particularmente adecuados para la presente divulgación.

La etapa de correlación mencionada anteriormente puede implementarse cualitativa o cuantitativamente, por ejemplo, en un ensayo fluorofórico o colorimétrico.

#### **Kits y dispositivos:**

En el presente documento también se describen kits y dispositivos para determinar si una muestra contiene polipéptidos asociados con la presencia de LCR. Los kits y dispositivos de diagnóstico se producen de varias maneras. En algunos casos, los kits y dispositivos contienen al menos un reactivo para detectar específicamente un polipéptido asociado con la presencia de LCR. En casos más específicos, los kits y dispositivos contienen múltiples reactivos para detectar polipéptidos asociados con la presencia de LCR. En otros casos, los reactivos son anticuerpos que se unen preferiblemente a polipéptidos asociados con la presencia de LCR. La prueba puede producir un solo resultado que indique la presencia de LCR de varias (2-10) pruebas para antígenos múltiples o cada prueba puede producir un resultado evidente diferente que puede interpretarse para indicar la presencia o ausencia de LCR.

En algunos casos, el kit o dispositivo contiene instrucciones para determinar si la muestra contiene polipéptidos asociados con la presencia de LCR. En casos específicos, las instrucciones especifican que la presencia o ausencia de LCR se determina detectando la presencia o ausencia de polipéptidos asociados con la presencia de LCR en una muestra del sujeto.

En algunos casos, los kits y dispositivos incluyen reactivos auxiliares tales como agentes tamponantes, reactivos estabilizadores de proteínas y sistemas que producen señales (por ejemplo, sistemas generadores de fluorescencia tales como sistemas FRET). El kit o dispositivo de prueba se empaqueta de una manera adecuada, típicamente con los elementos en un solo recipiente o varios recipientes, según sea necesario, junto con una hoja de instrucciones para realizar la prueba. En algunos casos, los kits o dispositivos también incluyen una muestra de control positivo. En otros casos, el kit o dispositivo contiene material de referencia comparativo para interpretar la presencia o ausencia de polipéptidos asociados con la presencia de LCR según la intensidad, el espectro de color u otro atributo físico de un indicador.

La necesidad de una prueba de diagnóstico rápida, reproducible, sensible y sencilla, que se pueda usar en la atención médica para diagnosticar el LCR, es de gran importancia. Tal prueba tiene la ventaja obvia sobre las pruebas de laboratorio existentes, es decir, electroforesis por inmunofijación, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) e inmunotransferencia, ya que puede realizarse inmediatamente al lado del paciente dando un resultado en unos pocos minutos de tiempo en lugar de varios días cuando la muestra se envía para su análisis a un laboratorio. Se puede utilizar una prueba inmunocromatográfica de flujo lateral para hacer un kit de diagnóstico para la detección de LCR en fluidos biológicos.

En un caso, un dispositivo incluye una fase sólida que comprende una primera región que comprende un indicador móvil adecuado para unirse a un antígeno en LCR, y una segunda región que comprende un indicador fijo adecuado

para unirse al antígeno en LCR.

En un caso, un dispositivo de flujo lateral comprende una tira reactiva opcionalmente con un casete de prueba de plástico. Los anticuerpos están unidos a tres zonas diferentes en la membrana; una zona de muestra (S) que  
5 contiene un primer anticuerpo monoclonal contra un polipéptido asociado con la presencia de LCR; una zona de prueba (T) que contiene un segundo anticuerpo monoclonal o policlonal contra polipéptidos asociado con la presencia de LCR inmovilizado en la membrana; y una zona de control (C), que contiene un anticuerpo de control, por ejemplo, un anticuerpo anti-ratón de conejo inmovilizado. El primer anticuerpo monoclonal en la zona de muestra (S) puede conjugarse con una partícula móvil, por ejemplo, una partícula de látex coloreada o una partícula de oro.  
10 Como alternativa, el primer anticuerpo monoclonal se conjuga con un indicador cromofórico, tal como una molécula o etiqueta fluorescente (Proteína Fluorescente Verde (GFP) o mutantes de ortólogos de FP y otras proteínas fluorescentes de tipo GFP de origen natural y cromoproteínas, fluoresceína (y ortólogos), rodamina (y ortólogos), Cy3, Cy5, Cy2, Cy7, Cy8, tintes Alexa®, Texas Red, y similares).

15 Se implementa un dispositivo ejemplar que utiliza una prueba inmunocromatográfica basada en el uso de dos anticuerpos monoclonales. La muestra se añade a la zona S, y si el polipéptido asociado con la presencia de LCR está presente, se une al primer anticuerpo monoclonal para formar un complejo de polipéptido-conjugado. Este complejo migra cromatográficamente en la membrana, y cuando alcanza el anticuerpo inmovilizado en la zona T, tiene lugar la aglutinación y se forma una banda de color azul.

20 Brevemente y en un caso, el primer anticuerpo monoclonal se conjuga con una partícula móvil, por ejemplo, perlas de oro o látex. Estas perlas tienen el color intrínseco de ser rojas (para el oro) o pueden venir en diferentes colores si se usan perlas de látex. Cuando la muestra se aplica en la "zona S", el marcador, un polipéptido asociado con la presencia de LCR, si está presente en la muestra, se une al primer anticuerpo monoclonal que se conjuga con las  
25 perlas y luego debido a la almohadilla absorbente de flujo lateral en la que se colocan las perlas, el complejo (perlas + anticuerpo + polipéptido, si está presente en la muestra) migra lateralmente. Una vez que el complejo alcanza la "zona T" donde el segundo anticuerpo se inmoviliza en la tira, el marcador, que ahora está migrando con el complejo, se une al segundo anticuerpo inmovilizado. A medida que el segundo anticuerpo es estacionario/fijo/inmovilizado, todo el complejo queda atrapado y como el complejo ahora contiene perlas de colores,  
30 la línea de la zona T inmovilizada se ilumina de acuerdo con las perlas que se usan (rojo para oro o colores diferentes {como azul} si se usan perlas de látex). El exceso de muestra de complejo migra al final de la tira y, en la "zona C", el primer anticuerpo conjugado con las perlas queda atrapado por un anticuerpo anti-ratón de conejo inmovilizado/fijo/estacionario y da una línea de color que indica que la prueba está completa). Por lo tanto, una banda de color indica un resultado positivo. Ninguna banda en la zona T es significativa para un resultado negativo.  
35 El anticuerpo policlonal inmovilizado en la zona C se unirá al conjugado de látex con muestras tanto positivas como negativas. Esta banda azul asegura un correcto rendimiento de la prueba.

En la práctica, los kits y dispositivos se utilizan en una diversidad de entornos clínicos para determinar la presencia de LCR en una muestra.

40 La invención se ilustra mediante los siguientes ejemplos no limitativos. Ejemplos:

Los antígenos específicos de LCR recién identificados en el presente documento incluyen la Isoforma 1 de proteína de tipo molécula de adhesión celular neural (Número de Acceso gi|62088238); Cadena A, mesotripsina humana en  
45 complejo con el inhibidor de tripsina pancreática bovina (Bpti) (Número de acceso gi|162330095); Contactina 2 CNTN2 (Número de Acceso gi|4827022); Isoforma 2 de Contactina 1 CNTN1 (Número de Acceso gi:28373119); ADNc muy similar a la proteína 1 de tipo SPARC (Número de Acceso: gi|194388050); fragmento posiblemente ligeramente más largo (~96 kDa) de la proteína NRCAM (molécula de adhesión celular neuronal)[Homo sapiens] (Número de acceso: gi|68534652 y gi|109731501); molécula 2 de adhesión celular neural NCAM2 (Número de  
50 Acceso gi|119630409); inhibidor de serpina peptidasa SERPINA3, clado A, precursor del elemento 3/Isoforma 1 de alfa-1-antiquimiotripsina/proteína de inhibición del crecimiento 25 [Homo sapiens] o fragmento ligeramente más largo del precursor de alfa-1-antiquimiotripsina (Número de acceso gi|46981961); Angiotensinógeno AGT (Número de Acceso gi|553181); precursor de angiotensinógeno (Serpina A8) (Número de Acceso gi|4557287); producto proteico anónimo también denominado superfamilia de inmunoglobulinas, elemento 4B; en seres humanos, también se  
55 denomina molécula de adhesión celular 3; fragmento posible (Número de Acceso gi|187608363); precursor de homólogo de dickkopf 3, ADNc FLJ59893 (Número de Acceso gi|40548389); inhibidor de serina (o cisteína) proteinasa SERPINF1, clado F (alfa-2 antiplasmina, factor derivado del epitelio pigmentario), factor de la isoforma 4 del elemento 1 [Pan troglodytes] (Número de Acceso gi|15988024); proteína de unión a vitamina D GC PREVISTA: proteína de unión a vitamina D [Pan troglodytes] (Número de Acceso 181482); antígeno CD14 de monocitos

- humanos CD14 (CD14) (Número de acceso gi|117646212); molécula de adhesión celular de Homo sapiens 3 CADM3 (CADM3), variante de transcripción 1 (Número de acceso gi|90080503; gi|187608363 (humana); variante de molécula de adhesión celular neural (Número de Acceso gi2088238); ADNc CLU FLJ57622, muy similar a clusterina (Número de acceso gi|189054091); proteína muy similar a clusterina (Número de acceso gi|193787502);  
 5 proteína de la membrana integral vesicular LMAN2 VIP36 (Número de acceso gi|157834800); superóxido dismutasa 3, precursor extracelular (Número de acceso gill 18582275); fragmento del extremo C de fibrina alfa (Número de acceso gi|223057); Isoforma 1 de calicreína 6 KLK6 (Número de acceso gi|21465970); componente P de amiloide sérico APCS/Cadena A, La estructura del componente P amiloide sérico humano pentamérico (Número de acceso gi|576259); proteína FAM3C FAM3C/familia con similitud de secuencia 3, precursor del elemento C [Homo sapiens]  
 10 nota = "proteína de osteoblastos prevista; inductor EMT de tipo interleucina (Número de acceso gi|55629272); Cadena A, Forma activa de calicreína humana 6 (Hk6) con inhibidor de benzamidina (Número de acceso gi|21465970); producto proteico anónimo [Macaca fascicularis] también denominado superfamilia de inmunoglobulinas, elemento 4B; en seres humanos, también se denomina molécula de adhesión celular 3; fragmento posible (Número de acceso gi|187608363); una forma desfosforilada o fosforilada enriquecida con LCR de  
 15 los antígenos en LCR anteriores; o una combinación de dos o más de los antígenos en LCR anteriores.

Los términos "un" y "una" en el presente documento no representan una limitación de cantidad, sino más bien representan la presencia de al menos uno de los elementos referenciados.

- 20 Todos los intervalos divulgados en el presente documento son inclusivos y combinables. Aunque la invención se ha descrito con referencia a una forma de realización preferida, los expertos en la técnica entenderán que se pretende que la invención no se limite a la forma de realización particular divulgada como el mejor modo contemplado para realizar esta invención, sino que la invención incluirá todas las formas de realización que estén dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

25

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Pieribone, Vincent

30

<120> DISPOSITIVO Y MÉTODOS PARA LA IDENTIFICACIÓN INMUNOLÓGICA DE LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

<130> AFI0004US2

35

<150> US 61/232.033

<151> 07-08-2009

40

<160> 29

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 1210

45

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1



ES 2 704 030 T3

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

ES 2 704 030 T3

Leu Pro Pro Leu His Ile Tyr Trp Met Asn Ile Glu Leu Glu His Ile  
 165 170 175  
 Glu Gln Asp Glu Arg Val Tyr Met Ser Gln Lys Gly Asp Leu Tyr Phe  
 180 185 190  
 Ala Asn Val Glu Glu Lys Asp Ser Arg Asn Asp Tyr Cys Cys Phe Ala  
 195 200 205  
 Ala Phe Pro Arg Leu Arg Thr Ile Val Gln Lys Met Pro Met Lys Leu  
 210 215 220  
 Thr Val Asn Ser Ser Asn Ser Ile Lys Gln Arg Lys Pro Lys Leu Leu  
 225 230 235 240  
 Leu Pro Pro Thr Glu Ser Gly Ser Glu Ser Ser Ile Thr Ile Leu Lys  
 245 250 255  
 Gly Glu Ile Leu Leu Leu Glu Cys Phe Ala Glu Gly Leu Pro Thr Pro  
 260 265 270  
 Gln Val Asp Trp Asn Lys Ile Gly Gly Asp Leu Pro Lys Gly Arg Glu  
 275 280 285  
 Ala Lys Glu Asn Tyr Gly Lys Thr Leu Lys Ile Glu Asn Val Ser Tyr  
 290 295 300  
 Gln Asp Lys Gly Asn Tyr Arg Cys Thr Ala Ser Asn Phe Leu Gly Thr  
 305 310 315 320  
 Ala Thr His Asp Phe His Val Ile Val Glu Glu Pro Pro Arg Trp Thr  
 325 330 335  
 Lys Lys Pro Gln Ser Ala Val Tyr Ser Thr Gly Ser Asn Gly Ile Leu  
 340 345 350  
 Leu Cys Glu Ala Glu Gly Glu Pro Gln Pro Thr Ile Lys Trp Arg Val  
 355 360 365  
 Asn Gly Ser Pro Val Asp Asn His Pro Phe Ala Gly Asp Val Val Phe  
 370 375 380  
 Pro Arg Glu Ile Ser Phe Thr Asn Leu Gln Pro Asn His Thr Ala Val  
 385 390 395 400  
 Tyr Gln Cys Glu Ala Ser Asn Val His Gly Thr Ile Leu Ala Asn Ala  
 405 410 415

ES 2 704 030 T3

Asn Ile Asp Val Val Asp Val Arg Pro Leu Ile Gln Thr Lys Asp Gly  
 420 425 430  
 Glu Asn Tyr Ala Thr Val Val Gly Tyr Ser Ala Phe Leu His Cys Glu  
 435 440 445  
 Phe Phe Ala Ser Pro Glu Ala Val Val Ser Trp Gln Lys Val Glu Glu  
 450 455 460  
 Val Lys Pro Leu Glu Gly Arg Arg Tyr His Ile Tyr Glu Asn Gly Thr  
 465 470 475 480  
 Leu Gln Ile Asn Arg Thr Thr Glu Glu Asp Ala Gly Ser Tyr Ser Cys  
 485 490 495  
 Trp Val Glu Asn Ala Ile Gly Lys Thr Ala Val Thr Ala Asn Leu Asp  
 500 505 510  
 Ile Arg Asn Ala Thr Lys Leu Arg Val Ser Pro Lys Asn Pro Arg Ile  
 515 520 525  
 Pro Lys Leu His Met Leu Glu Leu His Cys Glu Ser Lys Cys Asp Ser  
 530 535 540  
 His Leu Lys His Ser Leu Lys Leu Ser Trp Ser Lys Asp Gly Glu Ala  
 545 550 555 560  
 Phe Glu Ile Asn Gly Thr Glu Asp Gly Arg Ile Ile Ile Asp Gly Ala  
 565 570 575  
 Asn Leu Thr Ile Ser Asn Val Thr Leu Glu Asp Gln Gly Ile Tyr Cys  
 580 585 590  
 Cys Ser Ala His Thr Ala Leu Asp Ser Ala Ala Asp Ile Thr Gln Val  
 595 600 605  
 Thr Val Leu Asp Val Pro Asp Pro Pro Glu Asn Leu His Leu Ser Glu  
 610 615 620  
 Arg Gln Asn Arg Ser Val Arg Leu Thr Trp Glu Ala Gly Ala Asp His  
 625 630 635 640  
 Asn Ser Asn Ile Ser Glu Tyr Ile Val Glu Phe Glu Gly Asn Lys Glu  
 645 650 655  
 Glu Pro Gly Arg Trp Glu Glu Leu Thr Arg Val Gln Gly Lys Lys Thr  
 660 665 670

ES 2 704 030 T3

Thr Val Ile Leu Pro Leu Ala Pro Phe Val Arg Tyr Gln Phe Arg Val  
 675 680 685  
 Ile Ala Val Asn Glu Val Gly Arg Ser Gln Pro Ser Gln Pro Ser Asp  
 690 695 700  
 His His Glu Thr Pro Pro Ala Ala Pro Asp Arg Asn Pro Gln Asn Ile  
 705 710 715 720  
 Arg Val Gln Ala Ser Gln Pro Lys Glu Met Ile Ile Lys Trp Glu Pro  
 725 730 735  
 Leu Lys Ser Met Glu Gln Asn Gly Pro Gly Leu Glu Tyr Arg Val Thr  
 740 745 750  
 Trp Lys Pro Gln Gly Ala Pro Val Glu Trp Glu Glu Glu Thr Val Thr  
 755 760 765  
 Asn His Thr Leu Arg Val Met Thr Pro Ala Val Tyr Ala Pro Tyr Asp  
 770 775 780  
 Val Lys Val Gln Ala Ile Asn Gln Leu Gly Ser Gly Pro Asp Pro Gln  
 785 790 795 800  
 Ser Val Thr Leu Tyr Ser Gly Glu Asp Tyr Pro Asp Thr Ala Pro Val  
 805 810 815  
 Ile His Gly Val Asp Val Ile Asn Ser Thr Leu Val Lys Val Thr Trp  
 820 825 830  
 Ser Thr Val Pro Lys Asp Arg Val His Gly Arg Leu Lys Gly Tyr Gln  
 835 840 845  
 Ile Asn Trp Trp Lys Thr Lys Ser Leu Leu Asp Gly Arg Thr His Pro  
 850 855 860  
 Lys Glu Val Asn Ile Leu Arg Phe Ser Gly Gln Arg Asn Ser Gly Met  
 865 870 875 880  
 Val Pro Ser Leu Asp Ala Phe Ser Glu Phe His Leu Thr Val Leu Ala  
 885 890 895  
 Tyr Asn Ser Lys Gly Ala Gly Pro Glu Ser Glu Pro Tyr Ile Phe Gln  
 900 905 910  
 Thr Pro Glu Gly Val Pro Glu Gln Pro Thr Phe Leu Lys Val Ile Lys

ES 2 704 030 T3

915                                      920                                      925  
 Val Asp Lys Asp Thr Ala Thr Leu Ser Trp Gly Leu Pro Lys Lys Leu  
     930                                      935                                      940  
 Asn Gly Asn Leu Thr Gly Tyr Leu Leu Gln Tyr Gln Ile Ile Asn Asp  
     945                                      950                                      955                                      960  
 Thr Tyr Glu Ile Gly Glu Leu Asn Asp Ile Asn Ile Thr Thr Pro Ser  
                                     965                                      970                                      975  
 Lys Pro Ser Trp His Leu Ser Asn Leu Asn Ala Thr Thr Lys Tyr Lys  
                                     980                                      985                                      990  
 Phe Tyr Leu Arg Ala Cys Thr Ser Gln Gly Cys Gly Lys Pro Ile Thr  
                                     995                                      1000                                      1005  
 Glu Glu Ser Ser Thr Leu Gly Glu Gly Ser Lys Gly Ile Gly Lys  
     1010                                      1015                                      1020  
 Ile Ser Gly Val Asn Leu Thr Gln Lys Thr His Pro Val Glu Val  
     1025                                      1030                                      1035  
 Phe Glu Pro Gly Ala Glu His Ile Val Arg Leu Met Thr Lys Asn  
     1040                                      1045                                      1050  
 Trp Gly Asp Asn Asp Ser Ile Phe Gln Asp Val Ile Glu Thr Arg  
     1055                                      1060                                      1065  
 Gly Arg Glu Tyr Ala Gly Leu Tyr Asp Asp Ile Ser Thr Gln Gly  
     1070                                      1075                                      1080  
 Trp Phe Ile Gly Leu Met Cys Ala Ile Ala Leu Leu Thr Leu Leu  
     1085                                      1090                                      1095  
 Leu Leu Thr Val Cys Phe Val Lys Arg Asn Arg Gly Gly Lys Tyr  
     1100                                      1105                                      1110  
 Ser Val Lys Glu Lys Glu Asp Leu His Pro Asp Pro Glu Ile Gln  
     1115                                      1120                                      1125  
 Ser Val Lys Asp Glu Thr Phe Gly Glu Tyr Ser Asp Ser Asp Glu  
     1130                                      1135                                      1140  
 Lys Pro Leu Lys Gly Ser Leu Arg Ser Leu Asn Arg Asp Met Gln  
     1145                                      1150                                      1155

ES 2 704 030 T3

Pro Thr Glu Ser Ala Asp Ser Leu Val Glu Tyr Gly Glu Gly Asp  
 1160 1165 1170

His Gly Leu Phe Ser Glu Asp Gly Ser Phe Ile Gly Ala Tyr Ala  
 1175 1180 1185

Gly Ser Lys Glu Lys Gly Ser Val Glu Ser Asn Gly Ser Ser Thr  
 1190 1195 1200

Ala Thr Phe Pro Leu Arg Ala  
 1205 1210

<210> 2

<211> 224

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Ile Val Gly Gly Tyr Thr Cys Glu Glu Asn Ser Leu Pro Tyr Gln Val  
 1 5 10 15

Ser Leu Asn Ser Gly Ser His Phe Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Glu  
 20 25 30

Gln Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Tyr Lys Thr Arg Ile Gln Val  
 35 40 45

Arg Leu Gly Glu His Asn Ile Lys Val Leu Glu Gly Asn Glu Gln Phe  
 50 55 60

Ile Asn Ala Ala Lys Ile Ile Arg His Pro Lys Tyr Asn Arg Asp Thr  
 65 70 75 80

Leu Asp Asn Asp Ile Met Leu Ile Lys Leu Ser Ser Pro Ala Val Ile  
 85 90 95

Asn Ala Arg Val Ser Thr Ile Ser Leu Pro Thr Ala Pro Pro Ala Ala  
 100 105 110

Gly Thr Glu Cys Leu Ile Ser Gly Trp Gly Asn Thr Leu Ser Phe Gly  
 115 120 125

Ala Asp Tyr Pro Asp Glu Leu Lys Cys Leu Asp Ala Pro Val Leu Thr  
 130 135 140

Gln Ala Glu Cys Lys Ala Ser Tyr Pro Gly Lys Ile Thr Asn Ser Met  
 145 150 155 160

5

10

ES 2 704 030 T3

Phe Cys Val Gly Phe Leu Glu Gly Gly Lys Asp Ser Cys Gln Arg Asp  
 165 170 175

Ala Gly Gly Pro Val Val Cys Asn Gly Gln Leu Gln Gly Val Val Ser  
 180 185 190

Trp Gly His Gly Cys Ala Trp Lys Asn Arg Pro Gly Val Tyr Thr Lys  
 195 200 205

Val Tyr Asn Tyr Val Asp Trp Ile Lys Asp Thr Ile Ala Ala Asn Ser  
 210 215 220

<210> 3

<211> 1040

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 3

Met Gly Thr Ala Thr Arg Arg Lys Pro His Leu Leu Leu Val Ala Ala  
 1 5 10 15

Val Ala Leu Val Ser Ser Ser Ala Trp Ser Ser Ala Leu Gly Ser Gln  
 20 25 30

Thr Thr Phe Gly Pro Val Phe Glu Asp Gln Pro Leu Ser Val Leu Phe  
 35 40 45

Pro Glu Glu Ser Thr Glu Glu Gln Val Leu Leu Ala Cys Arg Ala Arg  
 50 55 60

Ala Ser Pro Pro Ala Thr Tyr Arg Trp Lys Met Asn Gly Thr Glu Met  
 65 70 75 80

Lys Leu Glu Pro Gly Ser Arg His Gln Leu Val Gly Gly Asn Leu Val  
 85 90 95

Ile Met Asn Pro Thr Lys Ala Gln Asp Ala Gly Val Tyr Gln Cys Leu  
 100 105 110

Ala Ser Asn Pro Val Gly Thr Val Val Ser Arg Glu Ala Ile Leu Arg  
 115 120 125

Phe Gly Phe Leu Gln Glu Phe Ser Lys Glu Glu Arg Asp Pro Val Lys  
 130 135 140

Ala His Glu Gly Trp Gly Val Met Leu Pro Cys Asn Pro Pro Ala His  
 145 150 155 160

5

10

ES 2 704 030 T3

Tyr Pro Gly Leu Ser Tyr Arg Trp Leu Leu Asn Glu Phe Pro Asn Phe  
 165 170 175  
 Ile Pro Thr Asp Gly Arg His Phe Val Ser Gln Thr Thr Gly Asn Leu  
 180 185 190  
 Tyr Ile Ala Arg Thr Asn Ala Ser Asp Leu Gly Asn Tyr Ser Cys Leu  
 195 200 205  
 Ala Thr Ser His Met Asp Phe Ser Thr Lys Ser Val Phe Ser Lys Phe  
 210 215 220  
 Ala Gln Leu Asn Leu Ala Ala Glu Asp Thr Arg Leu Phe Ala Pro Ser  
 225 230 235  
 Ile Lys Ala Arg Phe Pro Ala Glu Thr Tyr Ala Leu Val Gly Gln Gln  
 245 250 255  
 Val Thr Leu Glu Cys Phe Ala Phe Gly Asn Pro Val Pro Arg Ile Lys  
 260 265 270  
 Trp Arg Lys Val Asp Gly Ser Leu Ser Pro Gln Trp Thr Thr Ala Glu  
 275 280 285  
 Pro Thr Leu Gln Ile Pro Ser Val Ser Phe Glu Asp Glu Gly Thr Tyr  
 290 295 300  
 Glu Cys Glu Ala Glu Asn Ser Lys Gly Arg Asp Thr Val Gln Gly Arg  
 305 310 315 320  
 Ile Ile Val Gln Ala Gln Pro Glu Trp Leu Lys Val Ile Ser Asp Thr  
 325 330 335  
 Glu Ala Asp Ile Gly Ser Asn Leu Arg Trp Gly Cys Ala Ala Ala Gly  
 340 345 350  
 Lys Pro Arg Pro Thr Val Arg Trp Leu Arg Asn Gly Glu Pro Leu Ala  
 355 360 365  
 Ser Gln Asn Arg Val Glu Val Leu Ala Gly Asp Leu Arg Phe Ser Lys  
 370 375 380  
 Leu Ser Leu Glu Asp Ser Gly Met Tyr Gln Cys Val Ala Glu Asn Lys  
 385 390 395 400  
 His Gly Thr Ile Tyr Ala Ser Ala Glu Leu Ala Val Gln Ala Leu Ala  
 405 410 415



ES 2 704 030 T3

Pro Asp Phe Arg Leu Asn Pro Val Arg Arg Leu Ile Pro Ala Ala Arg  
420 425 430

Gly Gly Glu Ile Leu Ile Pro Cys Gln Pro Arg Ala Ala Pro Lys Ala  
435 440 445

Val Val Leu Trp Ser Lys Gly Thr Glu Ile Leu Val Asn Ser Ser Arg  
450 455 460

Val Thr Val Thr Pro Asp Gly Thr Leu Ile Ile Arg Asn Ile Ser Arg  
465 470 475 480

Ser Asp Glu Gly Lys Tyr Thr Cys Phe Ala Glu Asn Phe Met Gly Lys  
485 490 495

Ala Asn Ser Thr Gly Ile Leu Ser Val Arg Asp Ala Thr Lys Ile Thr  
500 505 510

Leu Ala Pro Ser Ser Ala Asp Ile Asn Leu Gly Asp Asn Leu Thr Leu  
515 520 525

Gln Cys His Ala Ser His Asp Pro Thr Met Asp Leu Thr Phe Thr Trp  
530 535 540

Thr Leu Asp Asp Phe Pro Ile Asp Phe Asp Lys Pro Gly Gly His Tyr  
545 550 555 560 565

Arg Arg Thr Asn Val Lys Glu Thr Ile Gly Asp Leu Thr Ile Leu Asn  
565 570 575

Ala Gln Leu Arg His Gly Gly Lys Tyr Thr Cys Met Ala Gln Thr Val  
580 585 590

Val Asp Ser Ala Ser Lys Glu Ala Thr Val Leu Val Arg Gly Pro Pro  
595 600 605

Gly Pro Pro Gly Gly Val Val Val Arg Asp Ile Gly Asp Thr Thr Ile  
610 615 620

Gln Leu Ser Trp Ser Arg Gly Phe Asp Asn His Ser Pro Ile Ala Lys  
625 630 635 640

Tyr Thr Leu Gln Ala Arg Thr Pro Pro Ala Gly Lys Trp Lys Gln Val  
645 650 655

Arg Thr Asn Pro Ala Asn Ile Glu Gly Asn Ala Glu Thr Ala Gln Val  
660 665 670

ES 2 704 030 T3

Leu Gly Leu Thr Pro Trp Met Asp Tyr Glu Phe Arg Val Ile Ala Ser  
 675 680 685  
 Asn Ile Leu Gly Thr Gly Glu Pro Ser Gly Pro Ser Ser Lys Ile Arg  
 690 700  
 Thr Arg Glu Ala Ala Pro Ser Val Ala Pro Ser Gly Leu Ser Gly Gly  
 705 710 715 720  
 Gly Gly Ala Pro Gly Glu Leu Ile Val Asn Trp Thr Pro Met Ser Arg  
 725 730 735  
 Glu Tyr Gln Asn Gly Asp Gly Phe Gly Tyr Leu Leu Ser Phe Arg Arg  
 740 745 750  
 Gln Gly Ser Thr His Trp Gln Thr Ala Arg Val Pro Gly Ala Asp Ala  
 755 760 765  
 Gln Tyr Phe Val Tyr Ser Asn Glu Ser Val Arg Pro Tyr Thr Pro Phe  
 770 775 780  
 Glu Val Lys Ile Arg Ser Tyr Asn Arg Arg Gly Asp Gly Pro Glu Ser  
 785 790 795 800  
 Leu Thr Ala Leu Val Tyr Ser Ala Glu Glu Glu Pro Arg Val Ala Pro  
 805 810 815  
 Thr Lys Val Trp Ala Lys Gly Val Ser Ser Ser Glu Met Asn Val Thr  
 820 825 830  
 Trp Glu Pro Val Gln Gln Asp Met Asn Gly Ile Leu Leu Gly Tyr Glu  
 835 840 845  
 Ile Arg Tyr Trp Lys Ala Gly Asp Lys Glu Ala Ala Ala Asp Arg Val  
 850 855 860  
 Arg Thr Ala Gly Leu Asp Thr Ser Ala Arg Val Ser Gly Leu His Pro  
 865 870 875 880  
 Asn Thr Lys Tyr His Val Thr Val Arg Ala Tyr Asn Arg Ala Gly Thr  
 885 890 895  
 Gly Pro Ala Ser Pro Ser Ala Asn Ala Thr Thr Met Lys Pro Pro Pro  
 900 905 910  
 Arg Arg Pro Pro Gly Asn Ile Ser Trp Thr Phe Ser Ser Ser Ser Leu

ES 2 704 030 T3

915 920 925  
Ser Ile Lys Trp Asp Pro Val Val Pro Phe Arg Asn Glu Ser Ala Val  
930 935 940  
Thr Gly Tyr Lys Met Leu Tyr Gln Asn Asp Leu His Leu Thr Pro Thr  
945 950 955 960  
Leu His Leu Thr Gly Lys Asn Trp Ile Glu Ile Pro Val Pro Glu Asp  
965 970 975  
Ile Gly His Ala Leu Val Gln Ile Arg Thr Thr Gly Pro Gly Gly Asp  
980 985 990  
Gly Ile Pro Ala Glu Val His Ile Val Arg Asn Gly Gly Thr Ser Met  
995 1000 1005  
Met Val Glu Asn Met Ala Val Arg Pro Ala Pro His Pro Gly Thr  
1010 1015 1020  
Val Ile Ser His Ser Val Ala Met Leu Ile Leu Ile Gly Ser Leu  
1025 1030 1035  
Glu Leu  
1040  
<210> 4  
<211> 1007  
<212> PRT  
<213> homo sapiens  
5  
<400> 4  
Met Lys Met Trp Leu Leu Val Ser His Leu Val Ile Ile Ser Ile Thr  
1 5 10 15  
Thr Cys Leu Ala Val Ser Glu Glu Asp Lys Gly Phe Gly Pro Ile Phe  
20 25 30  
Glu Glu Gln Pro Ile Asn Thr Ile Tyr Pro Glu Glu Ser Leu Glu Gly  
35 40 45  
Lys Val Ser Leu Asn Cys Arg Ala Arg Ala Ser Pro Phe Pro Val Tyr  
50 55 60  
Lys Trp Arg Met Asn Asn Gly Asp Val Asp Leu Thr Ser Asp Arg Tyr  
65 70 75 80  
10 Ser Met Val Gly Gly Asn Leu Val Ile Asn Asn Pro Asp Lys Gln Lys

ES 2 704 030 T3

85 90 95

Asp Ala Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Ala Ser Asn Asn Tyr Gly Met Val  
 100 105 110

Arg Ser Thr Glu Ala Thr Leu Ser Phe Gly Tyr Leu Asp Pro Phe Pro  
 115 120 125

Pro Glu Glu Arg Pro Glu Val Arg Val Lys Glu Gly Lys Gly Met Val  
 130 135 140

Leu Leu Cys Asp Pro Pro Tyr His Phe Pro Asp Asp Leu Ser Tyr Arg  
 145 150 155 160

Trp Leu Leu Asn Glu Phe Pro Val Phe Ile Thr Met Asp Lys Arg Arg  
 165 170 175

Phe Val Ser Gln Thr Asn Gly Asn Leu Tyr Ile Ala Asn Val Glu Ala  
 180 185 190

Ser Asp Lys Gly Asn Tyr Ser Cys Phe Val Ser Ser Pro Ser Ile Thr  
 195 200 205

Lys Ser Val Phe Ser Lys Phe Ile Pro Leu Ile Pro Ile Pro Glu Arg  
 210 215 220

Thr Thr Lys Pro Tyr Pro Ala Asp Ile Val Val Gln Phe Lys Asp Val  
 225 230 235 240

Tyr Ala Leu Met Gly Gln Asn Val Thr Leu Glu Cys Phe Ala Leu Gly  
 245 250 255

Asn Pro Val Pro Asp Ile Arg Trp Arg Lys Val Leu Glu Pro Met Pro  
 260 265 270

Ser Thr Ala Glu Ile Ser Thr Ser Gly Ala Val Leu Lys Ile Phe Asn  
 275 280 285

Ile Gln Leu Glu Asp Glu Gly Ile Tyr Glu Cys Glu Ala Glu Asn Ile  
 290 295 300

Arg Gly Lys Asp Lys His Gln Ala Arg Ile Tyr Val Gln Ala Phe Pro  
 305 310 315 320

Glu Trp Val Glu His Ile Asn Asp Thr Glu Val Asp Ile Gly Ser Asp  
 325 330 335

ES 2 704 030 T3

Leu Tyr Trp Pro Cys Val Ala Thr Gly Lys Pro Ile Pro Thr Ile Arg  
 340 345 350  
 Trp Leu Lys Asn Gly Tyr Ala Tyr His Lys Gly Glu Leu Arg Leu Tyr  
 355 360 365  
 Asp Val Thr Phe Glu Asn Ala Gly Met Tyr Gln Cys Ile Ala Glu Asn  
 370 375 380  
 Thr Tyr Gly Ala Ile Tyr Ala Asn Ala Glu Leu Lys Ile Leu Ala Leu  
 385 390 395  
 Ala Pro Thr Phe Glu Met Asn Pro Met Lys Lys Lys Ile Leu Ala Ala  
 405 410 415  
 Lys Gly Gly Arg Val Ile Ile Glu Cys Lys Pro Lys Ala Ala Pro Lys  
 420 425 430  
 Pro Lys Phe Ser Trp Ser Lys Gly Thr Glu Trp Leu Val Asn Ser Ser  
 435 440 445  
 Arg Ile Leu Ile Trp Glu Asp Gly Ser Leu Glu Ile Asn Asn Ile Thr  
 450 455 460  
 Arg Asn Asp Gly Gly Ile Tyr Thr Cys Phe Ala Glu Asn Asn Arg Gly  
 465 470 475 480  
 Lys Ala Asn Ser Thr Gly Thr Leu Val Ile Thr Asp Pro Thr Arg Ile  
 485 490 495  
 Ile Leu Ala Pro Ile Asn Ala Asp Ile Thr Val Gly Glu Asn Ala Thr  
 500 505 510  
 Met Gln Cys Ala Ala Ser Phe Asp Pro Ala Leu Asp Leu Thr Phe Val  
 515 520 525  
 Trp Ser Phe Asn Gly Tyr Val Ile Asp Phe Asn Lys Glu Asn Ile His  
 530 535 540  
 Tyr Gln Arg Asn Phe Met Leu Asp Ser Asn Gly Glu Leu Leu Ile Arg  
 545 550 555 560  
 Asn Ala Gln Leu Lys His Ala Gly Arg Tyr Thr Cys Thr Ala Gln Thr  
 565 570 575  
 Ile Val Asp Asn Ser Ser Ala Ser Ala Asp Leu Val Val Arg Gly Pro  
 580 585 590

ES 2 704 030 T3

Pro Gly Pro Pro Gly Gly Leu Arg Ile Glu Asp Ile Arg Ala Thr Ser  
 595 600 605  
 Val Ala Leu Thr Trp Ser Arg Gly Ser Asp Asn His Ser Pro Ile Ser  
 610 615 620  
 Lys Tyr Thr Ile Gln Thr Lys Thr Ile Leu Ser Asp Asp Trp Lys Asp  
 625 630 635 640  
 Ala Lys Thr Asp Pro Pro Ile Ile Glu Gly Asn Met Glu Ala Ala Arg  
 645 650 655  
 Ala Val Asp Leu Ile Pro Trp Met Glu Tyr Glu Phe Arg Val Val Ala  
 660 665 670  
 Thr Asn Thr Leu Gly Arg Gly Glu Pro Ser Ile Pro Ser Asn Arg Ile  
 675 680 685  
 Lys Thr Asp Gly Ala Ala Pro Asn Val Ala Pro Ser Asp Val Gly Gly  
 690 695 700  
 Gly Gly Gly Arg Asn Arg Glu Leu Thr Ile Thr Trp Ala Pro Leu Ser  
 705 710 715 720  
 Arg Glu Tyr His Tyr Gly Asn Asn Phe Gly Tyr Ile Val Ala Phe Lys  
 725 730 735  
 Pro Phe Asp Gly Glu Glu Trp Lys Lys Val Thr Val Thr Asn Pro Asp  
 740 745 750  
 Thr Gly Arg Tyr Val His Lys Asp Glu Thr Met Ser Pro Ser Thr Ala  
 755 760 765  
 Phe Gln Val Lys Val Lys Ala Phe Asn Asn Lys Gly Asp Gly Pro Tyr  
 770 775 780  
 Ser Leu Val Ala Val Ile Asn Ser Ala Gln Asp Ala Pro Ser Glu Ala  
 785 790 795 800  
 Pro Thr Glu Val Gly Val Lys Val Leu Ser Ser Ser Glu Ile Ser Val  
 805 810 815  
 His Trp Glu His Val Leu Glu Lys Ile Val Glu Ser Tyr Gln Ile Arg  
 820 825 830  
 Tyr Trp Ala Ala His Asp Lys Glu Glu Ala Ala Asn Arg Val Gln Val  
 835 840 845

ES 2 704 030 T3

Thr Ser Gln Glu Tyr Ser Ala Arg Leu Glu Asn Leu Leu Pro Asp Thr  
850 855 860

Gln Tyr Phe Ile Glu Val Gly Ala Cys Asn Ser Ala Gly Cys Gly Pro  
865 870 875 880

Pro Ser Asp Met Ile Glu Ala Phe Thr Lys Lys Ala Pro Pro Ser Gln  
885 890 895

Pro Pro Arg Ile Ile Ser Ser Val Arg Ser Gly Ser Arg Tyr Ile Ile  
900 905 910

Thr Trp Asp His Val Val Ala Leu Ser Asn Glu Ser Thr Val Thr Gly  
915 920 925

Tyr Lys Val Leu Tyr Arg Pro Asp Gly Gln His Asp Gly Lys Leu Tyr  
930 935 940

Ser Thr His Lys His Ser Ile Glu Val Pro Ile Pro Arg Asp Gly Glu  
945 950 955 960

Tyr Val Val Glu Val Arg Ala His Ser Asp Gly Gly Asp Gly Val Val  
965 970 975

Ser Gln Val Lys Ile Ser Gly Ala Pro Thr Leu Ser Pro Ser Leu Leu  
980 985 990

Gly Leu Leu Leu Pro Ala Phe Gly Ile Leu Val Tyr Leu Glu Phe  
995 1000 1005

<210> 5  
<211> 490  
<212> PRT  
<213> homo sapiens

5

<400> 5  
Met Lys Thr Gly Leu Phe Phe Leu Cys Leu Leu Gly Thr Ala Ala Ala  
1 5 10 15

Ile Pro Thr Asn Ala Arg Leu Leu Ser Asp His Ser Lys Pro Thr Ala  
20 25 30

Glu Thr Val Ala Pro Asp Asn Thr Ala Ile Pro Ser Leu Arg Ala Glu  
35 40 45

Ala Glu Glu Asn Glu Lys Glu Thr Ala Val Ser Thr Glu Asp Asn Thr  
50 55 60

10

ES 2 704 030 T3

Gln Ser Asp Asp Ile Leu Glu Glu Ser Asp Gln Pro Thr Gln Val Ser  
65 70 75 80

Lys Met Gln Glu Asp Glu Phe Asp Gln Gly Asn Gln Glu Gln Glu Asp  
85 90 95

Asn Ser Asn Ala Glu Met Glu Glu Glu Asn Ala Ser Asn Val Asn Lys  
100 105 110

His Ile Gln Glu Thr Glu Trp Gln Ser Gln Glu Gly Lys Thr Gly Leu  
115 120 125

Glu Ala Ile Ser Asn His Lys Glu Thr Glu Glu Lys Thr Val Ser Glu  
130 135 140

Ala Leu Leu Met Glu Pro Thr Asp Asp Gly Asn Thr Thr Pro Arg Asn  
145 150 155 160

His Gly Val Asp Asp Asp Gly Asp Asp Asp Gly Asp Asp Gly Gly Thr  
165 170 175

Asp Gly Pro Arg His Ser Ala Ser Asp Asp Tyr Phe Ile Pro Ser Gln  
180 185 190

Ala Phe Leu Glu Ala Glu Arg Ala Gln Ser Ile Ala Tyr His Leu Lys  
195 200 205

Ile Glu Glu Gln Arg Glu Lys Val His Glu Asn Glu Asn Ile Gly Thr  
210 215 220

Thr Glu Pro Gly Glu His Gln Glu Ala Lys Lys Ala Glu Asn Ser Ser  
225 230 235 240

Asn Glu Glu Glu Thr Ser Ser Glu Gly Asn Met Arg Val His Ala Val  
245 250 255

Asp Ser Cys Met Ser Phe Gln Cys Lys Arg Gly His Ile Cys Lys Ala  
260 265 270

Asp Gln Gln Gly Lys Pro His Cys Val Cys Gln Asp Pro Val Thr Cys  
275 280 285

Pro Pro Thr Lys Pro Leu Asp Gln Val Cys Gly Thr Asp Asn Gln Thr  
290 295 300

Tyr Ala Ser Ser Cys His Leu Phe Ala Thr Lys Cys Arg Leu Glu Gly





ES 2 704 030 T3

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

ES 2 704 030 T3

Glu Gly Leu Pro Thr Pro Ile Ile Tyr Trp Ala Lys Glu Asp Gly Met  
 290 295 300  
 Leu Pro Lys Asn Arg Thr Val Tyr Lys Asn Phe Glu Lys Thr Leu Gln  
 305 310 315 320  
 Ile Ile His Val Ser Glu Ala Asp Ser Gly Asn Tyr Gln Cys Ile Ala  
 325 330 335  
 Lys Asn Ala Leu Gly Ala Ile His His Thr Ile Ser Val Arg Val Lys  
 340 345 350  
 Ala Ala Pro Tyr Trp Ile Thr Ala Pro Gln Asn Leu Val Leu Ser Pro  
 355 360 365  
 Gly Glu Asp Gly Thr Leu Ile Cys Arg Ala Asn Gly Asn Pro Lys Pro  
 370 375 380  
 Arg Ile Ser Trp Leu Thr Asn Gly Val Pro Ile Glu Ile Ala Pro Asp  
 385 390 395 400  
 Asp Pro Ser Arg Lys Ile Asp Gly Asp Thr Ile Ile Phe Ser Asn Val  
 405 410 415  
 Gln Glu Arg Ser Ser Ala Val Tyr Gln Cys Asn Ala Ser Asn Glu Tyr  
 420 425 430  
 Gly Tyr Leu Leu Ala Asn Ala Phe Val Asn Val Leu Ala Glu Pro Pro  
 435 440 445  
 Arg Ile Leu Thr Pro Ala Asn Thr Leu Tyr Gln Val Ile Ala Asn Arg  
 450 455 460  
 Pro Ala Leu Leu Asp Cys Ala Phe Phe Gly Ser Pro Leu Pro Thr Ile  
 465 470 475 480  
 Glu Trp Phe Lys Gly Ala Lys Gly Ser Ala Leu His Glu Asp Ile Tyr  
 485 490 495  
 Val Leu His Glu Asn Gly Thr Leu Glu Ile Pro Val Ala Gln Lys Asp  
 500 505 510  
 Ser Thr Gly Thr Tyr Thr Cys Val Ala Arg Asn Lys Leu Gly Met Ala  
 515 520 525  
 Lys Asn Glu Val His Leu Glu Ile Lys Asp Ala Thr Trp Ile Val Lys  
 530 535 540

ES 2 704 030 T3

Gln Pro Glu Tyr Ala Val Val Gln Arg Gly Ser Met Val Ser Phe Glu  
 545 550 555 560

Cys Lys Val Lys His Asp His Thr Leu Ser Leu Thr Val Leu Trp Leu  
 565 570 575

Lys Asp Asn Arg Glu Leu Pro Ser Asp Glu Arg Phe Thr Val Asp Lys  
 580 585 590

Asp His Leu Val Val Ala Asp Val Ser Asp Asp Asp Ser Gly Thr Tyr  
 595 600 605

Thr Cys Val Ala Asn Thr Thr Leu Asp Ser Val Ser Ala Ser Ala Val  
 610 615 620

Leu Ser Val Val Asp Val Pro Asn Pro Pro Phe Asp Leu Glu Leu Thr  
 625 630 635 640

Asp Gln Leu Asp Lys Ser Val Gln Leu Ser Trp Thr Pro Gly Asp Asp  
 645 650 655

Asn Asn Ser Pro Ile Thr Lys Phe Ile Ile Glu Tyr Glu Asp Ala Met  
 660 665 670

His Lys Pro Gly Leu Trp His His Gln Thr Glu Val Ser Gly Thr Gln  
 675 680 685

Thr Thr Ala Gln Leu Lys Leu Ser Pro Tyr Val Asn Tyr Ser Phe Arg  
 690 695 700

Val Met Ala Val Asn Ser Ile Gly Lys Ser Leu Pro Ser Glu Ala Ser  
 705 710 715 720

Glu Gln Tyr Leu Thr Lys Ala Ser Glu Pro Asp Lys Asn Pro Thr Ala  
 725 730 735

Val Glu Gly Leu Gly Ser Glu Pro Asp Asn Leu Val Ile Thr Trp Lys  
 740 745 750

Pro Leu Asn Gly Phe Glu Ser Asn Gly Pro Gly Leu Gln Thr Ser Thr  
 755 760 765

Ala Ser Phe  
 770

<210> 7  
 <211> 1180  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens  
 <400> 7

5

ES 2 704 030 T3

Met Gln Leu Lys Ile Met Pro Lys Lys Lys Arg Leu Ser Ala Gly Arg  
1 5 10 15

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

Pro Leu Asp Pro Lys Leu Leu Glu Asp Leu Val Gln Pro Pro Thr Ile  
35 40 45

Thr Gln Gln Ser Pro Lys Asp Tyr Ile Ile Asp Pro Arg Glu Asn Ile  
50 55 60

Val Ile Gln Cys Glu Ala Lys Gly Lys Pro Pro Pro Ser Phe Ser Trp  
65 70 75 80

Thr Arg Asn Gly Thr His Phe Asp Ile Asp Lys Asp Pro Leu Val Thr  
85 90 95

Met Lys Pro Gly Thr Gly Thr Leu Ile Ile Asn Ile Met Ser Glu Gly  
100 105 110

Lys Ala Glu Thr Tyr Glu Gly Val Tyr Gln Cys Thr Ala Arg Asn Glu  
115 120 125

Arg Gly Ala Ala Val Ser Asn Asn Ile Val Val Arg Pro Ser Arg Ser  
130 135 140

Pro Leu Trp Thr Lys Glu Lys Leu Glu Pro Ile Thr Leu Gln Ser Gly  
145 150 155 160

Gln Ser Leu Val Leu Pro Cys Arg Pro Pro Ile Gly Leu Pro Pro Pro  
165 170 175

Ile Ile Phe Trp Met Asp Asn Ser Phe Gln Arg Leu Pro Gln Ser Glu  
180 185 190

Arg Val Ser Gln Gly Leu Asn Gly Asp Leu Tyr Phe Ser Asn Val Leu  
195 200 205

Pro Glu Asp Thr Arg Glu Asp Tyr Ile Cys Tyr Ala Arg Phe Asn His  
210 215 220

Thr Gln Thr Ile Gln Gln Lys Gln Pro Ile Ser Val Lys Val Ile Ser  
225 230 235 240

ES 2 704 030 T3

Ala Lys Ser Ser Arg Glu Arg Pro Pro Thr Phe Leu Thr Pro Glu Gly  
 245 250 255

Asn Ala Ser Asn Lys Glu Glu Leu Arg Gly Asn Val Leu Ser Leu Glu  
 260 265 270

Cys Ile Ala Glu Gly Leu Pro Thr Pro Ile Ile Tyr Trp Ala Lys Glu  
 275 280 285

Asp Gly Met Leu Pro Lys Asn Arg Thr Val Tyr Lys Asn Phe Glu Lys  
 290 295 300

Thr Leu Gln Ile Ile His Val Ser Glu Ala Asp Ser Gly Asn Tyr Gln  
 305 310 315 320

Cys Ile Ala Lys Asn Ala Leu Gly Ala Ile His His Thr Ile Ser Val  
 325 330 335

Arg Val Lys Ala Ala Pro Tyr Trp Ile Thr Ala Pro Gln Asn Leu Val  
 340 345 350

Leu Ser Pro Gly Glu Asp Gly Thr Leu Ile Cys Arg Ala Asn Gly Asn  
 355 360 365

Pro Lys Pro Arg Ile Ser Trp Leu Thr Asn Gly Val Pro Ile Glu Ile  
 370 375 380

Ala Pro Asp Asp Pro Ser Arg Lys Ile Asp Gly Asp Thr Ile Ile Phe  
 385 390 395 400

Ser Asn Val Gln Glu Arg Ser Ser Ala Val Tyr Gln Cys Asn Ala Ser  
 405 410 415

Asn Glu Tyr Gly Tyr Leu Leu Ala Asn Ala Phe Val Asn Val Leu Ala  
 420 425 430

Glu Pro Pro Arg Ile Leu Thr Pro Ala Asn Thr Leu Tyr Gln Val Ile  
 435 440 445

Ala Asn Arg Pro Ala Leu Leu Asp Cys Ala Phe Phe Gly Ser Pro Leu  
 450 455 460

Pro Thr Ile Glu Trp Phe Lys Gly Ala Lys Gly Ser Ala Leu His Glu  
 465 470 475 480

Asp Ile Tyr Val Leu His Glu Asn Gly Thr Leu Glu Ile Pro Val Ala



ES 2 704 030 T3

Leu Gly Ser Glu Pro Asp Asn Leu Val Ile Thr Trp Lys Pro Leu Asn  
 740 745 750  
 Gly Phe Glu Ser Asn Gly Pro Gly Leu Gln Tyr Lys Val Ser Trp Arg  
 755 760 765  
 Gln Lys Asp Gly Asp Asp Glu Trp Thr Ser Val Val Val Ala Asn Val  
 770 775 780  
 Ser Lys Tyr Ile Val Ser Gly Thr Pro Thr Phe Val Pro Tyr Leu Ile  
 785 790 795 800  
 Lys Val Gln Ala Leu Asn Asp Met Gly Phe Ala Pro Glu Pro Ala Val  
 805 810 815  
 Val Met Gly His Ser Gly Glu Asp Leu Pro Met Val Ala Pro Gly Asn  
 820 825 830  
 Val Arg Val Asn Val Val Asn Ser Thr Leu Ala Glu Val His Trp Asp  
 835 840 845  
 Pro Val Pro Leu Lys Ser Ile Arg Gly His Leu Gln Gly Tyr Arg Ile  
 850 855 860  
 Tyr Tyr Trp Lys Thr Gln Ser Ser Ser Lys Arg Asn Arg Arg His Ile  
 865 870 875 880  
 Glu Lys Lys Ile Leu Thr Phe Gln Gly Ser Lys Thr His Gly Met Leu  
 885 890 895  
 Pro Gly Leu Glu Pro Phe Ser His Tyr Thr Leu Asn Val Arg Val Val  
 900 905 910  
 Asn Gly Lys Gly Glu Gly Pro Ala Ser Pro Asp Arg Val Phe Asn Thr  
 915 920 925  
 Pro Glu Gly Val Pro Ser Ala Pro Ser Ser Leu Lys Ile Val Asn Pro  
 930 935 940  
 Thr Leu Asp Ser Leu Thr Leu Glu Trp Asp Pro Pro Ser His Pro Asn  
 945 950 955 960  
 Gly Ile Leu Thr Glu Tyr Thr Leu Lys Tyr Gln Pro Ile Asn Ser Thr  
 965 970 975  
 His Glu Leu Gly Pro Leu Val Asp Leu Lys Ile Pro Ala Asn Lys Thr  
 980 985 990



ES 2 704 030 T3

Arg Trp Thr Leu Lys Asn Leu Asn Phe Ser Thr Arg Tyr Lys Phe Tyr  
 995 1000 1005

Phe Tyr Ala Gln Thr Ser Ala Gly Ser Gly Ser Gln Ile Thr Glu  
 1010 1015 1020

Glu Ala Val Thr Thr Val Asp Glu Ala Met Ala Ser Arg Gln Val  
 1025 1030 1035

Asp Ile Ala Thr Gln Gly Trp Phe Ile Gly Leu Met Cys Ala Val  
 1040 1045 1050

Ala Leu Leu Ile Leu Ile Leu Leu Ile Val Cys Phe Ile Arg Arg  
 1055 1060 1065

Asn Lys Gly Gly Lys Tyr Pro Val Lys Glu Lys Glu Asp Ala His  
 1070 1075 1080

Ala Asp Pro Glu Ile Gln Pro Met Lys Glu Asp Asp Gly Thr Phe  
 1085 1090 1095

Gly Glu Tyr Ser Asp Ala Glu Asp His Lys Pro Leu Lys Lys Gly  
 1100 1105 1110

Ser Arg Thr Pro Ser Asp Arg Thr Val Lys Lys Glu Asp Ser Asp  
 1115 1120 1125

Asp Ser Leu Val Asp Tyr Gly Glu Gly Val Asn Gly Gln Phe Asn  
 1130 1135 1140

Glu Asp Gly Ser Phe Ile Gly Gln Tyr Ser Gly Lys Lys Glu Lys  
 1145 1150 1155

Glu Pro Ala Glu Gly Asn Glu Ser Ser Glu Ala Pro Ser Pro Val  
 1160 1165 1170

Asn Ala Met Asn Ser Phe Val  
 1175 1180

<210> 8  
 <211> 818  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

<400> 8  
 Leu Leu Gln Val Thr Ile Ser Leu Ser Lys Val Glu Leu Ser Val Gly  
 1 5 10 15

5

10

ES 2 704 030 T3

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

ES 2 704 030 T3

Lys Gln Ala Phe Leu Gln Val Phe Val Gln Pro His Ile Ile Gln Leu  
 275 280 285  
 Lys Asn Glu Thr Thr Tyr Glu Asn Gly Gln Val Thr Leu Val Cys Asp  
 290 300  
 Ala Glu Gly Glu Pro Ile Pro Glu Ile Thr Trp Lys Arg Ala Val Asp  
 305 310 315 320  
 Gly Phe Thr Phe Thr Glu Gly Asp Lys Ser Leu Asp Gly Arg Ile Glu  
 325 330 335  
 Val Lys Gly Gln His Gly Ser Ser Ser Leu His Ile Lys Asp Val Lys  
 340 345  
 Leu Ser Asp Ser Gly Arg Tyr Asp Cys Glu Ala Ala Ser Arg Ile Gly  
 355 360 365  
 Gly His Gln Lys Ser Met Tyr Leu Asp Ile Glu Tyr Ala Pro Lys Phe  
 370 375 380  
 Ile Ser Asn Gln Thr Ile Tyr Tyr Ser Trp Glu Gly Asn Pro Ile Asn  
 385 390 395 400  
 Ile Ser Cys Asp Val Lys Ser Asn Pro Pro Ala Ser Ile His Trp Arg  
 405 410 415  
 Arg Asp Lys Leu Val Leu Pro Ala Lys Asn Thr Thr Asn Leu Lys Thr  
 420 425 430  
 Tyr Ser Thr Gly Arg Lys Met Ile Leu Glu Ile Ala Pro Thr Ser Asp  
 435 440 445  
 Asn Asp Phe Gly Arg Tyr Asn Cys Thr Ala Thr Asn His Ile Gly Thr  
 450 455 460  
 Arg Phe Gln Glu Tyr Ile Leu Ala Leu Ala Asp Val Pro Ser Ser Pro  
 465 470 475 480  
 Tyr Gly Val Lys Ile Ile Glu Leu Ser Gln Thr Thr Ala Lys Val Ser  
 485 490 495  
 Phe Asn Lys Pro Asp Ser His Gly Gly Val Pro Ile His His Tyr Gln  
 500 505 510  
 Val Asp Val Lys Glu Val Ala Ser Glu Ile Trp Lys Ile Val Arg Ser

ES 2 704 030 T3

|     |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
|-----|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|     | 515        |            |            |            |            | 520        |            |            |            |            |            | 525        |            |            |            |
| His | Gly<br>530 | Val        | Gln        | Thr        | Met        | Val<br>535 | Val        | Leu        | Asn        | Asn        | Leu<br>540 | Glu        | Pro        | Asn        | Thr        |
| Thr | Tyr        | Glu        | Ile        | Arg        | Val<br>550 | Ala        | Ala        | Val        | Asn        | Gly<br>555 | Lys        | Gly        | Gln        | Gly        | Asp<br>560 |
| Tyr | Ser        | Lys        | Ile        | Glu<br>565 | Ile        | Phe        | Gln        | Thr        | Leu<br>570 | Pro        | Val        | Arg        | Glu        | Pro<br>575 | Ser        |
| Pro | Pro        | Ser        | Ile<br>580 | His        | Gly        | Gln        | Pro        | Ser<br>585 | Ser        | Gly        | Lys        | Ser        | Phe<br>590 | Lys        | Leu        |
| Ser | Ile        | Thr<br>595 | Lys        | Gln        | Asp        | Asp        | Gly<br>600 | Gly        | Ala        | Pro        | Ile        | Leu<br>605 | Glu        | Tyr        | Ile        |
| Val | Lys<br>610 | Tyr        | Arg        | Ser        | Lys        | Asp<br>615 | Lys        | Glu        | Asp        | Gln        | Trp<br>620 | Leu        | Glu        | Lys        | Lys        |
| Val | Gln        | Gly        | Asn        | Lys        | Asp<br>630 | His        | Ile        | Ile        | Leu        | Glu<br>635 | His        | Leu        | Gln        | Trp        | Thr<br>640 |
| Met | Gly        | Tyr        | Glu        | Val<br>645 | Gln        | Ile        | Thr        | Ala        | Ala<br>650 | Asn        | Arg        | Leu        | Gly        | Tyr        | Ser<br>655 |
| Glu | Pro        | Thr        | Val<br>660 | Tyr        | Glu        | Phe        | Ser        | Met<br>665 | Pro        | Pro        | Lys        | Pro        | Asn<br>670 | Ile        | Ile        |
| Lys | Asp        | Thr<br>675 | Leu        | Phe        | Asn        | Gly        | Leu<br>680 | Gly        | Leu        | Gly        | Ala        | Val<br>685 | Ile        | Gly        | Leu        |
| Gly | Val<br>690 | Ala        | Ala        | Leu        | Leu        | Leu<br>695 | Ile        | Leu        | Val        | Val        | Thr<br>700 | Asp        | Val        | Ser        | Cys        |
| Phe | Phe        | Ile        | Arg        | Gln        | Cys<br>710 | Gly        | Leu        | Leu        | Met        | Cys<br>715 | Ile        | Thr        | Arg        | Arg        | Met<br>720 |
| Cys | Gly        | Lys        | Lys        | Ser<br>725 | Gly        | Ser        | Ser        | Gly        | Lys<br>730 | Ser        | Lys        | Glu        | Leu        | Glu<br>735 | Glu        |
| Gly | Lys        | Ala        | Ala<br>740 | Tyr        | Leu        | Lys        | Asp        | Gly<br>745 | Ser        | Lys        | Glu        | Pro        | Ile<br>750 | Val        | Glu        |
| Met | Arg        | Thr<br>755 | Glu        | Asp        | Glu        | Arg        | Val<br>760 | Thr        | Asn        | His        | Glu        | Asp<br>765 | Gly        | Ser        | Pro        |

ES 2 704 030 T3

Val Asn Glu Pro Asn Glu Thr Thr Pro Leu Thr Glu Pro Glu Lys Leu  
770 775 780

Pro Leu Lys Glu Glu Asp Gly Lys Glu Ala Leu Asn Pro Glu Thr Ile  
785 790 795 800

Glu Ile Lys Val Ser Asn Asp Ile Ile Gln Ser Lys Glu Asp Asp Ser  
805 810 815

Lys Ala

<210> 9

<211> 287

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 9

Met Gly Asn Ala Met Phe Val Lys Glu Gln Leu Ser Leu Leu Asp Arg  
1 5 10 15

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

Asp Phe Gln Asp Ser Ala Ala Ala Lys Lys Leu Ile Asn Asp Tyr Val  
35 40 45

Lys Asn Gly Thr Arg Gly Lys Ile Thr Asp Leu Ile Lys Asn Leu Asp  
50 55 60

Ser Gln Thr Met Met Val Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Ala Lys  
65 70 75 80

Trp Glu Met Pro Phe Asp Pro Gln Asp Thr His Gln Ser Arg Phe Tyr  
85 90 95

Leu Asn Lys Lys Lys Trp Val Met Val Pro Met Met Ser Leu His His  
100 105 110

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

Glu Leu Lys Tyr Thr Gly Asn Ala Ser Ala Leu Phe Ile Leu Pro Asp  
130 135 140

Gln Asp Lys Met Glu Glu Val Glu Ala Met Leu Leu Pro Glu Thr Leu  
145 150 155 160

5

10

ES 2 704 030 T3

Lys Arg Trp Arg Asp Ser Leu Glu Phe Arg Glu Ile Gly Glu Leu Tyr  
 165 170 175

Leu Pro Lys Phe Ser Ile Ser Arg Asp Tyr Asn Leu Asn Asp Ile Leu  
 180 185 190

Leu Gln Leu Gly Ile Glu Glu Ala Phe Thr Ser Lys Ala Asp Leu Ser  
 195 200 205

Gly Ile Thr Gly Ala Arg Asn Leu Ala Val Ser Gln Val Val His Lys  
 210 215 220

Ala Val Leu Asp Val Phe Glu Glu Gly Thr Glu Ala Ser Ala Ala Thr  
 225 230 235 240

Ala Val Lys Ile Thr Leu Leu Ser Ala Leu Val Glu Thr Arg Thr Ile  
 245 250 255

Val Arg Phe Asn Arg Pro Phe Leu Met Ile Ile Val Pro Thr Asp Thr  
 260 265 270

Gln Asn Ile Phe Phe Met Ser Lys Val Thr Asn Pro Lys Gln Ala  
 275 280 285

<210> 10

<211> 338

<212> PRT

<213> homo sapiens

5

<400> 10

Met Arg Lys Arg Ala Pro Gln Ser Glu Met Ala Pro Ala Gly Val Ser  
 1 5 10 15

Leu Arg Ala Thr Ile Leu Cys Leu Leu Ala Trp Ala Gly Leu Ala Ala  
 20 25 30

Gly Asp Arg Val Tyr Ile His Pro Phe His Leu Val Ile His Asn Glu  
 35 40 45

Ser Thr Cys Glu Gln Leu Ala Lys Ala Asn Ala Gly Lys Pro Lys Asp  
 50 55 60

Pro Thr Phe Ile Pro Ala Pro Ile Gln Ala Lys Thr Ser Pro Val Asp  
 65 70 75 80

Glu Lys Ala Leu Gln Asp Gln Leu Val Leu Val Ala Ala Lys Leu Asp  
 85 90 95

10

ES 2 704 030 T3

Thr Glu Asp Lys Leu Arg Ala Ala Met Val Gly Met Leu Ala Asn Phe  
100 105 110

Leu Gly Phe Arg Ile Tyr Gly Met His Ser Glu Leu Trp Gly Val Val  
115 120 125

His Gly Ala Thr Val Leu Ser Pro Thr Ala Val Phe Gly Thr Leu Ala  
130 135 140

Ser Leu Tyr Leu Gly Ala Leu Asp His Thr Ala Asp Arg Leu Gln Ala  
145 150 155 160

Ile Leu Gly Val Pro Trp Lys Asp Lys Asn Cys Thr Ser Arg Leu Asp  
165 170 175

Ala His Lys Val Leu Ser Ala Leu Gln Ala Val Gln Gly Leu Leu Val  
180 185 190

Ala Gln Gly Arg Ala Asp Ser Gln Ala Gln Leu Leu Leu Ser Thr Val  
195 200 205

Val Gly Val Phe Thr Ala Pro Gly Leu His Leu Lys Gln Pro Phe Val  
210 215 220

Gln Gly Leu Ala Leu Tyr Thr Pro Val Val Leu Pro Arg Ser Leu Asp  
225 230 235 240

Phe Thr Glu Leu Asp Val Ala Ala Glu Lys Ile Asp Arg Phe Met Gln  
245 250 255

Ala Val Thr Gly Trp Lys Thr Gly Cys Ser Leu Met Gly Ala Ser Val  
260 265 270

Asp Ser Thr Leu Ala Phe Asn Thr Tyr Val His Phe Gln Gly Lys Met  
275 280 285

Lys Gly Phe Ser Leu Leu Ala Glu Pro Gln Glu Phe Trp Val Asp Asn  
290 295 300

Ser Thr Ser Val Ser Val Pro Met Leu Ser Gly Met Gly Thr Phe Gln  
305 310 315 320

His Trp Ser Asp Ile Gln Asp Asn Phe Ser Val Thr Gln Val Pro Phe  
325 330 335

Thr Glu

<210> 11

<211> 485

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 11

5

ES 2 704 030 T3

Met Arg Lys Arg Ala Pro Gln Ser Glu Met Ala Pro Ala Gly Val Ser  
1 5 10 15

Leu Arg Ala Thr Ile Leu Cys Leu Leu Ala Trp Ala Gly Leu Ala Ala  
20 25 30

Gly Asp Arg Val Tyr Ile His Pro Phe His Leu Val Ile His Asn Glu  
35 40 45

Ser Thr Cys Glu Gln Leu Ala Lys Ala Asn Ala Gly Lys Pro Lys Asp  
50 55 60

Pro Thr Phe Ile Pro Ala Pro Ile Gln Ala Lys Thr Ser Pro Val Asp  
65 70 75 80

Glu Lys Ala Leu Gln Asp Gln Leu Val Leu Val Ala Ala Lys Leu Asp  
85 90 95

Thr Glu Asp Lys Leu Arg Ala Ala Met Val Gly Met Leu Ala Asn Phe  
100 105 110

Leu Gly Phe Arg Ile Tyr Gly Met His Ser Glu Leu Trp Gly Val Val  
115 120 125

His Gly Ala Thr Val Leu Ser Pro Thr Ala Val Phe Gly Thr Leu Ala  
130 135 140

Ser Leu Tyr Leu Gly Ala Leu Asp His Thr Ala Asp Arg Leu Gln Ala  
145 150 155 160

Ile Leu Gly Val Pro Trp Lys Asp Lys Asn Cys Thr Ser Arg Leu Asp  
165 170 175

Ala His Lys Val Leu Ser Ala Leu Gln Ala Val Gln Gly Leu Leu Val  
180 185 190

Ala Gln Gly Arg Ala Asp Ser Gln Ala Gln Leu Leu Leu Ser Thr Val  
195 200 205

Val Gly Val Phe Thr Ala Pro Gly Leu His Leu Lys Gln Pro Phe Val  
210 215 220



ES 2 704 030 T3

Gln Gly Leu Ala Leu Tyr Thr Pro Val Val Leu Pro Arg Ser Leu Asp  
 225 230 235 240

Phe Thr Glu Leu Asp Val Ala Ala Glu Lys Ile Asp Arg Phe Met Gln  
 245 250 255

Ala Val Thr Gly Trp Lys Thr Gly Cys Ser Leu Met Gly Ala Ser Val  
 260 265 270

Asp Ser Thr Leu Ala Phe Asn Thr Tyr Val His Phe Gln Gly Lys Met  
 275 280 285

Lys Gly Phe Ser Leu Leu Ala Glu Pro Gln Glu Phe Trp Val Asp Asn  
 290 295 300

Ser Thr Ser Val Ser Val Pro Met Leu Ser Gly Met Gly Thr Phe Gln  
 305 310 315 320

His Trp Ser Asp Ile Gln Asp Asn Phe Ser Val Thr Gln Val Pro Phe  
 325 330 335

Thr Glu Ser Ala Cys Leu Leu Leu Ile Gln Pro His Tyr Ala Ser Asp  
 340 345 350

Leu Asp Lys Val Glu Gly Leu Thr Phe Gln Gln Asn Ser Leu Asn Trp  
 355 360 365

Met Lys Lys Leu Ser Pro Arg Thr Ile His Leu Thr Met Pro Gln Leu  
 370 375 380

Val Leu Gln Gly Ser Tyr Asp Leu Gln Asp Leu Leu Ala Gln Ala Glu  
 385 390 395 400

Leu Pro Ala Ile Leu His Thr Glu Leu Asn Leu Gln Lys Leu Ser Asn  
 405 410 415

Asp Arg Ile Arg Val Gly Glu Val Leu Asn Ser Ile Phe Phe Glu Leu  
 420 425 430

Glu Ala Asp Glu Arg Glu Pro Thr Glu Ser Thr Gln Gln Leu Asn Lys  
 435 440 445

Pro Glu Val Leu Glu Val Thr Leu Asn Arg Pro Phe Leu Phe Ala Val  
 450 455 460

Tyr Asp Gln Ser Ala Thr Ala Leu His Phe Leu Gly Arg Val Ala Asn  
 465 470 475 480

Pro Leu Ser Thr Ala  
 485

5 <210> 12  
 <211> 398  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

ES 2 704 030 T3

<400> 12

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

ES 2 704 030 T3

Cys Ser Val Asn His Glu Ser Leu Lys Gly Ala Asp Arg Ser Thr Ser  
 210 215 220

Gln Arg Ile Glu Val Leu Tyr Thr Pro Thr Ala Met Ile Arg Pro Asp  
 225 230 235 240

Pro Pro His Pro Arg Glu Gly Gln Lys Leu Leu Leu His Cys Glu Gly  
 245 250 255

Arg Gly Asn Pro Val Pro Gln Gln Tyr Leu Trp Glu Lys Glu Gly Ser  
 260 265 270

Val Pro Pro Leu Lys Met Thr Gln Glu Ser Ala Leu Ile Phe Pro Phe  
 275 280 285

Leu Asn Lys Ser Asp Ser Gly Thr Tyr Gly Cys Thr Ala Thr Ser Asn  
 290 295 300

Met Gly Ser Tyr Lys Ala Tyr Tyr Thr Leu Asn Val Asn Asp Pro Ser  
 305 310 315 320

Pro Val Pro Ser Ser Ser Thr Tyr His Ala Ile Ile Gly Gly Ile  
 325 330 335

Val Ala Phe Ile Val Phe Leu Leu Leu Ile Met Leu Ile Phe Leu Gly  
 340 345 350

His Tyr Leu Ile Arg His Lys Gly Thr Tyr Leu Thr His Glu Ala Lys  
 355 360 365

Gly Ser Asp Asp Ala Pro Asp Ala Asp Thr Ala Ile Ile Asn Ala Glu  
 370 375 380

Gly Gly Gln Ser Gly Gly Asp Asp Lys Lys Glu Tyr Phe Ile  
 385 390 395

<210> 13  
 <211> 350  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

5

<400> 13  
 Met Gln Arg Leu Gly Ala Thr Leu Leu Cys Leu Leu Leu Ala Ala Ala  
 1 5 10 15

Val Pro Thr Ala Pro Ala Pro Ala Pro Thr Ala Thr Ser Ala Pro Val  
 20 25 30

10

ES 2 704 030 T3

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

ES 2 704 030 T3

275 280 285

Val Gly Ser Arg Asp Gln Asp Gly Glu Ile Leu Leu Pro Arg Glu Val  
 290 295 300

Pro Asp Glu Tyr Glu Val Gly Ser Phe Met Glu Glu Val Arg Gln Glu  
 305 310 315 320

Leu Glu Asp Leu Glu Arg Ser Leu Thr Glu Glu Met Ala Leu Arg Glu  
 325 330 335

Pro Ala Ala Ala Ala Ala Ala Leu Leu Gly Gly Glu Glu Ile  
 340 345 350

<210> 14  
 <211> 398  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

5

<400> 14  
 Asn Pro Ala Ser Pro Pro Glu Glu Gly Ser Pro Asp Pro Asp Ser Thr  
 1 5 10 15

Gly Ala Leu Val Glu Glu Glu Asp Pro Phe Phe Lys Val Pro Val Asn  
 20 25 30

Lys Leu Ala Ala Ala Val Ser Asn Phe Gly Tyr Asp Leu Tyr Arg Val  
 35 40 45

Arg Ser Ser Met Ser Pro Thr Thr Asn Val Leu Leu Ser Pro Leu Ser  
 50 55 60

Val Ala Thr Ala Leu Ser Ala Leu Ser Leu Gly Ala Asp Glu Arg Thr  
 65 70 75 80

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

Asp Ile His Gly Thr Tyr Lys Glu Leu Leu Asp Thr Val Thr Ala Pro  
 100 105 110

Gln Lys Asn Leu Lys Ser Ala Ser Arg Ile Val Phe Glu Lys Lys Leu  
 115 120 125

Arg Ile Lys Ser Ser Phe Val Ala Pro Leu Glu Lys Ser Tyr Gly Thr  
 130 135 140

10

Arg Pro Arg Val Leu Thr Gly Asn Pro Arg Leu Asp Leu Gln Glu Ile



ES 2 704 030 T3

Met Lys Arg Val Leu Val Leu Leu Leu Ala Val Ala Phe Gly His Ala  
1 5 10 15

Leu Glu Arg Gly Arg Asp Tyr Glu Lys Asn Lys Val Cys Lys Glu Phe  
20 25 30

Ser His Leu Gly Lys Glu Asp Phe Thr Ser Leu Ser Leu Val Leu Tyr  
35 40 45

Ser Arg Lys Phe Pro Ser Gly Thr Phe Glu Gln Val Ser Gln Leu Val  
50 55 60

Lys Glu Val Val Ser Leu Thr Glu Ala Cys Cys Ala Glu Gly Ala Asp  
65 70 75 80

Pro Asp Cys Tyr Asp Thr Arg Thr Ser Ala Leu Ser Ala Lys Ser Cys  
85 90 95

Glu Ser Asn Ser Pro Phe Pro Val His Pro Gly Thr Ala Glu Cys Cys  
100 105 110

Thr Lys Glu Gly Leu Glu Arg Lys Leu Cys Met Ala Ala Leu Lys His  
115 120 125

Gln Pro Gln Glu Phe Pro Thr Tyr Val Glu Pro Thr Asn Asp Glu Ile  
130 135 140

Cys Glu Ala Phe Arg Lys Asp Pro Lys Glu Tyr Ala Asn Gln Phe Met  
145 150 155 160

Trp Glu Tyr Ser Thr Asn Tyr Glu Gln Ala Pro Leu Ser Leu Leu Val  
165 170 175

Ser Tyr Thr Lys Ser Tyr Leu Ser Met Val Gly Ser Cys Cys Thr Ser  
180 185 190

Ala Ser Pro Thr Val Cys Phe Leu Lys Glu Arg Leu Gln Leu Lys His  
195 200 205

Leu Ser Leu Leu Thr Thr Leu Ser Asn Arg Val Cys Ser Gln Tyr Ala  
210 215 220

ES 2 704 030 T3

Ala Tyr Gly Glu Lys Lys Ser Arg Leu Ser Asn Leu Ile Lys Leu Ala  
 225 230 235 240

Gln Lys Val Pro Thr Ala Asp Leu Glu Asp Val Leu Pro Leu Ala Glu  
 245 250 255

Asp Ile Thr Asn Ile Leu Ser Lys Cys Cys Glu Ser Ala Ser Glu Asp  
 260 265 270

Cys Met Ala Lys Glu Leu Pro Glu His Thr Val Lys Leu Cys Asp Asn  
 275 280 285

Leu Ser Thr Lys Asn Ser Lys Phe Glu Asp Cys Cys Gln Glu Lys Thr  
 290 295 300

Ala Met Asp Val Phe Val Cys Thr Tyr Phe Met Pro Ala Ala Gln Leu  
 305 310 315 320

Pro Glu Leu Pro Asp Val Arg Leu Pro Thr Asn Lys Asp Val Cys Asp  
 325 330 335

Pro Gly Asn Thr Lys Val Met Asp Lys Tyr Thr Phe Glu Leu Ser Arg  
 340 345 350

Arg Thr His Leu Pro Glu Val Phe Leu Ser Lys Val Leu Glu Pro Thr  
 355 360 365

Leu Lys Ser Leu Gly Glu Cys Cys Asp Val Glu Asp Ser Thr Thr Cys  
 370 375 380

Phe Asn Ala Lys Gly Pro Leu Leu Lys Lys Glu Leu Ser Ser Phe Ile  
 385 390 395 400

Asp Lys Gly Gln Glu Leu Cys Ala Asp Tyr Ser Glu Asn Thr Phe Thr  
 405 410 415

Glu Tyr Lys Lys Lys Leu Ala Glu Arg Leu Lys Ala Lys Leu Pro Glu  
 420 425 430

Ala Thr Pro Thr Glu Leu Ala Lys Leu Val Asn Lys Arg Ser Asp Phe  
 435 440 445

Ala Ser Asn Cys Cys Ser Ile Asn Ser Pro Pro Leu Tyr Cys Asp Ser  
 450 455 460

Glu Ile Asp Ala Glu Leu Lys Asn Ile Leu  
 465 470

<210> 16  
 <211> 375  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

<400> 16



ES 2 704 030 T3

Met Glu Arg Ala Ser Cys Leu Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Val His  
1 5 10 15

Val Ser Ala Thr Thr Pro Glu Pro Cys Glu Leu Asp Asp Glu Asp Phe  
20 25 30

Arg Cys Val Cys Asn Phe Ser Glu Pro Gln Pro Asp Trp Ser Glu Ala  
35 40 45

Phe Gln Cys Val Ser Ala Val Glu Val Glu Ile His Ala Gly Gly Leu  
50 55 60

Asn Leu Glu Pro Phe Leu Lys Arg Val Asp Ala Asp Ala Asp Pro Arg  
65 70 75 80

Gln Tyr Ala Asp Thr Val Lys Ala Leu Arg Val Arg Arg Leu Thr Val  
85 90 95

Gly Ala Ala Gln Val Pro Ala Gln Leu Leu Val Gly Ala Leu Arg Val  
100 105 110

Leu Ala Tyr Ser Arg Leu Lys Glu Leu Thr Leu Glu Asp Leu Lys Ile  
115 120 125

Thr Gly Thr Met Pro Pro Leu Pro Leu Glu Ala Thr Gly Leu Ala Leu  
130 135 140

Ser Ser Leu Arg Leu Arg Asn Val Ser Trp Ala Thr Gly Arg Ser Trp  
145 150 155 160

Leu Ala Glu Leu Gln Gln Trp Leu Lys Pro Gly Leu Lys Val Leu Ser  
165 170 175

Ile Ala Gln Ala His Ser Pro Ala Phe Ser Cys Glu Gln Val Arg Ala  
180 185 190

Phe Pro Ala Leu Thr Ser Leu Asp Leu Ser Asp Asn Pro Gly Leu Gly  
195 200 205

Glu Arg Gly Leu Met Ala Ala Leu Cys Pro His Arg Phe Pro Ala Ile  
210 215 220

ES 2 704 030 T3

Gln Asn Leu Ala Leu Arg Asn Thr Gly Met Glu Thr Pro Thr Gly Val  
225 230 235 240

Cys Ala Ala Leu Ala Ala Ala Gly Val Gln Pro His Ser Leu Asp Leu  
245 250 255

Ser His Asn Ser Leu Arg Ala Thr Val Asn Pro Ser Ala Pro Arg Cys  
260 265 270

Met Trp Ser Ser Ala Leu Asn Ser Leu Asn Leu Ser Phe Ala Gly Leu  
275 280 285

Glu Gln Val Pro Lys Gly Leu Pro Ala Lys Leu Arg Val Leu Asp Leu  
290 295 300

Ser Cys Asn Arg Leu Asn Arg Ala Pro Gln Pro Asp Glu Leu Pro Glu  
305 310 315 320

Val Asp Asn Leu Thr Leu Asp Gly Asn Pro Phe Leu Val Pro Gly Thr  
325 330 335

Ala Leu Pro His Glu Gly Ser Met Asn Ser Gly Val Val Pro Ala Cys  
340 345 350

Ala Arg Ser Thr Leu Ser Val Gly Val Ser Gly Thr Leu Val Leu Leu  
355 360 365

Gln Gly Ala Arg Gly Phe Ala  
370 375

<210> 17  
<211> 396  
<212> PRT  
<213> homo sapiens

5

<400> 17  
Met Gly Ala Pro Val Ala Leu Leu Leu Leu Leu Phe Ala Cys Cys  
1 5 10 15

Trp Ala Pro Ser Gly Ala Asn Leu Ser Gln Asp Asp Ser Gln Pro Trp  
20 25 30

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

Gln Val Lys Asp His Glu Asp Ser Ser Leu Gln Trp Ser Asn Pro Ala  
50 55 60

10

ES 2 704 030 T3

Gln Gln Thr Leu Tyr Phe Gly Glu Lys Arg Ala Leu Arg Asp Asn Arg  
65 70 75 80

Ile Gln Leu Val Thr Ser Thr Pro His Glu Leu Ser Ile Ser Ile Ser  
85 90 95

Asn Val Ala Leu Ala Asp Glu Gly Glu Tyr Thr Cys Ser Ile Phe Thr  
100 105 110

Met Pro Val Arg Thr Ala Lys Ser Leu Val Thr Val Leu Gly Ile Pro  
115 120 125

Gln Lys Pro Ile Ile Thr Gly Tyr Lys Ser Ser Leu Arg Glu Lys Asp  
130 135 140

Thr Ala Thr Leu Asn Cys Gln Ser Ser Gly Ser Lys Pro Ala Ala Arg  
145 150 155 160

Leu Thr Trp Arg Lys Gly Asp Gln Glu Leu His Gly Glu Pro Thr Arg  
165 170 175

Ile Gln Glu Asp Pro Asn Gly Lys Thr Phe Thr Val Ser Ser Ser Val  
180 185 190

Thr Phe Gln Val Thr Arg Glu Asp Asp Gly Ala Asn Ile Val Cys Ser  
195 200 205

Val Asn His Glu Ser Leu Lys Gly Ala Asp Arg Ser Thr Ser Gln Arg  
210 215 220

Ile Glu Val Leu Tyr Thr Pro Thr Ala Met Ile Arg Pro Asp Pro Pro  
225 230 235 240

His Pro Arg Glu Gly Gln Lys Leu Leu Leu His Cys Glu Gly Arg Gly  
245 250 255

Asn Pro Val Pro Gln Gln Tyr Leu Trp Glu Lys Glu Gly Ser Val Pro  
260 265 270

Pro Leu Lys Met Thr Gln Glu Ser Ala Leu Ile Phe Pro Phe Leu Asn  
275 280 285

Lys Ser Asp Ser Gly Thr Tyr Gly Cys Thr Ala Thr Ser Asn Met Gly  
290 295 300

Ser Tyr Lys Ala Tyr Tyr Thr Leu Asn Val Asn Asp Pro Ser Pro Val  
305 310 315 320

ES 2 704 030 T3

Pro Ser Ser Ser Ser Thr Tyr His Ala Ile Ile Gly Gly Ile Val Ala  
 325 330 335

Phe Ile Val Phe Leu Leu Leu Ile Met Leu Ile Phe Leu Gly His Tyr  
 340 345 350

Leu Ile Arg His Lys Gly Thr Tyr Leu Thr His Glu Ala Lys Gly Ser  
 355 360 365

Asp Asp Ala Pro Asp Ala Asp Thr Ala Ile Ile Asn Ala Glu Gly Gly  
 370 375 380

Gln Ser Gly Gly Asp Asp Lys Lys Glu Tyr Phe Ile  
 385 390 395

<210> 18

<211> 398

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 18

Met Gly Ala Pro Ala Ala Ser Leu Leu Leu Leu Leu Leu Phe Ala  
 1 5 10 15

Cys Cys Trp Ala Pro Gly Gly Ala Asn Leu Ser Gln Asp Asp Ser Gln  
 20 25 30

Pro Trp Thr Ser Asp Glu Thr Val Val Ala Gly Gly Thr Val Val Leu  
 35 40 45

Lys Cys Gln Val Lys Asp His Glu Asp Ser Ser Leu Gln Trp Ser Asn  
 50 55 60

Pro Ala Gln Gln Thr Leu Tyr Phe Gly Glu Lys Arg Ala Leu Arg Asp  
 65 70 75 80

Asn Arg Ile Gln Leu Val Thr Ser Thr Pro His Glu Leu Ser Ile Ser  
 85 90 95

Ile Ser Asn Val Ala Leu Ala Asp Glu Gly Glu Tyr Thr Cys Ser Ile  
 100 105 110

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

Ile Pro Gln Lys Pro Ile Ile Thr Gly Tyr Lys Ser Ser Leu Arg Glu  
 130 135 140

5

10

ES 2 704 030 T3

Lys Asp Thr Ala Thr Leu Asn Cys Gln Ser Ser Gly Ser Lys Pro Ala  
 145 150 155 160  
 Ala Arg Leu Thr Trp Arg Lys Gly Asp Gln Glu Leu His Gly Glu Pro  
 165 170 175  
 Thr Arg Ile Gln Glu Asp Pro Asn Gly Lys Thr Phe Thr Val Ser Ser  
 180 185 190  
 Ser Val Thr Phe Gln Val Thr Arg Glu Asp Asp Gly Ala Ser Ile Val  
 195 200 205  
 Cys Ser Val Asn His Glu Ser Leu Lys Gly Ala Asp Arg Ser Thr Ser  
 210 215 220  
 Gln Arg Ile Glu Val Leu Tyr Thr Pro Thr Ala Met Ile Arg Pro Asp  
 225 230 235 240  
 Pro Pro His Pro Arg Glu Gly Gln Lys Leu Leu Leu His Cys Glu Gly  
 245 250 255  
 Arg Gly Asn Pro Val Pro Gln Gln Tyr Leu Trp Glu Lys Glu Gly Ser  
 260 265 270  
 Val Pro Pro Leu Lys Met Thr Gln Glu Ser Ala Leu Ile Phe Pro Phe  
 275 280 285  
 Leu Asn Lys Ser Asp Ser Gly Thr Tyr Gly Cys Thr Ala Thr Ser Asn  
 290 295 300  
 Met Gly Ser Tyr Lys Ala Tyr Tyr Thr Leu Asn Val Asn Asp Pro Ser  
 305 310 315 320  
 Pro Val Pro Ser Ser Ser Thr Tyr His Ala Ile Ile Gly Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ala Phe Ile Val Phe Leu Leu Leu Ile Met Leu Ile Phe Leu Gly  
 340 345 350  
 His Tyr Leu Ile Arg His Lys Gly Thr Tyr Leu Thr His Glu Ala Lys  
 355 360 365  
 Gly Ser Asp Asp Ala Pro Asp Ala Asp Thr Ala Ile Ile Asn Ala Glu  
 370 375 380  
 Gly Gly Gln Ser Gly Gly Asp Asp Lys Lys Glu Tyr Phe Ile  
 385 390 395

5 <210> 19  
 <211> 1210  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

ES 2 704 030 T3

<400> 19

Arg Ala Met Glu Pro Leu Leu Leu Gly Arg Gly Leu Ile Val Tyr Leu  
 1 5 10 15

Met Phe Leu Leu Leu Lys Phe Ser Lys Ala Ile Glu Ile Pro Ser Ser  
 20 25 30

Val Gln Gln Val Pro Thr Ile Ile Lys Gln Ser Lys Val Gln Val Ala  
 35 40 45

Phe Pro Phe Asp Glu Tyr Phe Gln Ile Glu Cys Glu Ala Lys Gly Asn  
 50 55 60

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

Thr Asp His Arg Ile Ile Pro Ser Asn Asn Ser Gly Thr Phe Arg Ile  
 85 90 95

Pro Asn Glu Gly His Ile Ser His Phe Gln Gly Lys Tyr Arg Cys Phe  
 100 105 110

Ala Ser Asn Lys Leu Gly Ile Ala Met Ser Glu Glu Ile Glu Phe Ile  
 115 120 125

Val Pro Ser Val Pro Lys Phe Pro Lys Glu Lys Ile Asp Pro Leu Glu  
 130 135 140

Val Glu Glu Gly Asp Pro Ile Val Leu Pro Cys Asn Pro Pro Lys Gly  
 145 150 155 160

Leu Pro Pro Leu His Ile Tyr Trp Met Asn Ile Glu Leu Glu His Ile  
 165 170 175

Glu Gln Asp Glu Arg Val Tyr Met Ser Gln Lys Gly Asp Leu Tyr Phe  
 180 185 190

Ala Asn Val Glu Glu Lys Asp Ser Arg Asn Asp Tyr Cys Cys Phe Ala  
 195 200 205

Ala Phe Pro Arg Leu Arg Thr Ile Val Gln Lys Met Pro Met Lys Leu

# ES 2 704 030 T3

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

ES 2 704 030 T3

Val Lys Pro Leu Glu Gly Arg Arg Tyr His Ile Tyr Glu Asn Gly Thr  
 465 470 475 480  
 Leu Gln Ile Asn Arg Thr Thr Glu Glu Asp Ala Gly Ser Tyr Ser Cys  
 485 490 495  
 Trp Val Glu Asn Ala Ile Gly Lys Thr Ala Val Thr Ala Asn Leu Asp  
 500 505 510  
 Ile Arg Asn Ala Thr Lys Leu Arg Val Ser Pro Lys Asn Pro Arg Ile  
 515 520 525  
 Pro Lys Leu His Met Leu Glu Leu His Cys Glu Ser Lys Cys Asp Ser  
 530 535 540  
 His Leu Lys His Ser Leu Lys Leu Ser Trp Ser Lys Asp Gly Glu Ala  
 545 550 555 560  
 Phe Glu Ile Asn Gly Thr Glu Asp Gly Arg Ile Ile Ile Asp Gly Ala  
 565 570 575  
 Asn Leu Thr Ile Ser Asn Val Thr Leu Glu Asp Gln Gly Ile Tyr Cys  
 580 585 590  
 Cys Ser Ala His Thr Ala Leu Asp Ser Ala Ala Asp Ile Thr Gln Val  
 595 600 605  
 Thr Val Leu Asp Val Pro Asp Pro Pro Glu Asn Leu His Leu Ser Glu  
 610 615 620  
 Arg Gln Asn Arg Ser Val Arg Leu Thr Trp Glu Ala Gly Ala Asp His  
 625 630 635 640  
 Asn Ser Asn Ile Ser Glu Tyr Ile Val Glu Phe Glu Gly Asn Lys Glu  
 645 650 655  
 Glu Pro Gly Arg Trp Glu Glu Leu Thr Arg Val Gln Gly Lys Lys Thr  
 660 665 670  
 Thr Val Ile Leu Pro Leu Ala Pro Phe Val Arg Tyr Gln Phe Arg Val  
 675 680 685  
 Ile Ala Val Asn Glu Val Gly Arg Ser Gln Pro Ser Gln Pro Ser Asp  
 690 695 700  
 His His Glu Thr Pro Pro Ala Ala Pro Asp Arg Asn Pro Gln Asn Ile  
 705 710 715 720



ES 2 704 030 T3

Arg Val Gln Ala Ser 725 Gln Pro Lys Glu Met 730 Ile Ile Lys Trp Glu Pro 735

Leu Lys Ser Met 740 Glu Gln Asn Gly Pro 745 Gly Leu Glu Tyr Arg Val Thr 750

Trp Lys Pro 755 Gln Gly Ala Pro Val 760 Glu Trp Glu Glu Glu Thr Val Thr 765

Asn His Thr 770 Leu Arg Val Met 775 Thr Pro Ala Val Tyr 780 Ala Pro Tyr Asp

Val 785 Lys Val Gln Ala Ile 790 Asn Gln Leu Gly Ser 795 Gly Pro Asp Pro Gln 800

Ser Val Thr 805 Leu Tyr 805 Ser Gly Glu Asp Tyr 810 Pro Asp Thr Ala Pro Val 815

Ile His Gly Val 820 Asp Val Ile Asn Ser 825 Thr Leu Val Lys Val Thr Trp 830

Ser Thr Val 835 Pro Lys Asp Arg Val 840 His Gly Arg Leu Lys 845 Gly Tyr Gln

Ile Asn Trp Trp Lys Thr Lys 855 Ser Leu Leu Asp Gly 860 Arg Thr His Pro

Lys Glu Val Asn Ile Leu Arg Phe Ser Gly Gln 875 Arg Asn Ser Gly Met 880

Val Pro Ser Leu Asp 885 Ala Phe Ser Glu Phe 890 His Leu Thr Val Leu Ala 895

Tyr Asn Ser Lys 900 Gly Ala Gly Pro Glu 905 Ser Glu Pro Tyr Ile Phe Gln 910

Thr Pro Glu 915 Gly Val Pro Glu Gln 920 Pro Thr Phe Leu Lys Val Ile Lys 925

Val Asp Lys Asp Thr Ala Thr 935 Leu Ser Trp Gly Leu 940 Pro Lys Lys Leu

Asn Gly Asn Leu Thr Gly Tyr Leu Leu Gln Tyr 955 Gln Ile Ile Asn Asp 960

Thr Tyr Glu Ile Gly 965 Glu Leu Asn Asp Ile 970 Asn Ile Thr Thr Pro Ser 975

ES 2 704 030 T3

Lys Pro Ser Trp His Leu Ser Asn Leu Asn Ala Thr Thr Lys Tyr Lys  
 980 985 990

Phe Tyr Leu Arg Ala Cys Thr Ser Gln Gly Cys Gly Lys Pro Ile Thr  
 995 1000 1005

Glu Glu Ser Ser Thr Leu Gly Glu Gly Ser Lys Gly Ile Gly Lys  
 1010 1015 1020

Ile Ser Gly Val Asn Leu Thr Gln Lys Thr His Pro Val Glu Val  
 1025 1030 1035

Phe Glu Pro Gly Ala Glu His Ile Val Arg Leu Met Thr Lys Asn  
 1040 1045 1050

Trp Gly Asp Asn Asp Ser Ile Phe Gln Asp Val Ile Glu Thr Arg  
 1055 1060 1065

Gly Arg Glu Tyr Ala Gly Leu Tyr Asp Asp Ile Ser Thr Gln Gly  
 1070 1075 1080

Trp Phe Ile Gly Leu Met Cys Ala Ile Ala Leu Leu Thr Leu Leu  
 1085 1090 1095

Leu Leu Thr Val Cys Phe Val Lys Arg Asn Arg Gly Gly Lys Tyr  
 1100 1105 1110

Ser Val Lys Glu Lys Glu Asp Leu His Pro Asp Pro Glu Ile Gln  
 1115 1120 1125

Ser Val Lys Asp Glu Thr Phe Gly Glu Tyr Ser Asp Ser Asp Glu  
 1130 1135 1140

Lys Pro Leu Lys Gly Ser Leu Arg Ser Leu Asn Arg Asp Met Gln  
 1145 1150 1155

Pro Thr Glu Ser Ala Asp Ser Leu Val Glu Tyr Gly Glu Gly Asp  
 1160 1165 1170

His Gly Leu Phe Ser Glu Asp Gly Ser Phe Ile Gly Ala Tyr Ala  
 1175 1180 1185

Gly Ser Lys Glu Lys Gly Ser Val Glu Ser Asn Gly Ser Ser Thr  
 1190 1195 1200

Ala Thr Phe Pro Leu Arg Ala

1205 1210

5 <210> 20  
 <211> 449  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

ES 2 704 030 T3

<400> 20

Met Met Lys Thr Leu Leu Leu Phe Val Gly Leu Leu Leu Thr Trp Glu  
 1 5 10 15

Ser Gly Gln Val Leu Gly Asp Gln Thr Val Ser Asp Asn Glu Leu Gln  
 20 25 30

Glu Met Ser Asn Gln Gly Ser Lys Tyr Val Asn Lys Glu Ile Gln Asn  
 35 40 45

Ala Val Asn Gly Val Lys Gln Ile Lys Thr Leu Ile Glu Lys Thr Asn  
 50 55 60

Glu Glu Arg Lys Thr Leu Leu Ser Asn Leu Glu Glu Ala Lys Lys Lys  
 65 70 75 80

Lys Glu Asp Ala Leu Asn Glu Thr Arg Glu Ser Glu Thr Lys Leu Lys  
 85 90 95

Glu Leu Pro Gly Val Cys Asn Glu Thr Met Met Ala Leu Trp Glu Glu  
 100 105 110

Cys Lys Pro Cys Leu Lys Gln Thr Cys Met Lys Phe Tyr Ala Arg Val  
 115 120 125

Cys Arg Ser Gly Ser Gly Leu Val Gly Arg Gln Leu Glu Glu Phe Leu  
 130 135 140

Asn Gln Ser Ser Pro Phe Tyr Phe Trp Met Asn Gly Asp Arg Ile Asp  
 145 150 155 160

Ser Leu Leu Glu Asn Asp Arg Gln Gln Thr His Met Leu Asp Val Met  
 165 170 175

Gln Asp His Phe Ser Arg Ala Ser Ser Ile Ile Asp Glu Leu Phe Gln  
 180 185 190

Asp Arg Phe Phe Thr Arg Glu Pro Gln Asp Thr Tyr His Tyr Leu Pro  
 195 200 205

Phe Ser Leu Pro His Arg Arg Pro His Phe Phe Phe Pro Lys Ser Leu

ES 2 704 030 T3

210 215 220

Ile Val Arg Ser Leu Met Pro Phe Ser Pro Tyr Glu Pro Leu Asn Phe  
 225 230 235 240

His Ala Met Phe Gln Pro Phe Leu Glu Met Ile His Glu Ala Gln Gln  
 245 250 255

Ala Met Asp Ile His Phe His Ser Pro Ala Phe Gln His Pro Pro Thr  
 260 265 270

Glu Phe Ile Arg Glu Gly Asp Asp Arg Thr Val Cys Arg Glu Ile  
 275 280 285

Arg His Asn Ser Thr Gly Cys Leu Arg Met Lys Asp Gln Cys Asp Lys  
 290 295 300

Cys Arg Glu Ile Leu Ser Val Asp Cys Ser Thr Asn Asn Pro Ser Gln  
 305 310 315 320

Ala Lys Leu Arg Arg Glu Leu Asp Glu Ser Leu Gln Val Ala Glu Arg  
 325 330 335

Leu Thr Arg Lys Tyr Asn Glu Leu Leu Lys Ser Tyr Gln Trp Lys Met  
 340 345 350

Leu Asn Thr Ser Ser Leu Leu Glu Gln Leu Asn Glu Gln Phe Asn Trp  
 355 360 365

Val Ser Arg Leu Ala Asn Leu Thr Gln Gly Glu Asp Gln Tyr Tyr Leu  
 370 375 380

Arg Val Thr Thr Val Ala Ser His Thr Ser Asp Ser Asp Val Pro Ser  
 385 390 395 400

Gly Val Thr Glu Val Val Val Lys Leu Phe Gly Ser Asp Pro Ile Thr  
 405 410 415

Val Thr Val Pro Val Glu Val Ser Arg Lys Asn Pro Lys Phe Met Glu  
 420 425 430

Thr Val Ala Glu Lys Ala Leu Gln Glu Tyr Arg Lys Lys His Arg Glu  
 435 440 445

Glu

<210> 21

<211> 274

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 21

5

ES 2 704 030 T3

Met Gln Asp His Phe Ser Arg Ala Ser Ser Ile Ile Asp Glu Leu Phe  
1 5 10 15

Gln Asp Arg Phe Phe Thr Arg Glu Pro Gln Asp Thr Tyr His Tyr Leu  
20 25 30

Pro Phe Ser Leu Pro His Arg Arg Pro His Phe Phe Phe Pro Lys Ser  
35 40 45

Arg Ile Val Arg Ser Leu Met Pro Phe Ser Pro Tyr Glu Pro Leu Asn  
50 55 60

Phe His Ala Met Phe Gln Pro Phe Leu Glu Met Ile His Glu Ala Gln  
65 70 75 80

Gln Ala Met Asp Ile His Phe His Ser Pro Ala Phe Gln His Pro Pro  
85 90 95

Thr Glu Phe Ile Arg Glu Gly Asp Asp Asp Arg Thr Val Cys Arg Glu  
100 105 110

Ile Arg His Asn Ser Thr Gly Cys Leu Arg Met Lys Asp Gln Cys Asp  
115 120 125

Lys Cys Arg Glu Ile Leu Ser Val Asp Cys Ser Thr Asn Asn Pro Ser  
130 135 140

Gln Ala Lys Leu Arg Arg Glu Leu Asp Glu Ser Leu Gln Val Ala Glu  
145 150 155 160

Arg Leu Thr Arg Lys Tyr Asn Glu Leu Leu Lys Ser Tyr Gln Trp Lys  
165 170 175

Met Leu Asn Thr Ser Ser Leu Leu Glu Gln Leu Asn Glu Gln Phe Asn  
180 185 190

Trp Val Ser Arg Leu Ala Asn Leu Thr Gln Gly Glu Asp Gln Tyr Tyr  
195 200 205

Leu Arg Val Thr Thr Val Ala Ser His Thr Ser Asp Ser Asp Val Pro  
210 215 220

Ser Gly Val Thr Glu Val Val Val Lys Leu Phe Asp Ser Asp Pro Ile  
225 230 235 240

Thr Val Thr Val Pro Val Glu Val Ser Arg Lys Asn Pro Lys Phe Met  
245 250 255

Glu Thr Val Ala Glu Lys Ala Leu Gln Glu Tyr Arg Lys Lys His Arg  
260 265 270

Glu Glu

ES 2 704 030 T3

<211> 253  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

5

<400> 22  
 Gly Ser Ser Glu His Leu Lys Arg Glu His Ser Leu Ile Lys Pro Tyr  
 1 5 10 15  
 Gln Gly Val Gly Ser Ser Ser Met Pro Leu Trp Asp Phe Gln Gly Ser  
 20 25 30  
 Thr Ile Leu Thr Ser Gln Tyr Val Arg Leu Thr Pro Asp Glu Arg Ser  
 35 40 45  
 Lys Glu Gly Ser Ile Trp Asn His Gln Pro Cys Phe Leu Lys Asp Trp  
 50 55 60  
 Glu Met His Val His Phe Lys Val His Gly Thr Gly Lys Lys Asn Leu  
 65 70 75 80  
 His Gly Asp Gly Ile Ala Leu Trp Tyr Thr Arg Asp Arg Leu Val Pro  
 85 90 95  
 Gly Pro Val Phe Gly Ser Lys Asp Asn Phe His Gly Leu Ala Ile Phe  
 100 105 110  
 Leu Asp Thr Tyr Pro Asn Asp Glu Thr Thr Glu Arg Val Phe Pro Tyr  
 115 120 125  
 Ile Ser Val Met Val Asn Asn Gly Ser Leu Ser Tyr Asp His Ser Lys  
 130 135 140  
 Asp Gly Arg Trp Thr Glu Leu Ala Gly Cys Thr Ala Asp Phe Arg Asn  
 145 150 155 160  
 Arg Asp His Asp Thr Phe Leu Ala Val Arg Tyr Ser Arg Gly Arg Leu  
 165 170 175  
 Thr Val Met Thr Asp Leu Glu Asp Lys Asn Glu Trp Lys Asn Cys Ile  
 180 185 190  
 Asp Ile Thr Gly Val Arg Leu Pro Thr Gly Tyr Tyr Phe Gly Ala Ser  
 195 200 205  
 Ala Gly Thr Gly Asp Leu Ser Asp Asn His Asp Ile Ile Ser Met Lys  
 210 215 220  
 Leu Phe Gln Leu Met Val Glu His Thr Pro Asp Glu Glu Asn Ile Asp  
 225 230 235 240  
 Trp Thr Lys Ile Glu Pro Ser Val Asn Phe Leu Lys Ser  
 245 250

10

<210> 23  
 <211> 501

ES 2 704 030 T3

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 23

Met Gln Val Cys Ser Gln Pro Gln Arg Gly Cys Val Arg Glu Gln Ser  
1 5 10 15

Ala Ile Asn Thr Ala Pro Pro Ser Ala His Asn Ala Ala Ser Pro Gly  
20 25 30

Gly Ala Arg Gly His Arg Val Pro Leu Thr Glu Ala Cys Lys Asp Ser  
35 40 45

Arg Ile Gly Gly Met Met Lys Thr Leu Leu Leu Phe Val Gly Leu Leu  
50 55 60

Leu Thr Trp Glu Ser Gly Gln Val Leu Gly Asp Gln Thr Val Ser Asp  
65 70 75 80

Asn Glu Leu Gln Glu Met Ser Asn Gln Gly Ser Lys Tyr Val Asn Lys  
85 90 95

Glu Ile Gln Asn Ala Val Asn Gly Val Lys Gln Ile Lys Thr Leu Ile  
100 105 110

Glu Lys Thr Asn Glu Glu Arg Lys Thr Leu Leu Ser Asn Leu Glu Glu  
115 120 125

5

ES 2 704 030 T3

Ala Lys Lys Lys Glu Asp Ala Leu Asn Glu Thr Arg Glu Ser Glu  
130 135 140

Thr Lys Leu Lys Glu Leu Pro Gly Val Cys Asn Glu Thr Met Met Ala  
145 150 155 160

Leu Trp Glu Glu Cys Lys Pro Cys Leu Lys Gln Thr Cys Met Lys Phe  
165 170 175

Tyr Ala Arg Val Cys Arg Ser Gly Ser Gly Leu Val Gly Arg Gln Leu  
180 185 190

Glu Glu Phe Leu Asn Gln Ser Ser Pro Phe Tyr Phe Trp Met Asn Gly  
195 200 205

Asp Arg Ile Asp Ser Leu Leu Glu Asn Asp Arg Gln Gln Thr His Met  
210 215 220

Leu Asp Val Met Gln Asp His Phe Ser Arg Ala Ser Ser Ile Ile Asp  
225 230 235 240

Glu Leu Phe Gln Asp Arg Phe Phe Thr Arg Glu Pro Gln Asp Thr Tyr  
245 250 255

His Tyr Leu Pro Phe Ser Leu Pro His Arg Arg Pro His Phe Phe Phe  
260 265 270

Pro Lys Ser Arg Ile Val Arg Ser Leu Met Pro Phe Ser Pro Tyr Glu  
275 280 285

Pro Leu Asn Phe His Ala Met Phe Gln Pro Phe Leu Glu Met Ile His  
290 295 300

Glu Ala Gln Gln Ala Met Asp Ile His Phe His Ser Pro Ala Phe Gln  
305 310 315 320

His Pro Pro Thr Glu Phe Ile Arg Glu Gly Asp Asp Asp Arg Thr Val  
325 330 335

Cys Arg Glu Ile Arg His Asn Ser Thr Gly Cys Leu Arg Met Lys Asp  
340 345 350

Gln Cys Asp Lys Cys Arg Glu Ile Leu Ser Val Asp Cys Ser Thr Asn  
355 360 365

Asn Pro Ser Gln Ala Lys Leu Arg Arg Glu Leu Asp Glu Ser Leu Gln  
370 375 380



ES 2 704 030 T3

Val Ala Glu Arg Leu Thr Arg Lys Tyr Asn Glu Leu Leu Lys Ser Tyr  
385 390 395 400

Gln Trp Lys Met Leu Asn Thr Ser Ser Leu Leu Glu Gln Leu Asn Glu  
405 410 415

Gln Phe Asn Trp Val Ser Arg Leu Ala Asn Leu Thr Gln Gly Glu Asp  
420 425 430

Gln Tyr Tyr Leu Arg Val Thr Thr Val Ala Ser His Thr Ser Asp Ser  
435 440 445

Asp Val Pro Ser Gly Val Thr Glu Val Val Val Lys Leu Phe Asp Ser  
450 455 460

Asp Pro Ile Thr Val Thr Val Pro Val Glu Val Ser Arg Lys Asn Pro  
465 470 475 480

Lys Phe Met Glu Thr Val Ala Glu Lys Ala Leu Gln Glu Tyr Arg Lys  
485 490 495

Lys His Arg Glu Glu  
500

<210> 24  
<211> 240  
<212> PRT  
<213> homo sapiens

5

<400> 24  
Met Leu Ala Leu Leu Cys Ser Cys Leu Leu Leu Ala Ala Gly Ala Ser  
1 5 10 15

Asp Ala Trp Thr Gly Glu Asp Ser Ala Glu Pro Asn Ser Asp Ser Ala  
20 25 30

Glu Trp Ile Arg Asp Met Tyr Ala Lys Val Thr Glu Ile Trp Gln Glu  
35 40 45

Val Met Gln Arg Arg Asp Asp Asp Gly Ala Leu His Ala Ala Cys Gln  
50 55 60

Val Gln Pro Ser Ala Thr Leu Asp Ala Ala Gln Pro Arg Val Thr Gly  
65 70 75 80

Val Val Leu Phe Arg Gln Leu Ala Pro Arg Ala Lys Leu Asp Ala Phe  
85 90 95

10

ES 2 704 030 T3

Phe Ala Leu Glu Gly Phe Pro Thr Glu Pro Asn Ser Ser Ser Arg Ala  
 100 105 110

Ile His Val His Gln Phe Gly Asp Leu Ser Gln Gly Cys Glu Ser Thr  
 115 120 125

Gly Pro His Tyr Asn Pro Leu Ala Val Pro His Pro Gln His Pro Gly  
 130 135 140

Asp Phe Gly Asn Phe Ala Val Arg Asp Gly Ser Leu Trp Arg Tyr Arg  
 145 150 155 160

Ala Gly Leu Ala Ala Ser Leu Ala Gly Pro His Ser Ile Val Gly Arg  
 165 170 175

Ala Val Val Val His Ala Gly Glu Asp Asp Leu Gly Arg Gly Gly Asn  
 180 185 190

Gln Ala Ser Val Glu Asn Gly Asn Ala Gly Arg Arg Leu Ala Cys Cys  
 195 200 205

Val Val Gly Val Cys Gly Pro Gly Leu Trp Glu Arg Gln Ala Arg Glu  
 210 215 220

His Ser Glu Arg Lys Lys Arg Arg Arg Glu Ser Glu Cys Lys Ala Ala  
 225 230 235 240

<210> 25  
 <211> 134  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

5

<400> 25  
 Asp Leu Gly Thr Leu Ser Gly Ile Gly Thr Leu Asp Gly Phe Arg His  
 1 5 10 15

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

Thr Phe Pro Gly Phe Phe Ser Pro Met Leu Gly Glu Phe Val Ser Glu  
 35 40 45

Thr Glu Ser Arg Gly Ser Glu Ser Gly Ile Phe Thr Asn Thr Lys Glu  
 50 55 60

Ser Ser Ser His His Pro Gly Ile Ala Glu Phe Pro Ser Arg Gly Lys  
 65 70 75 80

10

ES 2 704 030 T3

Ser Ser Ser Tyr Ser<sub>85</sub> Lys Gln Phe Thr Ser<sub>90</sub> Ser Thr Ser Tyr Asn Arg<sub>95</sub>

Gly Asp Ser Thr<sub>100</sub> Phe Glu Ser Lys Ser<sub>105</sub> Tyr Lys Met Ala Asp<sub>110</sub> Glu Ala

Gly Ser Glu<sub>115</sub> Ala Asp His Glu Gly<sub>120</sub> Thr His Ser Thr Lys<sub>125</sub> Arg Gly His

Ala Lys<sub>130</sub> Ser Arg Pro Val

<210> 26

<211> 223

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 26

Leu Val<sub>1</sub> His Gly Gly<sub>5</sub> Pro Cys Asp Lys Thr<sub>10</sub> Ser His Pro Tyr Gln Ala<sub>15</sub>

Ala Leu Tyr Thr<sub>20</sub> Ser Gly His Leu Leu<sub>25</sub> Cys Gly Gly Val<sub>30</sub> Leu Ile His

Pro Leu Trp<sub>35</sub> Val Leu Thr Ala Ala<sub>40</sub> His Cys Lys Lys<sub>45</sub> Pro Asn Leu Gln

Val Phe<sub>50</sub> Leu Gly Lys His Asn<sub>55</sub> Leu Arg Gln Arg Glu<sub>60</sub> Ser Ser Gln Glu

Gln Ser Ser Val Val<sub>70</sub> Arg Ala Val Ile His Pro<sub>75</sub> Asp Tyr Asp Ala Ala<sub>80</sub>

Ser His Asp Gln Asp<sub>85</sub> Ile Met Leu Leu Arg<sub>90</sub> Leu Ala Arg Pro Ala Lys<sub>95</sub>

Leu Ser Glu Leu<sub>100</sub> Ile Gln Pro Leu Pro<sub>105</sub> Leu Glu Arg Asp Cys<sub>110</sub> Ser Ala

Asn Thr Thr<sub>115</sub> Ser Cys His Ile Leu Gly Trp Gly Lys Thr<sub>125</sub> Ala Asp Gly

Asp Phe<sub>130</sub> Pro Asp Thr Ile Gln<sub>135</sub> Cys Ala Tyr Ile His<sub>140</sub> Leu Val Ser Arg

Glu Glu Cys Glu His Ala<sub>150</sub> Tyr Pro Gly Gln Ile<sub>155</sub> Thr Gln Asn Met Leu<sub>160</sub>

5

10

ES 2 704 030 T3

Cys Ala Gly Asp Glu Lys Tyr Gly Lys Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser  
165 170 175

Gly Gly Pro Leu Val Cys Gly Asp His Leu Arg Gly Leu Val Ser Trp  
180 185 190

Gly Asn Ile Pro Cys Gly Ser Lys Glu Lys Pro Gly Val Tyr Thr Asn  
195 200 205

Val Cys Arg Tyr Thr Asn Trp Ile Gln Lys Thr Ile Gln Ala Lys  
210 215 220

<210> 27

<211> 204

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 27

His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val  
1 5 10 15

Thr Asp His Val Asn Leu Ile Thr Pro Leu Glu Lys Pro Leu Gln Asn  
20 25 30

Phe Thr Leu Cys Phe Arg Ala Tyr Ser Asp Leu Ser Arg Ala Tyr Ser  
35 40 45

Leu Phe Ser Tyr Asn Thr Gln Gly Arg Asp Asn Glu Leu Leu Val Tyr  
50 55 60

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

Thr Ser Lys Val Ile Glu Lys Phe Pro Ala Pro Val His Ile Cys Val  
85 90 95

Ser Trp Glu Ser Ser Ser Gly Ile Ala Glu Phe Trp Ile Asn Gly Thr  
100 105 110

Pro Leu Val Lys Lys Gly Leu Arg Gln Gly Tyr Phe Val Glu Ala Gln  
115 120 125

Pro Lys Ile Val Leu Gly Gln Glu Gln Asp Ser Tyr Gly Gly Lys Phe  
130 135 140

Asp Arg Ser Gln Ser Phe Val Gly Glu Ile Gly Asp Leu Tyr Met Trp  
145 150 155 160

5

10

ES 2 704 030 T3

Asp Ser Val Leu Pro Pro Glu Asn Ile Leu Ser Ala Tyr Gln Gly Thr  
 165 170 175

Pro Leu Pro Ala Asn Ile Leu Asp Trp Gln Ala Leu Asn Tyr Glu Ile  
 180 185 190

Arg Gly Tyr Val Ile Ile Lys Pro Leu Val Trp Val  
 195 200

<210> 28

<211> 227

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 28

Met Arg Val Ala Gly Ala Ala Lys Leu Val Val Ala Val Ala Val Phe  
 1 5 10 15

Leu Leu Thr Phe Tyr Val Ile Ser Gln Val Phe Glu Ile Lys Met Asp  
 20 25 30

Ala Ser Leu Gly Asn Leu Phe Ala Arg Ser Ala Leu Asp Thr Ala Ala  
 35 40 45

His Ser Thr Lys Pro Pro Arg Tyr Lys Cys Gly Ile Ser Lys Ala Cys  
 50 55 60

Pro Glu Lys His Phe Ala Phe Lys Met Ala Ser Gly Ala Ala Asn Val  
 65 70 75 80

Val Gly Pro Lys Ile Cys Leu Glu Asp Asn Val Leu Met Ser Gly Val  
 85 90 95

Lys Asn Asn Val Gly Arg Gly Ile Asn Val Ala Leu Ala Asn Gly Lys  
 100 105 110

Thr Gly Glu Val Leu Asp Thr Lys Tyr Phe Asp Met Trp Gly Gly Asp  
 115 120 125

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

Val Leu Met Gly Thr Tyr Asp Asp Gly Ala Thr Lys Leu Asn Asp Glu  
 145 150 155 160

Ala Arg Arg Leu Ile Ala Asp Leu Gly Ser Thr Ser Ile Thr Asn Leu  
 165 170 175

5

10

ES 2 704 030 T3

Gly Phe Arg Asp Asn Trp Val Phe Cys Gly Gly Lys Gly Ile Lys Thr  
 180 185 190

Lys Ser Pro Phe Glu Gln His Ile Lys Asn Asn Lys Asp Thr Asn Lys  
 195 200 205

Tyr Glu Gly Trp Pro Glu Val Val Glu Met Glu Gly Cys Ile Pro Gln  
 210 215 220

Lys Gln Asp  
 225

<210> 29

<211> 398

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 29

Met Gly Ala Pro Ala Ala Ser Leu Leu Leu Leu Leu Leu Phe Ala  
 1 5 10 15

Cys Cys Trp Ala Pro Gly Gly Ala Asn Leu Ser Gln Asp Asp Ser Gln  
 20 25 30

Pro Trp Thr Ser Asp Glu Thr Val Val Ala Gly Gly Thr Val Val Leu  
 35 40 45

Lys Cys Gln Val Lys Asp His Glu Asp Ser Ser Leu Gln Trp Ser Asn  
 50 55 60

Pro Ala Gln Gln Thr Leu Tyr Phe Gly Glu Lys Arg Ala Leu Arg Asp  
 65 70 75 80

Asn Arg Ile Gln Leu Val Thr Ser Thr Pro His Glu Leu Ser Ile Ser  
 85 90 95

Ile Ser Asn Val Ala Leu Ala Asp Glu Gly Glu Tyr Thr Cys Ser Ile  
 100 105 110

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

Ile Pro Gln Lys Pro Ile Ile Thr Gly Tyr Lys Ser Ser Leu Arg Glu  
 130 135 140

Lys Asp Thr Ala Thr Leu Asn Cys Gln Ser Ser Gly Ser Lys Pro Ala  
 145 150 155 160

5

10

ES 2 704 030 T3

Ala Arg Leu Thr Trp Arg Lys Gly Asp Gln Glu Leu His Gly Glu Pro  
 165 170 175

Thr Arg Ile Gln Glu Asp Pro Asn Gly Lys Thr Phe Thr Val Ser Ser  
 180 185 190

Ser Val Thr Phe Gln Val Thr Arg Glu Asp Asp Gly Ala Ser Ile Val  
 195 200 205

Cys Ser Val Asn His Glu Ser Leu Lys Gly Ala Asp Arg Ser Thr Ser  
 210 215 220

Gln Arg Ile Glu Val Leu Tyr Thr Pro Thr Ala Met Ile Arg Pro Asp  
 225 230 235 240

Pro Pro His Pro Arg Glu Gly Gln Lys Leu Leu Leu His Cys Glu Gly  
 245 250 255

Arg Gly Asn Pro Val Pro Gln Gln Tyr Leu Trp Glu Lys Glu Gly Ser  
 260 265 270

Val Pro Pro Leu Lys Met Thr Gln Glu Ser Ala Leu Ile Phe Pro Phe  
 275 280 285

Leu Asn Lys Ser Asp Ser Gly Thr Tyr Gly Cys Thr Ala Thr Ser Asn  
 290 295 300

Met Gly Ser Tyr Lys Ala Tyr Tyr Thr Leu Asn Val Asn Asp Pro Ser  
 305 310 315 320

Pro Val Pro Ser Ser Ser Thr Tyr His Ala Ile Ile Gly Gly Ile  
 325 330 335

Val Ala Phe Ile Val Phe Leu Leu Leu Ile Met Leu Ile Phe Leu Gly  
 340 345 350

His Tyr Leu Ile Arg His Lys Gly Thr Tyr Leu Thr His Glu Ala Lys  
 355 360 365

Gly Ser Asp Asp Ala Pro Asp Ala Asp Thr Ala Ile Ile Asn Ala Glu  
 370 375 380

Gly Gly Gln Ser Gly Gly Asp Asp Lys Lys Glu Tyr Phe Ile  
 385 390 395

**REIVINDICACIONES**

1.            Uso de un dispositivo en un método *in vitro* para detectar la presencia o ausencia de líquido cefalorraquídeo (LCR) en una muestra, comprendiendo dicho método
- 5 poner en contacto la muestra con un compañero de unión específico para una proteína enriquecida con LCR, y detectar complejos de compañero de unión-proteína enriquecida con LCR, si están presentes, en donde la presencia de complejos detectables indica la presencia de dicha proteína enriquecida con LCR en la muestra;
- 10 en el que la proteína enriquecida con LCR es un precursor de homólogo de dickkopf 3, ADNc FLJ59893 (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gi|40548389); o una forma desfosforilada o fosforilada enriquecida con LCR de la proteína enriquecida con LCR anterior,
- comprendiendo dicho dispositivo
- una región de aplicación de muestras,
- una región de etiquetado de muestras que comprende un primer anticuerpo contra dicha proteína enriquecida con LCR, en donde el primer anticuerpo está conjugado con una partícula móvil;
- 15 una región de detección de muestras que comprende un segundo anticuerpo contra dicha proteína enriquecida con LCR, en donde el segundo anticuerpo se fija a la región de detección de muestras,
- en donde la formación de una banda detectable en la segunda región después de la aplicación de la muestra a la región de aplicación de muestras indica la presencia de dicha proteína enriquecida con LCR en la muestra.
- 20 2.            El uso de la reivindicación 1, en el que el dispositivo comprende de dos a diez anticuerpos diferentes, cada uno de los cuales se une específicamente a una proteína enriquecida con LCR diferente.
3.            El uso de la reivindicación 2, en el que el dispositivo proporciona un único resultado combinado, o el dispositivo proporciona un resultado individual para cada anticuerpo, o
- 25 en el que cada anticuerpo se emplea a un nivel por debajo del umbral.
4.            El uso de la reivindicación 2, en el que el dispositivo comprende de cuatro a diez anticuerpos diferentes, cada uno de los cuales se une específicamente a una proteína enriquecida con LCR diferente, y en el que una prueba positiva no requiere la unión a todos los anticuerpos.
- 30 5.            El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que el primer anticuerpo contra dicha proteína enriquecida con LCR se une a una modificación postraduccional en la proteína enriquecida con LCR.
6.            El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 2-5, en el que de dos a diez anticuerpos se
- 35 seleccionan de
- (i) un anticuerpo que se une a un precursor de homólogo de dickkopf 3, ADNc FLJ59893 (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gi|40548389); o una forma desfosforilada o fosforilada enriquecida con LCR de los mismos; y
- 40 (ii) un anticuerpo que se une a un precursor de Contactina 2 CNTN2 (SEQ ID NO: 3; Número de Acceso gi|4827022); fragmento posiblemente ligeramente más largo (~96 kDa) de la proteína NRCAM (molécula de adhesión celular neuronal)[Homo sapiens] (SEQ ID NO: 6; Número de Acceso: gi|68534652 y SEQ ID NO: 7; Número de Acceso: gi|109731501); Isoforma 1 de proteína de tipo molécula de adhesión celular neural (SEQ ID NO: 1; Número de Acceso gi:62088238); Cadena A, mesotripsina humana en complejo con el inhibidor de tripsina pancreática bovina (Bpti) (SEQ ID NO:2; Número de acceso gi:162330095); Isoforma 2
- 45 de Contactina 1 CNTN1 (SEQ ID NO: 4; Número de Acceso gi:28373119); ADNc muy similar a la proteína 1 de tipo SPARC (producto proteico anónimo) (SEQ ID NO: 5; Número de Acceso: gi|194388050); molécula de adhesión celular neural 2 NCAM2, isoforma CRA\_a (SEQ ID NO: 8; Número de Acceso gi|119630409); inhibidor de serpina peptidasa SERPINA3, clado A, precursor del elemento 3/Isoforma 1 de alfa-1-antiquimiotripsina/proteína de inhibición del crecimiento 25 [Homo sapiens] o fragmento ligeramente más largo del precursor de alfa-1-antiquimiotripsina (SEQ ID NO: 9; Número de Acceso gi|46981961); angiotensinógeno AGT (SEQ ID NO: 10; Número de Acceso gi|553181); precursor de angiotensinógeno (Serpina A8) (SEQ ID NO: 11; Número de Acceso gi|4557287); producto proteico anónimo también denominado superfamilia de inmunoglobulinas, elemento 4B; en seres humanos, también se denomina
- 50 molécula de adhesión celular 3 (SEQ ID NO: 12; Número de Acceso gi|187608363); inhibidor de serina (o cisteína) proteinasa SERPINF1, clado F (alfa-2 antiplasmina, factor derivado del epitelio pigmentario, Pdf), factor de la isoforma 4 del elemento 1 (SEQ ID NO: 14; Número de Acceso gi|15988024); proteína humana similar a la proteína de unión a vitamina D GC PREVISTA: proteína de unión a vitamina D [Pan troglodytes] (SEQ ID NO: 15; Número de Acceso 181482); antígeno CD14 de monocitos humanos CD14 (CD14) (SEQ
- 55



5 ID NO: 16; Número de Acceso gij117646212); molécula de adhesión celular de Homo sapiens 3 CADM3 (CADM3), variante de transcripción 1 (SEQ ID NO: 17; Número de Acceso gij90080503; SEQ ID NO: 18; gij187608363 (humana); variante de molécula de adhesión celular neural (SEQ ID NO: 19; Número de Acceso gi:62088238); proteína anónima similar a ADNc CLU FLJ57622, muy similar a la clusterina (SEQ ID NO: 20; Número de acceso gij189054091); proteína muy similar a la clusterina (SEQ ID NO: 21; Número de acceso gij193787502); proteína de la membrana integral vesicular LMAN2 VIP36 (SEQ ID NO: 22; Número de acceso gij157834800); isoforma 1 de clusterina [Homo sapiens] (SEQ ID NO: 23; Número de acceso NM\_001831.2); superóxido dismutasa 3, precursor extracelular (SEQ ID NO: 24; Número de acceso gij118582275); fragmento del extremo C de fibrina alfa (SEQ ID NO: 25; Número de acceso gij223057);  
 10 Cadena A, Forma activa de calicreína humana 6 (Hk6) o la Isoforma 1 de calicreína 6 KLK6 (SEQ ID NO: 26; Número de acceso gij21465970); componente P de amiloide sérico APCS/componente P de amiloide sérico humano de cadena A o pentamérico (SEQ ID NO: 27; Número de acceso gij576259); proteína FAM3C FAM3C/familia con similitud de secuencia 3, precursor del elemento C [Homo sapiens] nota =  
 15 "proteína de osteoblastos prevista; inductor EMT de tipo interleucina (SEQ ID NO: 28; Número de acceso gij55629272); proteína similar al producto proteico anónimo [Macaca fascicularis], también se denomina superfamilia de inmunoglobulinas, elemento 4B; en seres humanos, también se denomina molécula de adhesión celular 3 (SEQ ID NO: 29; Número de acceso gij187608363); o una forma desfosforilada o fosforilada enriquecida con LCR de las proteínas enriquecidas con LCR anteriores.

20 7. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 2-5, en el que de dos a diez anticuerpos diferentes se seleccionan de

25 (i) un anticuerpo que se une a un precursor de homólogo de dickkopf 3, ADNc FLJ59893 (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gij40548389); o una forma desfosforilada o fosforilada enriquecida con LCR de los mismos; y

30 (ii) un anticuerpo que se une a un precursor de Contactina 2 CNTN2 (SEQ ID NO: 3; Número de Acceso gij4827022); fragmento posiblemente ligeramente más largo (~96 kDa) de la proteína NRCAM (molécula de adhesión celular neuronal)[Homo sapiens] (SEQ ID NO: 6; Número de Acceso: gij68534652 y SEQ ID NO: 7); molécula de adhesión celular de Homo sapiens 3 CADM3 (CADM3), variante de transcripción 1 (SEQ ID NO: 17); variante de molécula de adhesión celular neural (SEQ ID NO: 19; Número de Acceso gi:62088238); o una forma desfosforilada o fosforilada enriquecida con LCR de las proteínas enriquecidas con LCR anteriores.

35 8. Un método *in vitro* para detectar la presencia o ausencia de LCR en una muestra, comprendiendo dicho método

poner en contacto la muestra con un compañero de unión específico para una proteína enriquecida con LCR, y detectar complejos de compañero de unión-proteína enriquecida con LCR, si están presentes, en donde la presencia de complejos detectables indica la presencia de dicha proteína enriquecida con LCR en la muestra;

40 en el que la proteína enriquecida con LCR es un precursor de homólogo de dickkopf 3, ADNc FLJ59893 (SEQ ID NO: 13; Número de Acceso gij40548389); o una forma desfosforilada o fosforilada enriquecida con LCR de la proteína enriquecida con LCR anterior.

45 9. El método de la reivindicación 8, que comprende, además poner en contacto la muestra con un compañero de unión específico para una segunda proteína enriquecida con LCR, y

detectar los complejos de compañero de unión-proteína enriquecida con LCR, si están presentes, en donde la presencia de complejos detectables indica la presencia de dicha segunda proteína enriquecida con LCR en la muestra;

en donde la segunda proteína enriquecida con LCR es

50 precursor de contactina 2 CNTN2 (SEQ ID NO: 3; Número de Acceso gij4827022); fragmento posiblemente ligeramente más largo (~96 kDa) de la proteína NRCAM (molécula de adhesión celular neuronal)[Homo sapiens] (SEQ ID NO: 6; Número de Acceso: gij68534652 y SEQ ID NO: 7; Número de Acceso: gij109731501); Isoforma 1 de proteína de tipo molécula de adhesión celular neural (SEQ ID NO: 1; Número de Acceso gi:62088238); Cadena A, mesotripsina humana en complejo con el inhibidor de tripsina pancreática bovina (Bpti) (SEQ ID NO:2; Número de acceso gi:162330095); Isoforma 2 de Contactina 1 CNTN1 (SEQ ID NO: 4; Número de Acceso gi:28373119); ADNc muy similar a la proteína 1 de tipo SPARC (producto proteico anónimo) (SEQ ID NO: 5; Número de Acceso: gij194388050); molécula de adhesión celular neural 2 NCAM2, isoforma CRA\_a (SEQ ID NO: 8; Número de Acceso gij119630409); inhibidor de serpina peptidasa SERPINA3, clado A, precursor del elemento 3/Isoforma 1 de alfa-1-antiquimiotripsina/proteína de inhibición del crecimiento 25 [Homo sapiens] o fragmento ligeramente más largo del

precursor de alfa-1-antiquimiotripsina (SEQ ID NO: 9; Número de Acceso gij46981961); angiotensinógeno AGT (SEQ ID NO: 10; Número de Acceso gij553181); precursor de angiotensinógeno (Serpina A8) (SEQ ID NO: 11; Número de Acceso gij4557287); producto proteico anónimo también denominado superfamilia de inmunoglobulinas, elemento 4B; en seres humanos, también se denomina molécula de adhesión celular 3 (SEQ ID NO: 12; Número de Acceso gij187608363); inhibidor de serina (o cisteína) proteinasa SERPINF1, clado F (alfa-2 antiplasmina, factor derivado del epitelio pigmentario, Pedf), factor de la isoforma 4 del elemento 1 (SEQ ID NO: 14; Número de Acceso gij15988024); proteína humana similar a la proteína de unión a vitamina D GC PREVISTA: proteína de unión a vitamina D [Pan troglodytes] (SEQ ID NO: 15; Número de Acceso 181482); antígeno CD14 de monocitos humanos CD14 (CD14) (SEQ ID NO: 16; Número de Acceso gij117646212); molécula de adhesión celular de Homo sapiens 3  
 10 CADM3 (CADM3), variante de transcripción 1 (SEQ ID NO: 17; Número de Acceso gij90080503; SEQ ID NO: 18; gij187608363 (humana); variante de molécula de adhesión celular neural (SEQ ID NO: 19; Número de Acceso gi:62088238); proteína anónima similar a ADNc CLU FLJ57622, muy similar a la clusterina (SEQ ID NO: 20; Número de acceso gij189054091); proteína muy similar a la clusterina (SEQ ID NO: 21; Número de acceso gij193787502); proteína de la membrana integral vesicular LMAN2 VIP36 (SEQ ID NO: 22; Número de acceso gij157834800);  
 15 isoforma 1 de clusterina [Homo sapiens] (SEQ ID NO: 23; Número de acceso NM\_001831.2); superóxido dismutasa 3, precursor extracelular (SEQ ID NO: 24; Número de acceso gij118582275); fragmento del extremo C de fibrina alfa (SEQ ID NO: 25; Número de acceso gij223057); Cadena A, Forma activa de calicreína humana 6 (Hk6) o la Isoforma 1 de calicreína 6 KLK6 (SEQ ID NO: 26; Número de acceso gij21465970); componente P de amiloide sérico APCS/componente P de amiloide sérico humano de cadena A o pentamérico (SEQ ID NO: 27; Número de acceso gij576259); proteína FAM3C FAM3C/familia con similitud de secuencia 3, precursor del elemento C [Homo sapiens] nota = "proteína de osteoblastos prevista; inductor EMT de tipo interleucina (SEQ ID NO: 28; Número de acceso gij55629272); proteína similar al producto proteico anónimo [Macaca fascicularis], también se denomina superfamilia de inmunoglobulinas, elemento 4B; en seres humanos, también se denomina molécula de adhesión celular 3 (SEQ ID NO: 29; Número de acceso gij187608363); o una forma desfosforilada o fosforilada enriquecida con LCR de las  
 25 proteínas enriquecidas con LCR anteriores.

10. El método de la reivindicación 8, que comprende, además poner en contacto la muestra con un compañero de unión específico para una segunda proteína enriquecida con LCR,

30 y detectar los complejos de compañero de unión-proteína enriquecida con LCR, si están presentes, en donde la presencia de complejos detectables indica la presencia de dicha segunda proteína enriquecida con LCR en la muestra;

en donde la segunda proteína enriquecida con LCR es  
 35 precursor de Contactina 2 CNTN2 (SEQ ID NO: 3; Número de Acceso gij4827022); fragmento posiblemente ligeramente más largo (~96 kDa) de la proteína NRCAM (molécula de adhesión celular neuronal)[Homo sapiens] (SEQ ID NO: 6; Número de Acceso: gij68534652 y SEQ ID NO: 7); molécula de adhesión celular de Homo sapiens 3 CADM3 (CADM3), variante de transcripción 1 (SEQ ID NO: 17); variante de molécula de adhesión celular neural (SEQ ID NO: 19; Número de Acceso gi:62088238); o una forma desfosforilada o fosforilada enriquecida con LCR de  
 40 las proteínas enriquecidas con LCR anteriores.

11. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 8-10, en el que el compañero de unión comprende una etiqueta detectable.

45 12. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 8-11, que comprende además cuantificar la cantidad de complejos de compañero de unión-proteína enriquecida con LCR en la muestra.

13. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 8-10, en el que el compañero de unión es un anticuerpo y la detección comprende (i) unión a anticuerpo diferencial o (ii) un inmunoensayo *in situ*.

50 14. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 8-10, en el que la muestra es tejido, sangre, suero, plasma, orina, efluentes nasales y de oído, saliva, sudor o lágrimas, y/o en el que la muestra es de un individuo que se sospecha que tiene una lesión cerebral.

55 15. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 8-10, en el que el compañero de unión es un anticuerpo y (i) el método comprende poner en contacto la muestra con dos a diez anticuerpos diferentes, cada uno de los cuales se une específicamente a una proteína enriquecida con LCR diferente, preferiblemente en el que cada anticuerpo se emplea a un nivel por debajo del umbral, o (ii) el método comprende poner en contacto la muestra con cuatro a diez anticuerpos diferentes, cada uno de los cuales se une específicamente a una proteína enriquecida con

LCR diferente, y en el que una prueba positiva no requiere la unión a todos los anticuerpos.

16. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 15, en el que el compañero de unión es un anticuerpo que se une a una modificación postraduccional en la proteína enriquecida con LCR.

5

17. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 16, en el que se sospecha que la muestra contiene LCR.

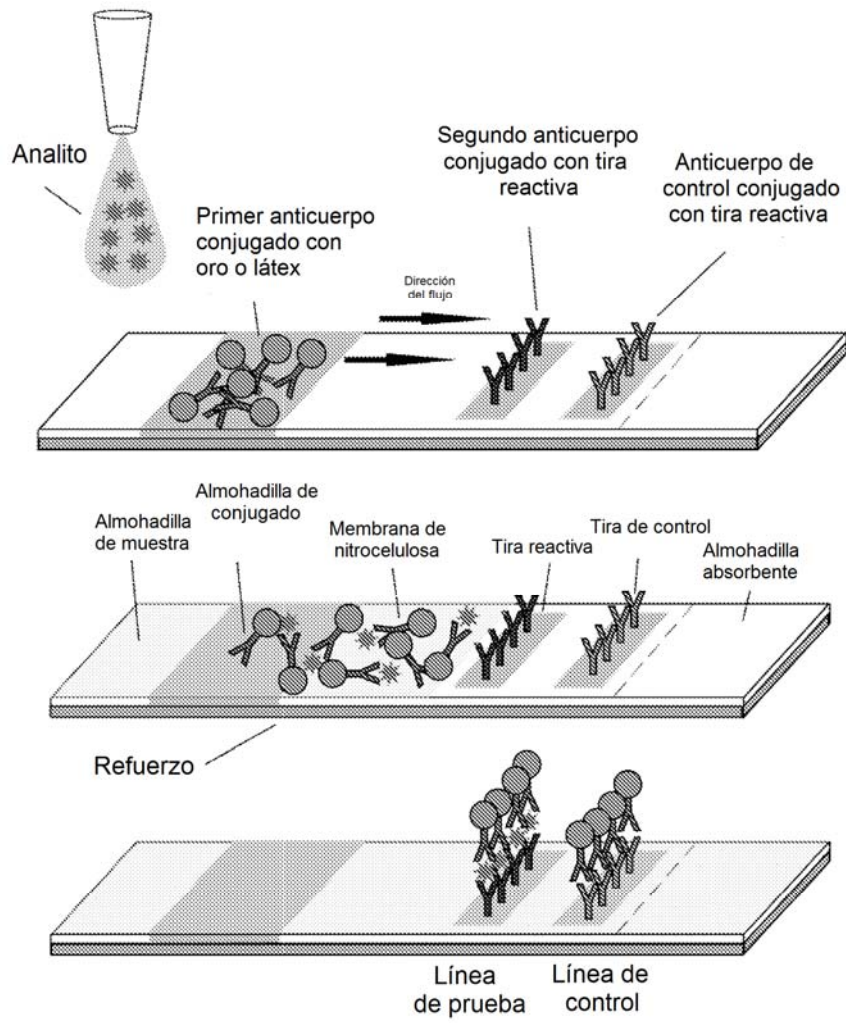


Figura 1

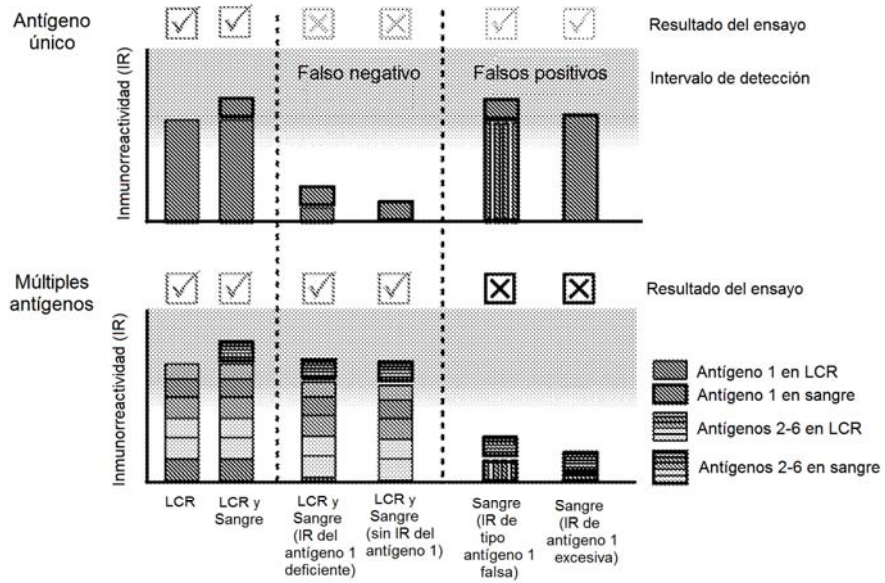


Figura 2

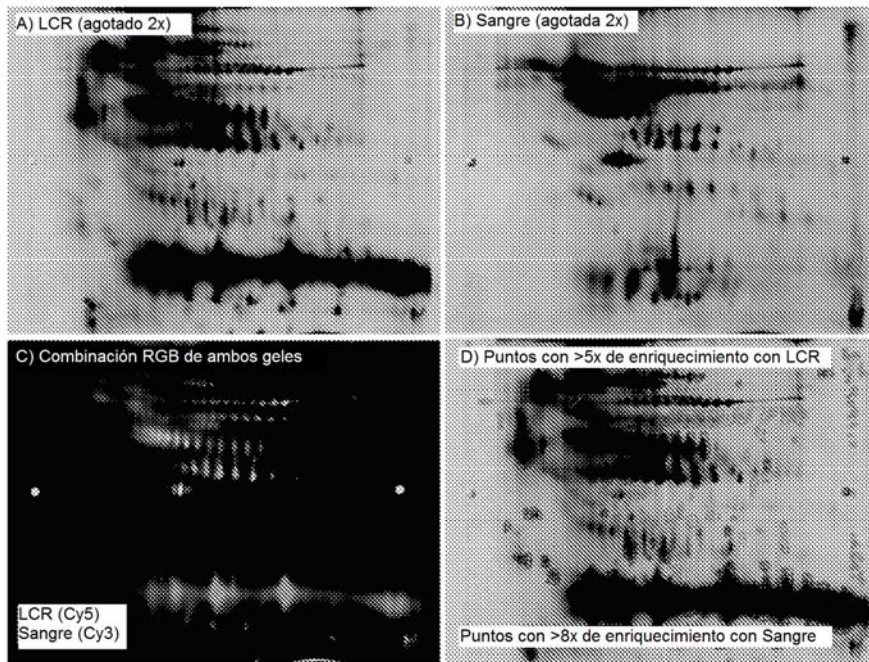


Figura 3

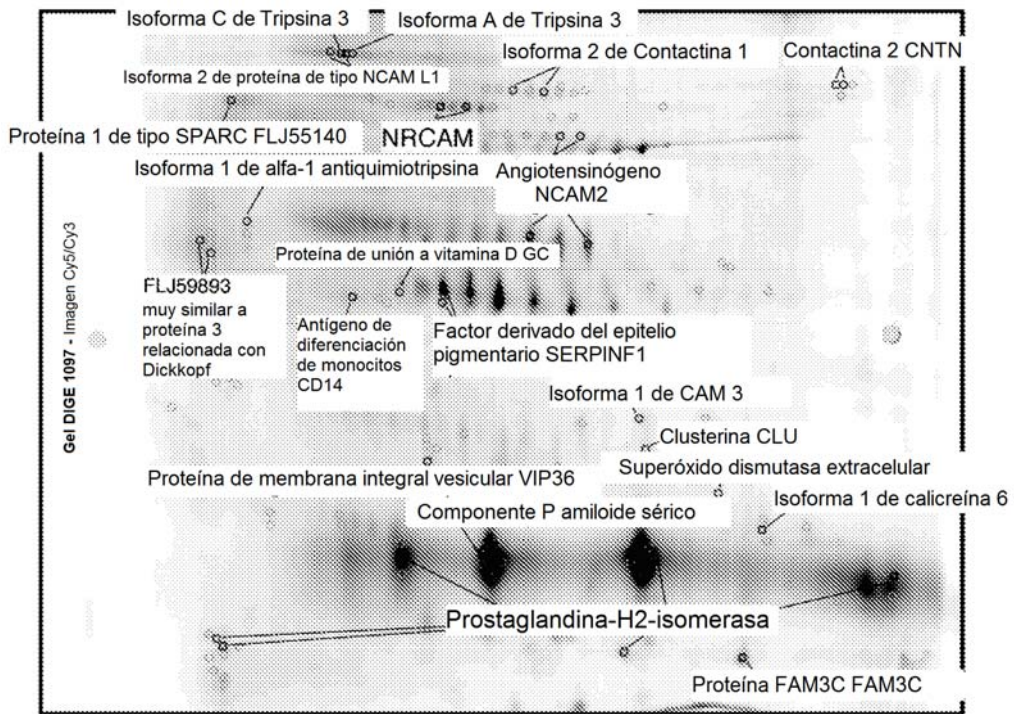


Figura 4

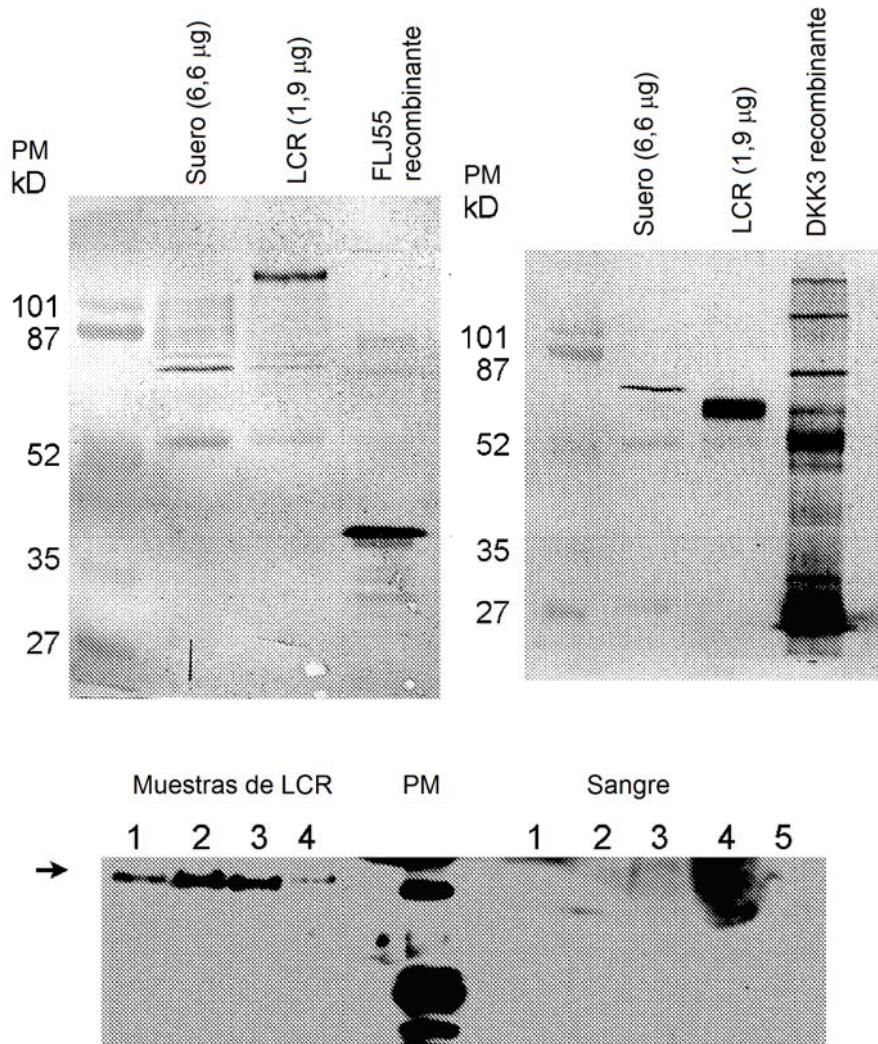


Figura 5

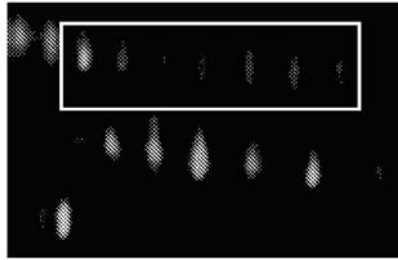


Figura 6



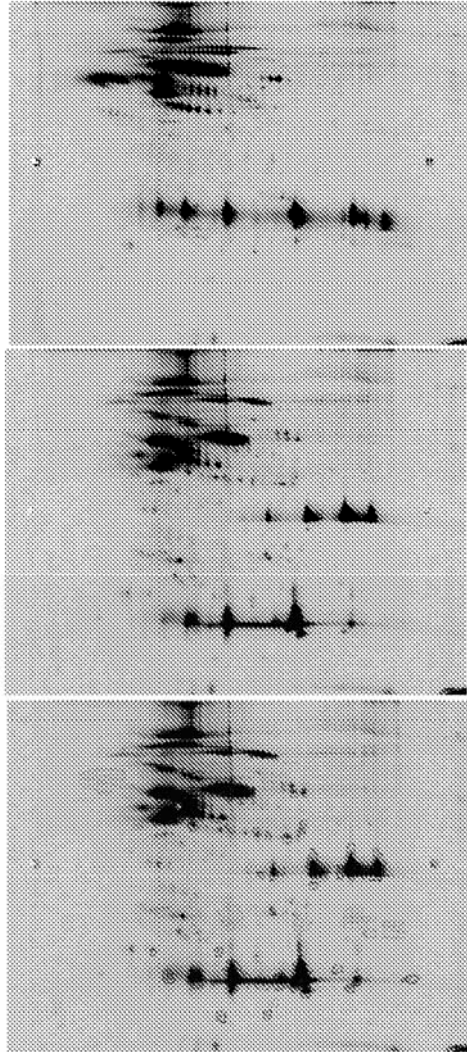


Figura 7

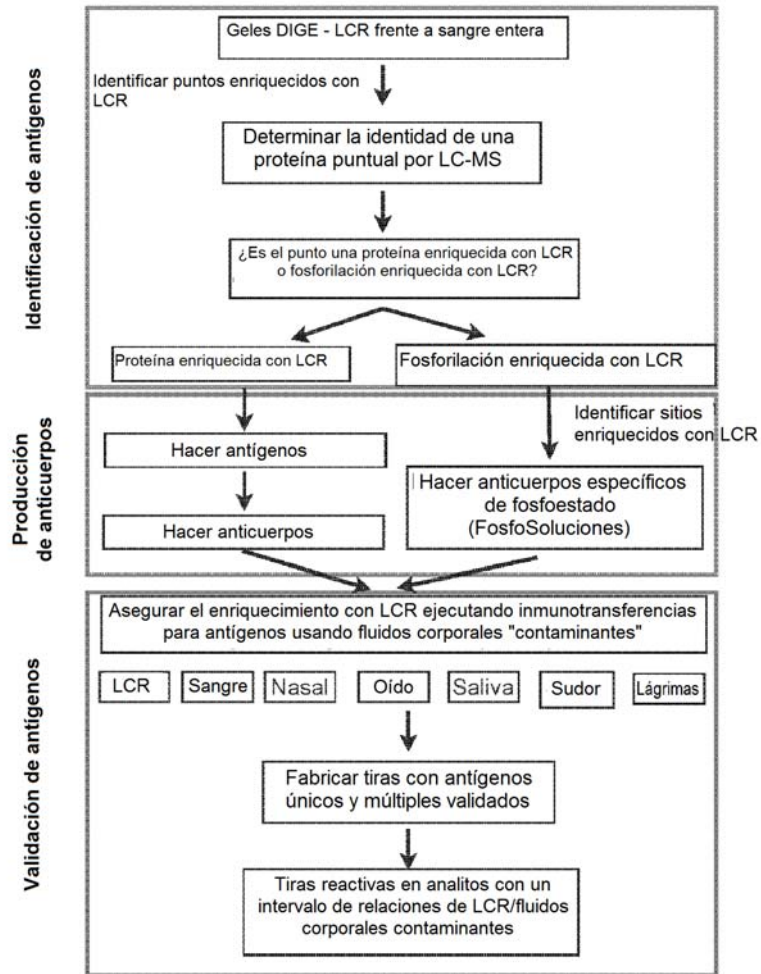


Figura 8

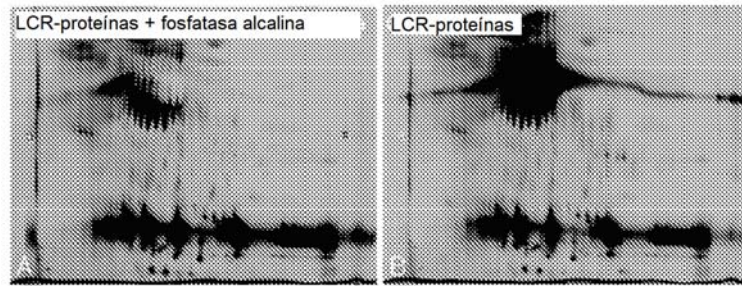


Figura 9