



①9



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

①1 Número de publicación: **2 331 891**

⑤1 Int. Cl.:
C07K 14/705 (2006.01)

①2

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑨6 Número de solicitud europea: **05756372 .8**

⑨6 Fecha de presentación : **09.02.2005**

⑨7 Número de publicación de la solicitud: **1716176**

⑨7 Fecha de publicación de la solicitud: **02.11.2006**

⑤4 Título: **Variantes de procesamiento de CD38 y usos de las mismas.**

③0 Prioridad: **13.02.2004 US 544369 P**

④5 Fecha de publicación de la mención BOPI:
19.01.2010

④5 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
19.01.2010

⑦3 Titular/es:
Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.
900 Ridgebury Road, P.O. Box 368
Ridgefield, Connecticut 06877, US

⑦2 Inventor/es: **Li, Jun;**
Li, Xiang;
Losacco, Baerbel y
Qi, Zhenhao

⑦4 Agente: **Isern Jara, Jorge**

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

Variantes de procesamiento de CD38 y usos de las mismas.

5 **Antecedentes de la invención****Campo de la invención**

La presente invención se refiere de manera general a los campos de la biología molecular y de la inflamación. Más específicamente, la presente invención se refiere a la identificación de nuevas variantes de CD38 y a usos de las mismas.

Antecedentes de la invención

Los linfocitos T que portan el receptor CD4 (CD4⁺), denominados células T CD4⁺, incrementan la respuesta inmunológica mediante la secreción de citoquinas que estimulan una respuesta de células T citotóxicas (células T ayudantes 1) o una respuesta de anticuerpos (células T ayudantes 2). Las células T CD4⁺ no expuestas pueden diferenciarse para formar células Th1 o Th2 tras la formación del complejo péptido TCR-MHC de clase II, dependiendo de las citoquinas existentes en el ambiente. De esta manera, las células T CD4⁺ desempeñan un papel crítico en las respuestas inmunológicas mediadas por las células T. Los nuevos genes que funcionan en la activación de las células T podrían proporcionar nuevas dianas farmacológicas para las enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias. Por consiguiente, se considera importante la identificación y caracterización de nuevos genes implicados en la activación de las células T CD4⁺.

CD38 es un antígeno de superficie celular multifuncional con actividad en la adhesión celular, la transducción de señales y la señalización del calcio. CD38 cataliza la producción de ADP ribosa cíclica (ADPRc) a partir de su sustrato, NAD⁺ (Takasawa, S. *et al.*, J. Biol. Chem. 268:26052-26054, 1993). La ADPRc actúa como segundo mensajero que regula la liberación del calcio intracelular. CD38 se expresa en células hematopoyéticas, incluyendo linfocitos T, linfocitos B y neutrófilos. Los ratones CD38 ^{-/-} muestran una pérdida completa de actividad de NAD⁺ glicohidrolasa asociada a tejidos y muestran deficiencias marcadas en las respuestas de anticuerpos frente a proteínas antígenos dependientes de células T (Cockayne *et al.*, Blood 92:1324-1333, 1998). CD38 controla la quimiotaxis de neutrófilos a quimioatrayentes bacterianos mediante la producción por parte de las mismas de ADP-ribosa cíclica, y actúa como un regulador crítico de la inflamación y de las respuestas inmunológicas innatas (Partida-Sánchez S. *et al.*, Nat. Med. 7:1209-16, 2002). El ADNc humano de CD38 se clonó por primera vez en 1990, y codifica 300 aminoácidos (Jackson, D.G., Bell, J.I., J. Immun. 144:2811-2815, 1990). Se ha informado de que el gen CD38 se encuentra presente en una única copia y que se extiende a lo largo de más de 62 kb. Consiste de 8 exones y 7 intrones, incluyendo un intrón largo que interrumpe la región codificante 5' (Ferrero, E.; Malavasi, F., J. Immun. 159:3858-3865, 1997). La estructura de la proteína CD38 no se conoce.

Es conocido que los antígenos de superficie celular, tales como CD38, presentan diferentes isoformas que son estructural y funcionalmente diferentes entre sí. Por ejemplo, CXCR-3 presenta dos isoformas, CXCR3A y CXCR3-B, que se ha encontrado que presentan diferentes actividades biológicas y que desencadenan diferentes rutas de transducción de señales. CXCR3-B muestra afinidad elevada únicamente para CXCL4, mientras que CXCR3-A, no (Lasagni, L. *et al.*, J. Exp. Med. 197:1537-49, 2003).

La patente US n° 6.607.879 B1 da a conocer un sistema basado en micromatrices que comprende una "pluralidad" de sondas de ADNc, sondas que se utilizan como elementos hibridables para la detección de alteraciones de la expresión de los genes en muestras biológicas. Se da a conocer que CD38 es un gen de entre 1.507 otros genes, el nivel de expresión de los cuales se cree que resulta afectado por determinadas enfermedades, incluyendo inmunopatologías, enfermedad de Crohn, asma, colitis ulcerosa, síndrome del intestino irritable y artritis reumatoide.

Una isoforma de procesamiento del ADNc de CD38 que únicamente codifica 122 residuos aminoácidos se ha aislado a partir de una biblioteca de testículo humano (Nata, K. *et al.*, Gene 186:285-292, 1997).

Lund *et al.*, Immun. Rev. 161:79-93, 1998, describen CD38 como una glucoproteína transmembranal de tipo II que se expresa extensivamente sobre células de linaje hematopoyético y no hematopoyético. También dan a conocer mutantes de CD38 para análisis funcionales de este receptor. Los autores sugieren que la señalización a través de CD38 representa un paradigma en la transducción de señales linfocitarias y se refiere a la comunicación extracelular y no intracelular.

Los anticuerpos, especialmente los anticuerpos monoclonales contra CD38 humanizados, se dan a conocer en el documento US n° 2002/0164788 A1. Dichos anticuerpos se comentan para el tratamiento del cáncer, por ejemplo del mieloma múltiple y del linfoma, y de enfermedades autoinmunitarias, por ejemplo la artritis reumatoide.

El documento WO n° 94117184 A1 da a conocer anticuerpos contra CD38 y propone que las respuestas fisiológicas de los linfocitos pueden estar moduladas por dichos anticuerpos que actúan contra CD38 y por un dominio extracelular soluble de CD38 con una longitud de 259 aminoácidos. También se comenta que podría utilizarse una fusión de un dominio extracelular soluble de CD38 con, por ejemplo, una proteína "señalizadora", para el cribado de moduladores

farmacológicos de la actividad de CD38. Sin embargo, este dominio extracelular de CD38 no es idéntico a la variante de procesamiento relevante para la invención que se comenta en la presente memoria.

El documento WO n° 00/14116 A1 da a conocer la idea de que una combinación de los denominados péptidos receptores de células T y los denominados péptidos marcadores de activación de las células T puede utilizarse para el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias mediadas por células T, por ejemplo la artritis reumatoide o la esclerosis múltiple. Dichos péptidos marcadores de activación de las células T, de longitud comprendida entre 15 y 30 aminoácidos, podrían derivarse a partir de dominios extracelulares de diferentes receptores, entre ellos CD38. Sin embargo, no existe ninguna divulgación específica de regiones determinadas de CD38 que puedan aplicarse eficazmente a dicho fin determinado.

El descubrimiento de una nueva isoforma de CD38 y de polinucleótidos codificantes de la misma satisface una necesidad de la técnica mediante la provisión de nuevas composiciones que pueden utilizarse en el tratamiento, prevención y diagnóstico de enfermedades autoinmunitarias e inmunitarias.

Breve resumen de la invención

La invención proporciona un polipéptido purificado denominado en la presente invención CD38JL que es una variante de procesamiento de CD38 que comprende el polipéptido de 81 aminoácidos de secuencia SEC ID n° 1. Los residuos aminoácidos 1 a 57 de la secuencia SEC ID n° 1 corresponden a residuos aminoácidos que se encuentran en la secuencia de CD38 y a los que se asocia la actividad de la ADP-ribosilciclase.

Asimismo, la invención proporciona un fragmento de polipéptido purificado de CD38JL que comprende los residuos 58 a 81 de la secuencia polipeptídica SEC ID n° 1.

Además, la invención proporciona un polinucleótido aislado y purificado codificante de la variante de procesamiento CD38 que comprende la secuencia de aminoácidos SEC ID n° 1 o un fragmento de la secuencia SEC ID n° 1 que comprende los residuos aminoácidos 58 a 81 de la secuencia SEC ID n° 1.

La invención también proporciona un vector de expresión que contiene por lo menos un polinucleótido codificante de la variante de procesamiento de CD38 que consiste de la secuencia de aminoácidos SEC ID n° 1 o de los residuos aminoácidos 58 a 81 de la secuencia SEC ID n° 1. En otra realización, el vector de expresión se encuentra contenido en una célula huésped.

Un objetivo de la invención es un método para tratar la IBD (enfermedad intestinal inflamatoria), que comprende la etapa de administrar en un paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de polipéptido inhibidor o de antagonista de la variante de procesamiento CD38JL.

Un objetivo adicional de la invención es un método para tratar la IBD (enfermedad intestinal inflamatoria) que comprende la etapa de administrar en un paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un agonista de la variante de procesamiento CD38JL.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende una variante de procesamiento purificada de CD38 de secuencia SEC ID n° 1 conjuntamente con un portador farmacéutico adecuado.

Un objetivo adicional de la invención es un método para tratar o prevenir la IBD, la soriasis, la artritis reumatoide o enfermedades autoinmunitarias, comprendiendo dicho método las etapas de administrar en un paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor y/o de un antagonista de CD38JL.

Otro objetivo de la invención se refiere a un método para tratar una enfermedad inflamatoria en un ser humano, que comprende la etapa de administrar en un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente aceptable de un inhibidor de CD38JL. Dicho tipo de método de tratamiento probablemente resulta útil en el tratamiento de la IBD, la soriasis, la artritis reumatoide y las enfermedades autoinmunitarias.

La invención también proporciona un método para detectar una secuencia polinucleótida codificante de la variante de procesamiento de CD38 definida por la secuencia SEC ID n° 1 en una muestra biológica que contiene ácidos nucleicos, comprendiendo dicho método las etapas siguientes:

(a) hibridar el complemento del polinucleótido codificante del polipéptido que comprende la secuencia SEC ID n° 1 o un fragmento de la secuencia SEC ID n° 1 con por lo menos uno de los ácidos nucleicos de la muestra biológica, formando de esta manera un complejo de hibridación, y

(b) detectar el complejo de hibridación, en donde la presencia del complejo de hibridación se correlaciona con la presencia de un polinucleótido codificante de CD38, en la muestra biológica.

Otros aspectos, características y ventajas de la presente invención resultarán evidentes a partir de la descripción siguiente de las realizaciones actualmente preferentes de la invención.

Breve descripción de las figuras

La fig. 1 muestra la secuencia del clon LJ-2 de ADNc codificante de CD38JL.

La fig. 2 muestra el mapeado cromosómico del clon LJ-2 de ADNc.

La fig. 3 muestra una alineación de la secuencia polipeptídica de CD38JL y CD38.

La fig. 4 muestra el perfil de expresión del ARNm de AI989354 en tejidos humanos normales.

La fig. 5 muestra la expresión del ARNm de AI989354 en diversos tejidos inflamados frente a la expresión en tejidos normales.

La fig. 6 muestra el perfil de expresión del ARNm de AI989354 en células T CD4⁺ estimuladas y no estimuladas según mediciones realizadas con matrices Affymatrix U95 GeneChip.

La fig. 7 muestra el marco de lectura abierto más largo predicho para el clon de ADNc LJ-2 (que se inicia en MET).

La fig. 8 muestra la alineación del marco de lectura abierto más largo de la variante de procesamiento LJ-2 de CD38.

Descripción detallada de la invención

Se entiende que la presente invención no se encuentra limitada a ningún protocolo, herramienta ni reactivo en particular, tal como se describe, y que estos pueden variar. También se entiende que la terminología utilizada en la presente invención presenta el fin de únicamente describir realizaciones particulares y que no pretende limitar el alcance de la presente invención.

A menos que se indique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente invención pretenden presentar los mismos significados entendidos comúnmente por un experto ordinario en la materia de la invención.

La utilización de las formas singulares de los términos, “un” o “una” y “el” o “la” incluyen las referencias plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

De acuerdo con la presente invención pueden utilizarse técnicas convencionales de biología molecular, microbiología y de ADN recombinante bien conocidas de la técnica, y que se describen en Sambrook, J., Fritsch, E.F. y Maniatis, T., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, segunda edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989 (en lo sucesivo, “Maniatis”), y por Silhavy, T.J., Bannan, M.L. y Enquist, L.W., *Experiments with Gene Fusions*, Cold Spring Harbor Laboratory Cold Press Spring Harbor, N.Y., 1984, y por Ausubel, F.M. *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, publicado por Greene Publishing Assoc. Y Wiley-Interscience, 1987. “Nucleic Acid Hybridization” [B.D. Hames & S.J. Higgins, editores, 1985], “Transcription and Translation” [B.D. Hames & S.J. Higgins, editores, 1984], “Animal Cell Culture” [R.I. Freshney, editor, 1986], “Immobilized Cells And Enzymes” [IRL Press, 1986], B. Perbal, “A Practical Guide To Molecular Cloning”, 1984. Por lo tanto, en el caso de que aparezcan en la presente memoria, los términos siguientes presentarán las definiciones proporcionadas posteriormente.

Las secuencias de nucleótidos se presentan en la presente memoria en forma de cadenas individuales, en la dirección 5' a 3', de izquierda a derecha, utilizando los símbolos de una letra de los nucleótidos que se utilizan comúnmente en la técnica y de acuerdo con las recomendaciones de la IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commission (Biochemistry 11:1726-1732, 1972).

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término “CD38JL” se refiere a las secuencias de aminoácidos de la variante CD38 sustancialmente purificada e identificada en la presente memoria, de cualquier especie y preferentemente de especies de mamífero, incluyendo el ser humano, de cualquier fuente y natural o sintética.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término “*polipéptido*” se utiliza intercambiabilmente con secuencias de residuos aminoácidos o proteínas y se refiere a polímeros de aminoácidos de cualquier longitud. Estos términos también incluyen proteínas que se modifican post-traduccionalmente mediante reacciones que incluyen, aunque sin limitarse a ellas, la glucosilación, la acetilación, la fosforilación o el procesamiento de las proteínas. Las modificaciones y cambios, por ejemplo las fusiones con otras proteínas, o las sustituciones, deleciones o inserciones de secuencias de aminoácidos, pueden realizarse en la estructura de un polipéptido manteniendo la molécula su actividad biológica funcional. Por ejemplo, pueden realizarse determinadas sustituciones en la secuencia de aminoácidos en un polipéptido o en la secuencia codificante de ácidos nucleicos subyacente y obtenerse una proteína que presente propiedades similares.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término “ADNc” en el contexto de la presente invención se refiere a ácidos desoxirribonucleicos producidos mediante transcripción inversa y típicamente mediante síntesis de la segunda

cadena de ARNm o de otro ARN producido por un gen. En el caso de que sea bicatenaria, la molécula de ADNc presenta tanto una cadena codificante o de sentido como una cadena no codificante o antisentido.

El término “*fragmento*” en la presente invención se refiere a moléculas de proteína o de ácido nucleico que pueden aislarse/purificarse, sintetizarse químicamente o producirse mediante tecnología de ADN recombinante. Todos estos métodos son bien conocidos de la técnica. Tal como se ejemplifica posteriormente en la presente memoria, las secuencias de nucleótidos y polipéptidos utilizados en la presente invención pueden modificarse, por ejemplo mediante mutagénesis *in vitro*.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término “*agonista*” se refiere a una molécula que, al encontrarse unida a CD38JL, incrementa o prolonga la duración del efecto de CD38JL. Un agonista puede incluir proteínas, ácidos nucleicos, carbohidratos y cualquier otra molécula que puede unirse y regular el efecto de CD38JL.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término “*antagonista*” se refiere a una molécula que, al encontrarse unida a CD38JL, reduce la cantidad o la duración del efecto de la actividad biológica o inmunológica de CD38JL. Entre los antagonistas pueden incluirse proteínas, ácidos nucleicos, carbohidratos, anticuerpos o cualquier otra molécula que reduzca el efecto de CD38JL.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término “*codificante*” se refiere a una propiedad inherente de secuencias específicas de nucleótidos en un ácido nucleico, de servir de molde para la síntesis de otras moléculas que presentan una secuencia definida de nucleótidos (es decir, ARNr, ARNt u otras moléculas de ARN) o de aminoácidos, y las propiedades biológicas resultantes de las mismas. De esta manera, un gen codifica una proteína en el caso de que la transcripción y la traducción del ARNm producido por dicho gen produzcan la proteína en una célula u otro sistema biológico. Puede hacerse referencia como codificante de proteína o de otro producto de dicho gen o ADNc, tanto a la cadena codificante, cuya secuencia de nucleótidos es idéntica a la secuencia del ARNm y que se proporciona habitualmente en listados de secuencias, como a la cadena no codificante, utilizada como molde para la transcripción de un gen o de un ADNc. Un ácido nucleico que codifica una proteína incluye cualquier ácido nucleico que presente diferentes secuencias de nucleótidos pero que codifique la misma secuencia de aminoácidos de la proteína, debido a la degeneración del código genético. Los ácidos nucleicos y las secuencias de nucleótidos que codifican proteínas pueden incluir intrones.

Los términos “*vectores*” o “*constructo de ADN*” son conocidos comúnmente de la técnica y se refieren a cualquier elemento genético, incluyendo, aunque sin limitarse a ellos, ADN de plásmido, ADN fágico, ADN vírico y similares, que pueden incorporar las secuencias oligonucleótidas o las secuencias de la presente invención, y que sirven de vehículo para el ADN en el que puede clonarse el ADN de la presente invención. Son numerosos los tipos de vectores que existen y que son bien conocidos de la técnica.

La expresión “*vector de expresión*” define un vector o vehículo tal como se ha descrito anteriormente pero que se ha diseñado para permitir la expresión de una secuencia insertada tras la transformación en un huésped. El gen (secuencia insertada) clonado habitualmente se sitúa bajo la operación de secuencias de elementos de control, tales como secuencias promotoras. Dichas secuencias de control de la expresión variarán dependiendo de si el vector ha sido diseñado para expresar el gen operablemente ligado en un huésped procariótico o eucariótico o ambos (vectores lanzadera) y adicionalmente puede contener elementos transcripcionales, tales como elementos intensificadores, secuencias de terminación, elementos de especificidad de tejido y/o sitios de inicio y terminación de la traducción.

El término “*oligonucleótido*” tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a dos o más moléculas de desoxinucleótido adenina (A), guanina (G), timina (T) y/o citosina (C). El término “oligonucleótido” puede encontrarse en moléculas de ADN lineal o en fragmentos, virus, plásmidos, vectores, cromosomas o ADN derivado sintéticamente. Tal como se utiliza en la presente memoria, las secuencias de ADN se describen según la convención normal, proporcionando únicamente la secuencia en la dirección 5' a 3'.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término “*polinucleótido*” de la presente invención también incluye aquellos polinucleótidos capaces de hibridarse, bajo condiciones de hibridación restrictivas, a secuencias contenidas en la secuencia SEC ID n° 2 o en el complemento de la misma. La expresión “condiciones de hibridación restrictivas” se utiliza tal como se entiende generalmente en la técnica. Por ejemplo, el término puede significar una incubación durante la noche a 42°C en una solución que comprende formamida al 50%, 5X SSC (NaCl 750 mM, citrato trisódico 75 mM), fosfato sódico 50 mM (pH 7,6), solución de Denhardt 5X, dextrán sulfato al 10% y 20 mg/ml de ADN de esperma de salmón fragmentado y desnaturalizado, seguido del lavado de los filtros en 0,1x SSC a aproximadamente 60°C. Las condiciones exactas necesarias para la “elevada astringencia” pueden variar dependiendo de la naturaleza de las muestras de ácidos nucleicos (es decir, ADN:ADN o ADN:ARN).

También se encuentran contempladas las moléculas de ácidos nucleicos que se hibridan con los polinucleótidos de la presente invención bajo condiciones de hibridación de astringencia más baja. Los cambios de la astringencia de hibridación y la detección de señales se llevan a cabo principalmente mediante la manipulación de la concentración de formamida (los porcentajes más bajos de formamida resultan en una astringencia más baja), las condiciones salinas o la temperatura. Por ejemplo, entre las condiciones de astringencia más baja se incluyen una incubación durante la noche a 37°C en una solución que comprende 6X SSPE (20X SSPE=NaCl 3 M, NaH₂PO₄ 0,2 M, EDTA 0,02 M, pH 7,4), SDS al 0,5%, formamida al 30%, 100 mg/ml de ADN de bloqueo de esperma de salmón, seguido de lavados a

50°C con 1XSSPE, SDS al 0,1%. Además, para conseguir una astringencia todavía más baja, los lavados realizados tras la hibridación pueden llevarse a cabo a concentraciones salinas más altas (por ejemplo 5XSSC).

Pueden modificarse las condiciones mediante la adición o la eliminación de diversos reactivos de bloqueo. Entre los reactivos de bloqueo pueden incluirse el reactivo de Denhardt, heparina, BLOTTO, ADN desnaturalizado de esperma de salmón y producto disponible comercialmente. La inclusión de reactivos de bloqueo específicos puede requerir la modificación de las condiciones de hibridación indicadas anteriormente, debido a problemas con la compatibilidad.

El polinucleótido de la presente invención puede estar compuesto de cualquier poliribonucleótido o polidesoxiribonucleótido, que puede ser ARN o ADN no modificado, o ARN o ADN modificado. Un polinucleótido también puede contener una o más bases modificadas o esqueletos de ADN o ARN modificados para la estabilidad o por otros motivos. Entre las bases “modificadas” se incluyen, por ejemplo, bases tritiladas y bases poco habituales, tales como inosina. Puede llevarse a cabo una diversidad de modificaciones en el ADN y ARN; de esta manera, el término “polinucleótido” comprende formas química, enzimática o metabólicamente modificadas.

Dos secuencias de ADN son “*sustancialmente complementarias*” en el caso de que por lo menos aproximadamente 75% (preferentemente por lo menos aproximadamente 80%, y más preferentemente por lo menos aproximadamente 90% o 95%) de los nucleótidos sean correspondientes a lo largo de la longitud definida de las secuencias de ADN. Las secuencias que son sustancialmente homólogas pueden identificarse comparando las secuencias utilizando software estándar disponible en bancos de datos de secuencias o en un experimento de hibridación southern bajo, por ejemplo, condiciones restrictivas, según se define para el sistema particular. La definición de las condiciones de hibridación apropiadas se encuentra comprendida dentro de los conocimientos del experto en la materia. Ver, por ejemplo, Maniatis *et al.*, *supra*; DNA Cloning, vols. I y II, *supra*; Nucleic Acid Hybridization, *supra*.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término “*huésped*” pretende incluir no sólo procariotas, sino también eucariotas, tales como células de levadura, vegetales y animales. Una molécula o gen de ADN recombinante que codifica una proteína de la presente invención puede utilizarse para transformar un huésped utilizando cualquiera de las técnicas comúnmente conocidas por el experto ordinario en la materia. Entre los huéspedes procarióticos pueden incluirse *E. coli*, *S. typhimurium*, *Serratia marcescens* y *Bacillus subtilis*. Entre los huéspedes eucarióticos se incluyen levaduras, tales como *Pichia pastoris*, células de mamífero y células de insecto.

Las expresiones “*aminoácido*” o “*secuencia de aminoácidos*” tal como se utilizan en la presente memoria se refieren a un oligopéptido, péptido, polipéptido o secuencia proteica, o un fragmento de cualquiera de los mismos, y a moléculas naturales o sintéticas. En este contexto, las expresiones “*fragmentos*”, “*fragmentos inmunogénicos*” o “*fragmentos antigénicos*” se refieren a secuencias de variante de procesamiento de CD38JL que preferentemente presentan una longitud de entre aproximadamente 5 y aproximadamente 15 aminoácidos. En los casos en los que la expresión “*secuencia de aminoácidos*” se utiliza en la presente memoria para referirse a una secuencia de aminoácidos de una molécula de proteína natural, la expresión “*secuencia de aminoácidos*” y términos similares no pretenden limitar la secuencia de aminoácidos a la secuencia de aminoácidos nativa completa asociada a la molécula de proteína mencionada.

La expresión “*determinante antigénico*” tal como se utiliza en la presente memoria se refiere al fragmento de una molécula (es decir, un epítipo) que entra en contacto con un anticuerpo particular. En el caso de que se utilice una proteína o un fragmento de una proteína para inmunizar un animal huésped, numerosas regiones de la proteína podrían inducir la producción de anticuerpos que se unen específicamente a determinantes antigénicos (regiones o estructuras tridimensionales dadas en la proteína). Un determinante antigénico puede competir con el antígeno intacto (es decir, el inmunógeno utilizado para inducir la respuesta inmunológica) para la unión con un anticuerpo.

Los términos “*complementario*” o “*complementariedad*”, tal como se utilizan en la presente memoria, se refieren a la unión natural de polinucleótidos mediante apareamiento de bases bajo condiciones permisivas de concentración salina y temperatura.

El término “*homología o identidad*”, tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grado de complementariedad. Pueden existir homología parcial u homología completa. Se hace referencia a una secuencia parcialmente complementaria que inhibe la hibridación por lo menos parcialmente de una secuencia idéntica con un ácido nucleico diana como “*sustancialmente homóloga*”. La inhibición de la hibridación de la secuencia completamente complementaria con la secuencia diana puede examinarse utilizando un ensayo de hibridación bajo condiciones de astringencia reducida.

Las expresiones “*porcentaje de identidad*” o “*% de identidad*” se refieren al porcentaje de similitud de secuencia observado en la comparación entre dos o más secuencias de aminoácidos o de ácidos nucleicos. El porcentaje de identidad puede determinarse electrónicamente, por ejemplo mediante la utilización del programa MEGALIGN (paquete de software Lasergene, DNASTAR Inc., Madison, Wis.). El programa MEGALIGN puede crear alineaciones entre dos o más secuencias de acuerdo con diferentes métodos, por ejemplo el método Clustal (Higgins, D.G. y P.M. Sharp, Gene 73:237-244, 1988). El porcentaje de identidad entre secuencias de ácidos nucleicos también puede calcularse mediante el método Clustal, o mediante otros métodos conocidos de la técnica, tales como el método Jotun Hein (ver, por ejemplo, Hein, J., Methods in Enzymology 183:626-645, 1990). La identidad entre secuencias también puede determinarse mediante otros métodos conocidos de la técnica, por ejemplo modificando las condiciones de hibridación.

El término “*hibridación*” tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a cualquier procedimiento por el que se une una cadena de ácidos nucleicos a una cadena complementaria mediante apareamiento de bases.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión “*complejo de hibridación*” se refiere a un complejo formado entre dos secuencias de ácidos nucleicos en virtud de la formación de enlaces de hidrógeno entre bases complementarias. Puede formarse un complejo de hibridación en solución (por ejemplo análisis C_0 t o R_0 t) o formarse entre una secuencia de ácidos nucleicos presente en solución y otra secuencia de ácidos nucleicos inmovilizada sobre un soporte sólido (por ejemplo papel, membranas, filtros, chips, clavos o portaobjetos de vidrio, o cualquier otro sustrato apropiado al que se han fijado células o ácidos nucleicos de las mismas).

El término “*micromatriz*”, tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a una matriz de polinucleótidos u oligonucleótidos diferentes distribuidos en un sustrato, tal como papel, nilón o cualquier otro tipo de membrana, filtro, chip, portaobjetos de vidrio o cualquier otro soporte sólido adecuado.

La expresión “*sustancialmente purificado*” tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a secuencias de ácidos nucleicos o de aminoácidos que se extraen de su ambiente natural y se aíslan o se separan, y que se encuentran libres, como mínimo, aproximadamente al 60%, preferentemente, como mínimo, aproximadamente al 75%, y más preferentemente, al 90% aproximadamente, separados de otros componentes celulares o víricos. De esta manera, por ejemplo, una “proteína purificada” ha sido purificada a un nivel no observado en la naturaleza.

Una “*variante*” de CD38JL, tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a una secuencia de aminoácidos que se encuentra alterada en uno o más aminoácidos. La variante puede presentar cambios “conservativos”, en los que un aminoácido sustituido presenta propiedades estructurales o químicas similares (por ejemplo sustitución de leucina por isoleucina). Más raramente, una variante puede presentar cambios “no conservativos” (por ejemplo la sustitución de glicina por triptófano). Entre las variaciones menores análogas también pueden incluirse deleciones o inserciones de aminoácidos, o ambas. Pueden encontrarse recomendaciones para determinar qué residuos aminoácidos pueden sustituirse, insertarse o deleccionarse sin eliminar actividad biológica o inmunológica utilizando programas informáticos bien conocidos de la técnica, por ejemplo software DNASTAR.

La invención

Utilizando técnicas, incluyendo el análisis del perfil de expresión, una EST AI989354 que resulta altamente inducido por las células T CD4⁺ activadas. Esta secuencia EST se encuentra situada entre los exones conocidos III y IV del gen CD38 humano. Utilizando EST AI989354 como cebo, se aisló un clon de ADNc de 1,9 kb (LJ-2) de una biblioteca de ADNc de linfocitos periféricos humanos. La secuencia polinucleótido para el clon LJ-2 se muestra en la fig. 1 y en la SEC ID n° 2. La secuencia de ADNc para LJ-1 se situó en el mapa en el locus del gen CD38 en el cromosoma 4 humano y se encontró que compartía los exones I y II con CD38 (tal como se muestra en la fig. 2) y de esta manera codifica una nueva variante de procesamiento de CD38. La fig. 3 muestra la alineación de los polipéptidos CD38 y la variante de procesamiento CD38JL. Los primeros 57 aminoácidos de CD38JL corresponden a los de una parte de la secuencia de CD38, ya que los residuos aminoácidos restantes (58 a 81) de CD38JL no se corresponden directamente a los de la secuencia de CD38.

La fig. 4 muestra la distribución de la expresión de AI989354 en tejidos normales. Los datos se obtuvieron de experimentos con Affymetrix U95 GeneChip siguiendo el método descrito en el manual técnico de análisis de expresión del Affymetrix Gene Chip®. Se observó expresión incrementada de AI989354 en diversos tejidos, incluyendo el timo.

La fig. 5 muestra la distribución de la expresión de AI989354 en diversos tejidos inflamados frente a tejidos normales, también obtenidos mediante análisis Affymatrix. También resultó inducida CD38JL en tejidos derivados de pacientes con IBD y tanto colitis ulcerosa como enfermedad de Crohn D. La expresión incrementada en tejidos de este origen sugiere que la variante de procesamiento podría desempeñar un papel en la activación de las células T y, por lo tanto, podría proporcionar una nueva diana farmacológica para la enfermedad autoinmune e inflamatoria. La fig. 6 muestra la expresión de AI989354 en las células T CD4 según mediciones con matrices Affymatrix U95 GeneChip.

La fig. 7 y la SEC ID n° 1 muestran la traducción predicha del polipéptido de 81 aminoácidos a partir del ADNc de CD38 JL-2. La fig. 8 muestra las secuencias de la traducción de CD38 partiendo de la primera MET a lo largo de la secuencia del ADNc de CD38JL. Las posiciones de los exones, incluyendo el límite, se encuentran marcadas; las secuencias diferentes de CD38 se encuentran subrayadas.

Una realización de la invención comprende un polipéptido aislado con la secuencia de aminoácidos SEC ID n° 1. La longitud de CD38JL es de 81 aminoácidos. Tal como se muestra en las figs. 7 y 8, CD38JL presenta homología respecto a CD38 y, de esta manera, se denomina “variante de procesamiento de CD38” y presenta un dominio potencial ADP-ribosilclasa. Otro objetivo de la invención son los derivados de la variante de procesamiento CD38JL. Dichos derivados presentan una identidad polinucleótida de por lo menos 90% respecto al polinucleótido codificante del polipéptido que consiste de la secuencia de aminoácidos SEC ID n° 1. Cualquiera de las variantes polinucleótidas indicadas anteriormente puede codificar una secuencia de aminoácidos que contiene por lo menos una característica funcional o estructural de CD38JL.

El experto en la materia apreciará que puede producirse una multitud de secuencias polinucleótidas codificantes de CD38JL, algunas con homología mínima respecto a las secuencias polinucleótidas de cualquier gen conocido natural, debido a la degeneración del código genético. De esta manera, la presente invención también contempla variaciones de la secuencia polinucleótida que podrían introducirse mediante la selección de combinaciones basadas en elecciones alternativas de codones. Estas combinaciones se realizan de acuerdo con el código genético de tripletes estándar aplicado a la secuencia polinucleótida de CD38JL natural.

Aunque las secuencias de nucleótidos codificantes de CD38JL y las variantes de la misma preferentemente son capaces de hibridarse con la secuencia de nucleótidos de CD38 natural bajo condiciones de astringencia apropiadamente seleccionadas, puede resultar ventajoso producir secuencias de nucleótidos codificantes de CD38JL o de derivados de la misma que presenten un uso de los codones sustancialmente diferente. Los codones pueden seleccionarse para incrementar la tasa a la que se produce la expresión del péptido en un huésped procariótico o eucariótico particular de acuerdo con la frecuencia con la que son utilizados por el huésped los codones particulares. Entre otros motivos para alterar sustancialmente la secuencia de nucleótidos codificante de CD38TL sin alterar las secuencias de aminoácidos codificantes se incluyen la producción de transcritos de ARN que presenten propiedades más deseables, tales como una vida media mayor, que los transcritos producidos a partir de la secuencia natural.

La invención también permite la producción de secuencias de ADN que codifican CD38JL y derivados de CD38JL, o fragmentos de los mismos, enteramente por químicos expertos en síntesis química. Las secuencias sintéticas pueden insertarse en vectores de expresión y sistemas de células huésped utilizando reactivos que son bien conocidos de la técnica. Además, puede utilizarse química sintética para introducir mutaciones en una secuencia codificante de CD38JL o cualquier fragmento de la misma.

La invención también permite producir secuencias polinucleótidas que son capaces de hibridarse con las secuencias polinucleótidas reivindicadas y, en particular, a aquéllas mostradas en SEC ID n° 2, o un fragmento de SEC ID n° 2, bajo diversas condiciones de astringencia (ver, por ejemplo, Wahl, G.M. y S.L. Berger, *Methods Enzymol.* 152:399-407, 1987, y Kimmel, A.R., *Methods Enzymol.* 152:507-511, 1987).

Pueden utilizarse secuencias de nucleótidos codificantes de CD38JL que presenten codones naturales. Por ejemplo, pueden utilizarse codones preferidos por un huésped procariótico para incrementar la expresión de proteínas o para producir un transcrito de ARN que presente propiedades deseables, tales como una vida media que sea más larga que la de un transcrito generado a partir de la secuencia natural.

Las secuencias de nucleótidos de la presente invención pueden alterarse utilizando métodos generalmente conocidos de la técnica para alterar las secuencias codificantes de CD38JL, tales como la clonación, el procesamiento y/o la expresión del producto génico. Pueden utilizarse técnicas de ADN recombinante y oligonucleótidos sintéticos para alterar las secuencias de nucleótidos.

Los polinucleótidos codificantes de CD38JL, o derivados de los mismos, pueden utilizarse con fines terapéuticos. En un aspecto, el complemento del polinucleótido codificante de CD38JL puede utilizarse en situaciones en las que resultaría deseable bloquear la transcripción del ARNm. En particular, pueden transformarse células con secuencias complementarias a los polinucleótidos codificantes de CD38JL. De esta manera, pueden utilizarse moléculas o fragmentos complementarios para modular la actividad de CD38JL. Este tipo de tecnología ahora es bien conocido de la técnica, y pueden diseñarse oligonucleótidos de sentido o antisentido, o ARNsi, oligonucleótidos o fragmentos más grandes interfirientes del ARN a partir de diversas localizaciones a lo largo de las regiones codificantes o de control de las secuencias codificantes de CD38L. Los oligos interfirientes del ARN y los oligos antisentido podrían diseñarse utilizando la secuencia de la variante de procesamiento de CD38 para inhibir específicamente la función de la isoforma de CD38. La interferencia del ARN es un procedimiento que utiliza el silenciamiento génico post-transcripcional específico de secuencia o la anulación génica, proporcionando un ARN bicatenario (ARNds) que presenta una secuencia homóloga al gen diana. Pueden sintetizarse ARNs interfirientes pequeños (ARNsi) *in vitro* o generarse mediante corte con ribonucleasa III a partir de ARNds más largos y son mediadores en la degradación de ARNm específico de secuencia. Pueden diseñarse ARNsi según las técnicas descritas por Tuschl, tal como se describe a continuación (Elbashir, S.M. *et al.*, *Nature* 411:494-498, 2001). El ARNsi adecuado puede ser ácido ribonucleótido de doble cadena que comprende una primera cadena de nucleótidos que es sustancialmente idéntica a entre 19 y 25 nucleótidos consecutivos de la SEC ID n° 2, y una segunda cadena que es sustancialmente complementaria a la primera.

La proteína codificada por esta nueva variante de CD38 podría seleccionarse para la utilización en terapéutica con proteínas. Por ejemplo, pueden producirse anticuerpos monoclonales contra polipéptidos variantes de procesamiento de CD38. Los métodos para producir anticuerpos monoclonales contra proteínas aisladas y su administración en células son conocidos de la técnica (Am. J. Gastroenterol. 97:2962-72, 2002). Los anticuerpos monoclonales dirigidos contra los polipéptidos variantes de procesamiento de CD38 de la invención pueden administrarse en células para inhibir la función de la proteína y, por lo tanto, para tratar enfermedades autoinmunes o inflamatorias.

También se encuentra contemplado que pueda utilizarse la variante de procesamiento de CD38 de la presente invención en ensayos de cribado y en ensayos de rendimiento ultraelevado para identificar inhibidores de molécula pequeña de los polipéptidos variantes de procesamiento de CD38. Un inhibidor de molécula pequeña podría bloquear la unión de dicha variante de CD38 a su receptor de superficie celular. Es conocido que CD38 se encuentra implicado en la adhesión y rodamiento linfocitario sobre células endoteliales a través de la interacción con CD31 [Dianzani, U.,

Stockinger, H. Y Malavasi, F., J. Immunol. 160:395-402, 1998]. Por lo tanto, el bloqueo con inhibidores pequeños *in vivo* podría afectar a la adhesión linfocitaria.

Pueden ligarse secuencias naturales, modificadas o recombinantes de ácidos nucleicos codificantes de CD38JL a una secuencia heteróloga para codificar una proteína de fusión. Por ejemplo, pueden cribarse bibliotecas de péptidos para identificar inhibidores de la actividad de CD38JL. También puede resultar útil codificar una proteína CD38JL quimérica que puedan reconocer los anticuerpos disponibles comercialmente. También pueden prepararse proteínas de fusión para que contengan sitios de corte entre la secuencia codificante de CD38JL y otra secuencia de proteína heteróloga, de manera que pueda cortarse CD38JL y purificarse separadamente del grupo heterólogo.

Polipéptidos

Pueden sintetizarse secuencias polipeptídicas codificantes de CD38JL o de un fragmento de la misma, mediante la utilización de métodos químicos bien conocidos de la técnica (ver, por ejemplo, Caruthers, M.H. *et al.*, Nucl. Acids. Res. Symp. Ser. 215-223, 1980, y Horn, T. *et al.*, Nucl. Acids Res. Symp. Ser. 225-232, 1980). El péptido sintetizado puede purificarse sustancialmente mediante cromatografía líquida de alto rendimiento preparativa (ver, por ejemplo, Chiez, R.M. y F.Z. Regnier, Methods Enzymol. 182:392-421, 1990). La composición de los péptidos formados sintéticos puede confirmarse mediante análisis de aminoácidos o mediante secuenciación (ver, por ejemplo, Creighton, T., Proteins, Structures and Molecular Properties, W.H. Freeman and Co., New York, N.Y., 1983).

Además, la secuencia de aminoácidos de CD38JL, o cualquier parte de la misma, puede alterarse durante la síntesis directa y/o combinarse con secuencias de otras proteínas, o cualquier parte de las mismas, produciendo un polipéptido variante. También se encuentra contemplado que pueda producirse CD38JL no sólo mediante síntesis directa de péptidos utilizando técnicas de fase sólida (ver, por ejemplo, Creighton, T.E., Protein: Structures and Molecular Properties, páginas 55 a 60, W.H. Freeman and Co., New York, N.Y., 1984). La síntesis de proteínas puede llevarse a cabo mediante técnicas manuales o mediante automatización. La síntesis automatizada puede llevarse a cabo, por ejemplo, utilizando el sintetizador de péptidos 431A de Applied Biosystems (Perkin Elmer). Pueden sintetizarse fragmentos de CD38JL separadamente y después combinarse para producir la molécula de longitud completa.

Puede prepararse CD38JL o sus derivados mediante la inserción de secuencias de ADNc codificantes en un vector de expresión con elementos reguladores apropiados necesarios para la transcripción y la traducción de la secuencia codificante insertada según métodos conocidos de la técnica. Entre estos métodos se incluyen las técnicas de ADN recombinante *in vitro*, técnicas sintéticas y la recombinación genética *in vivo* (ver, por ejemplo, Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Plainview, N.Y., capítulos 4, 8 y 16-17, 1989; y Ausubel, F.M. *et al.*, 1995, y suplementos periódicos, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, N.Y., capítulos 9, 13 y 16).

Pueden producirse fragmentos de CD38JL mediante producción recombinante utilizando métodos bien conocidos de la técnica. Se cultivan células huésped transformadas con secuencias de nucleótidos codificantes de CD38JL bajo condiciones adecuadas para la expresión y aislamiento de proteína CD38JL a partir del cultivo celular. También se entiende que los vectores de expresión que contienen secuencias de ácidos nucleicos codificantes de CD38JL pueden diseñarse para que contengan secuencias de señal que dirijan la secreción de CD38JL a través de la membrana celular, o que de otra manera faciliten la purificación de la proteína. Entre dichos dominios de purificación se incluyen péptidos quelantes metálicos que permiten la purificación sobre metal inmovilizado y dominios de proteína A que permiten la purificación sobre inmunoglobulina inmovilizada.

Se encuentra contemplado que puedan resultar útiles sondas polinucleótidas derivadas de secuencias polinucleótidas de CD38JL como sondas o herramientas diagnósticas para condiciones autoinmunitarias e inflamatorias. Por consiguiente, la invención proporciona polinucleótidos aislados o purificados tal como se ha definido anteriormente.

Las secuencias polinucleótidas codificantes de CD38JL pueden utilizarse para el diagnóstico de un trastorno asociado a la expresión de una variante de procesamiento de CD38JL. Entre los ejemplos de dichas enfermedades se incluyen IBD, y otras enfermedades inflamatorias, tales como IBD, soriasis, artritis reumatoide y enfermedades autoinmunitarias.

En otra realización de la invención, puede administrarse un vector capaz de expresar CD38JL o un derivado de la misma según la invención, en un sujeto para tratar o prevenir una enfermedad inmunológica.

Puede administrarse un agonista que module la actividad de CD38JL en un sujeto para tratar o prevenir una enfermedad inmunológica.

Puede administrarse un antagonista que module la actividad de CD38JL en un sujeto para tratar o prevenir una enfermedad autoinmunitaria. Pueden producirse antagonistas de CD38JL utilizando métodos conocidos de la técnica. Se cree que un antagonista resulta más eficaz para la modulación ventajosa de la función enzimática asociada a CD38JL. Podría funcionar el agonista o el antagonista basándose en su función.

Puede utilizarse CD38JL purificado para producir anticuerpos o para cribar bibliotecas de agentes farmacéuticos para identificar aquellos que se unen específicamente a las posiciones 58 a 81 de una variante de procesamiento de

CD38 en la SEC ID nº 1. Dichos anticuerpos también pueden generarse utilizando métodos conocidos de la técnica. Entre dichos anticuerpos pueden incluirse, aunque sin limitarse a ellos, anticuerpos policlonales, monoclonales, quiméricos y de cadena única, fragmentos Fab y fragmentos producidos con una biblioteca de expresión de Fab. Los anticuerpos neutralizadores (es decir, aquellos que inhiben la formación de dímeros) resultan especialmente preferentes para la utilización terapéutica.

Pueden inmunizarse diversos huéspedes, incluyendo cabras, conejos, ratas, ratones, seres humanos y otros, mediante inyección con CD38JL o con cualquier fragmento u oligopéptido de la misma que presenta propiedades inmunogénicas y/o determinantes antigénicos. Dependiendo de la especie huésped, pueden utilizarse diversos adyuvantes para incrementar la respuesta inmunológica. Entre dichos adyuvantes se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, solución de Freund, geles minerales tales como hidróxido de aluminio, y sustancias activas en superficie, tales como lisolecitina, polioles plurónicos, polianiones, péptidos, emulsiones aceitosas, KLH y dinitrofenol.

Preferentemente los oligopéptidos, péptidos o fragmentos utilizados para inducir anticuerpos contra CD38JL deberían presentar una secuencia de aminoácidos consistente de por lo menos aproximadamente 5 aminoácidos y, más preferentemente, de por lo menos aproximadamente 10 aminoácidos. También resulta preferente que dichos oligopéptidos, péptidos o fragmentos resulten idénticos a una parte de la secuencia de aminoácidos de la proteína natural y que contenga la secuencia de aminoácidos entera de una molécula pequeña natural. Las moléculas quiméricas que comprenden tramos cortos de CD38JL y otras proteínas también se encuentran contempladas.

Pueden prepararse anticuerpos monoclonales contra CD38JL utilizando métodos conocidos para la producción de moléculas de anticuerpo mediante líneas celulares continuas en cultivo. Entre éstas se incluyen, aunque sin limitarse a ellas, técnicas de hibridoma, las técnicas del hibridoma de células B humanas y las técnicas de EBV-hibridoma (ver, por ejemplo, Kohler, G. *et al.*, Nature 256:495-497, 1975; Kozbor, D. *et al.*, J. Immunol. Methods 81:31-42, 1985; Cote, R.J. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. 80:2026-2030, 1983; y Cole, S.P. *et al.*, Mol. Cell Biol. 62:109-120, 1984).

También pueden producirse anticuerpos contra CD38JL mediante la inducción de la producción *in vivo* en las células linfocitarias o mediante cribado de bibliotecas de inmunoglobulinas o de reactivos de unión altamente específicos, tal como se da a conocer en la literatura (ver, por ejemplo, Orlandi, R. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. 86:3833-3837, 1989; y Winter, G. *et al.*, Nature 349:293-299, 1991). Pueden identificarse anticuerpos específicos de CD38JL utilizando diversos inmunoensayos conocidos de la técnica. Dichos inmunoensayos típicamente incluyen la medición de la formación de complejo de antígeno-anticuerpo. Resulta preferente un inmunoensayo de dos sitios basado en anticuerpos monoclonales reactivos para dos epítomos de CD38JL no interfirientes, aunque también puede utilizarse un ensayo de unión competitiva. Pueden resultar útiles los anticuerpos contra CD38JL como terapéutica en el tratamiento de condiciones inflamatorias. De esta manera, en una realización de la invención se proporciona un anticuerpo purificado que se une específicamente a un polipéptido de secuencia SEC ID nº 1.

Diagnósticos

Pueden utilizarse anticuerpos que se unen específicamente a CD38JL para el diagnóstico de trastornos caracterizados por la expresión de CD38 o de CD38JL, o en ensayos para el seguimiento de pacientes bajo tratamiento con polipéptidos agonistas, antagonistas o inhibidores de CD38JL. Pueden prepararse anticuerpos útiles con fines diagnósticos utilizando métodos descritos en la presente invención. Entre los ensayos diagnósticos de CD38JL se incluyen métodos que utilizan el anticuerpo y un marcaje para detectar CD38JL en muestras (tejidos, células, fluidos) procedentes del cuerpo humano. Seguidamente los anticuerpos se modifican opcionalmente o se marcan mediante unión covalente o no covalente de una molécula informadora.

Es conocida de la técnica una diversidad de protocolos para detectar la presencia de proteínas tales como CD38JL, incluyendo ELISAs, RIAs y FACS. Estos métodos pueden utilizarse para diagnosticar niveles anormales de expresión de CD38JL. Los valores normales o estándares de CD38JL se establecen mediante combinación de fluidos corporales o extractos celulares obtenidos de sujetos mamíferos normales, preferentemente de seres humanos, con anticuerpos contra CD38JL bajo condiciones adecuadas para la formación de complejos. El nivel de formación de complejo estándar puede medirse mediante diversos métodos, preferentemente por medios fotométricos. Los niveles de CD38JL que se expresan en muestras de tejido del sujeto seguidamente se comparan con los valores estándares. Se calcula la desviación entre los valores estándar y los del sujeto y se utiliza para establecer los parámetros de diagnóstico de una enfermedad.

Los polinucleótidos codificantes de CD38JL pueden utilizarse con fines diagnósticos. Entre los tipos de polinucleótidos que pueden utilizarse se incluyen secuencias oligonucleótidas, moléculas de ARN y de ADN, y PNAs. Los polinucleótidos pueden utilizarse para detectar y cuantificar la expresión génica en muestras de tejidos en los que podría correlacionarse la expresión de CD38JL con una enfermedad. El ensayo diagnóstico puede utilizarse para determinar la ausencia, presencia y expresión en exceso de CD38JL y para realizar el seguimiento de la regulación de los niveles de CD38JL durante la intervención terapéutica.

Pueden utilizarse sondas de PCR dirigidas contra una secuencia específica de CD38JL para identificar secuencias de ácidos nucleicos que codifican CD38JL. La especificidad de la sonda, por ejemplo si se ha construido a partir de una región altamente específica, y la astringencia de la hibridación o de la amplificación (máxima, elevada, intermedia o

baja), determinarán si la sonda identifica únicamente secuencias naturales codificantes de CD38JL, alelos o secuencias relacionadas.

5 También pueden utilizarse sondas de ácidos nucleicos para la detección de secuencias relacionadas, y preferentemente contienen por lo menos aproximadamente 60% de los nucleótidos de cualquiera de las secuencias codificantes de CD38JL. Las sondas de hibridación de la invención pueden ser ADN o ARN y pueden derivarse a partir de la secuencia SEC ID n° 2.

10 Las secuencias polinucleótidas codificantes de CD38JL pueden utilizarse para el diagnóstico de un trastorno asociado a la expresión de CD38JL.

Métodos para detectar y medir la expresión de CD38JL

15 Los métodos para detectar y medir la expresión de proteínas tales como CD38UL con anticuerpos policlonales o monoclonales específicos para la proteína, son conocidos de la técnica (ver, por ejemplo, Hampton, R. *Et al.*, *Serological Methods, a Laboratory Manual*, APS Press, St. Paul, Minn., sección IV, 1990; y Maddox, D.E. *et al.*, *J. Exp. Med.* 158:1211-1216, 1983). Entre las técnicas preferentes se incluyen los ensayos de inmunosorción ligada a enzima (ELISAs), la separación celular activada por fluorescencia (FACS) y el radioinmunoensayo (RIA). Puede utilizarse un inmunoensayo de dos sitios basado en anticuerpos monoclonales reactivos con dos epítomos no interfirientes sobre CD38JL, así como un ensayo de unión competitiva.

20 Existen varios marcajes y técnicas de conjugación que pueden utilizarse en diversos ensayos de ácidos nucleicos y de aminoácidos y que son conocidos de la técnica. Entre los medios para producir una hibridación marcada o sondas de PCR para detectar secuencias relacionadas con polinucleótidos codificantes de CD38JL se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, el marcaje de extremos y la amplificación por PCR utilizando un nucleótido marcado. Alternativamente, pueden construirse sondas de ARNm que contengan las secuencias codificantes de CD38JL y derivados de las mismas, utilizando métodos conocidos de la técnica. Dichos vectores son conocidos de la técnica, se encuentran disponibles comercialmente, y pueden utilizarse para sintetizar sondas de ARN *in vitro* mediante adición de una ARN polimerasa apropiada. Entre las moléculas informadoras o marcajes que pueden utilizarse para detectar las moléculas de interés se incluyen, aunque sin limitarse a ellas, radionucleidos, agentes cromogénicos, fluorescentes y quimioluminiscentes.

Administración general y composiciones farmacéuticas

35 La invención también proporciona métodos para modular la función de CD38JL en un paciente, que comprende administrar en el paciente un compuesto según la invención. En el caso de que el propósito de la modulación de la función de CD38JL en un paciente sea el tratamiento de un estado o condición de enfermedad, la administración preferentemente comprende una cantidad terapéutica o farmacéuticamente eficaz de un compuesto farmacéuticamente aceptable según la invención.

40 En el caso de que el propósito de la modulación de la función de CD38JL en un paciente sea el diagnóstico u otro propósito (por ejemplo determinar la adecuación del paciente a la terapia o la sensibilidad a diversas dosis subterapéuticas de los compuestos según la invención), la administración preferentemente comprenderá una cantidad eficaz de un compuesto según la invención, es decir, la cantidad necesaria para obtener el efecto o grado de modulación deseado.

45 Los compuestos de la invención típicamente pueden administrarse en la forma de una composición farmacéutica. Dichas composiciones pueden prepararse utilizando procedimientos bien conocidos de la técnica farmacéutica y comprenden por lo menos un compuesto de la invención. Los compuestos de la invención también pueden administrarse solos o en combinación con adyuvantes que incrementen la estabilidad de los compuestos de la invención, faciliten la administración de composiciones farmacéuticas que contienen los mismos en determinadas realizaciones, proporcionen una disolución o dispersión incrementada, incrementen la actividad inhibidora, proporcionen terapia adyuvante, y similares. Los compuestos según la invención pueden utilizarse solos o conjuntamente con otras sustancias activas según la invención, opcionalmente también conjuntamente con otras sustancias farmacológicamente activas. En general, los compuestos de la presente invención se administran en una cantidad terapéutica o farmacéuticamente activa, aunque pueden administrarse en cantidades más bajas con fines diagnósticos u otros fines.

60 La administración de los compuestos de la invención, en forma pura o en una composición farmacéutica apropiada, puede llevarse a cabo utilizando cualquiera de los modos aceptados de administración de composiciones farmacéuticas. De esta manera, la administración puede ser, por ejemplo, por vía oral, bucal (por ejemplo sublingual), nasal, parenteral, tópica, transdérmica, vaginal o rectal, en forma de sólido, semisólido, polvos liofilizados, o formas de dosificación líquida tales como, por ejemplo, tabletas, supositorios, píldoras, cápsulas de gelatina blanda elástica o dura, polvos, soluciones, suspensiones o aerosoles, o similares, preferentemente en formas de dosificación unitaria adecuadas para la administración simple de dosis exactas. Las composiciones farmacéuticas generalmente incluirán un portador o excipiente farmacéutico convencional y un compuesto de la invención a modo de agente o agentes activos y, además, puede incluir otros agentes medicinales, agentes farmacéuticos, potadores, adyuvantes, diluyentes, vehículos o combinaciones de los mismos. Dichos excipientes, portadores o aditivos farmacéuticamente aceptables, así como los métodos para preparar las composiciones farmacéuticas para diversos modos de administración son bien

conocidos por el experto en la materia. Puede obtenerse una revisión del estado de la técnica en, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20a edición, A. Gennaro (editor), Lippincott Williams & Wilkins, 2000; Handbook of Pharmaceutical Additives, Michael e Irene Ash (editores), Gower, 1995; Handbook of Pharmaceutical Excipients, A.H. Kibbe (editor), American Pharmaceutical Ass'n, 2000; H.C. Ansel y N.G. Popovich, Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 5a edición, Lea y Febiger, 1990; cada una de las cuales se incorpora como referencia en la presente memoria en su totalidad para mejor descripción del estado de la técnica.

Tal como esperaría el experto en la materia, se seleccionan las formas de los compuestos de la invención utilizados en una formulación farmacéutica particular (por ejemplo sales) que presentan las características físicas adecuadas (por ejemplo solubilidad en agua) y necesarias para que la formulación resulte eficaz.

Entre las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración bucal (sublingual) se incluyen pastillas que comprende un compuesto de la presente invención en una base saborizada, habitualmente sacarosa, y acacia o tragacanto, y pastillas que comprenden el compuesto en una base inerte, tal como gelatina y glicerina o sacarosa y acacia.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración parenteral pueden comprender preparaciones acuosas estériles de un compuesto de la presente invención. Estas preparaciones preferentemente se administran intravenosamente, aunque la administración también puede llevarse a cabo por medio de una inyección subcutánea, intramuscular o intradérmica. Las formulaciones farmacéuticas inyectables comúnmente se basan en solución salina estéril inyectable, solución salina tamponada con fosfato, suspensiones oleaginosas u otros portadores inyectables conocidos de la técnica y generalmente se preparan en forma estéril e isotónica respecto a la sangre. Por lo tanto, las formulaciones farmacéuticas inyectables pueden proporcionarse en forma de una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente parenteralmente aceptable no tóxico, incluyendo 1,3-butanodiol, agua, solución de Ringer, solución isotónica de cloruro sódico, aceites fijados, tales como monoglicéridos o diglicéridos sintéticos, ácidos grasos tales como ácido oleico y similares. Dichas formulaciones farmacéuticas inyectables se formulan según la técnica conocida utilizando agentes dispersantes o coagulantes adecuados y agentes de suspensión. Las composiciones inyectables generalmente contienen entre 0,1% y 5% p/p de un compuesto de la invención.

Entre las formas de dosificación sólidas para la administración oral de los compuestos pueden incluirse cápsulas, tabletas, píldoras, polvos y gránulos. Para dicha administración oral, se forma una composición farmacéuticamente aceptable que contiene uno o más compuestos de la invención mediante la incorporación de cualquiera de los excipientes utilizados normalmente, tales como, por ejemplo, grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, almidón pregelatinizado, estearato de magnesio, sacarina sódica, talco, derivados de éter de celulosa, glucosa, gelatina, sacarosa, citrato, galato de propilo y similares. Entre dichas formulaciones farmacéuticas sólidas pueden incluirse formulaciones, tal como son bien conocidas de la técnica, para proporcionar la administración prolongada o sostenida del fármaco en el tracto gastrointestinal mediante cualquier mecanismo, incluyendo, aunque sin limitación, la liberación sensible al pH a partir de la forma de dosificación basada en la modificación del pH en el intestino delgado, la erosión lenta de una tableta o cápsula, la retención en el estómago basada en las propiedades físicas de la formulación, la bioadhesión de la forma de dosificación al revestimiento mucosal del tracto intestinal, o la liberación enzimática del fármaco activo respecto de la forma de dosificación.

Entre las formas de dosificación líquida para la administración oral de los compuestos pueden incluirse emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires, conteniendo opcionalmente adyuvantes farmacéuticos en un portador, tales como, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa acuosa, glicerol, etanol y similares. Dichas composiciones también pueden contener adyuvantes adicionales, tales como agentes humectantes, emulsionantes, de suspensión, edulcorantes, saborizantes y perfumantes.

Entre las formas de dosificación tópica de los compuestos se incluyen pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizaciones, inhalantes, pomadas oculares, gotas para ojos u oídos, vendas impregnadas y aerosoles, y pueden contener aditivos convencionales apropiados, tales como conservantes, solventes para asistir a la penetración del fármaco, y emolientes en pomadas y cremas. La aplicación tópica puede ser de una o más veces al día dependiendo de las consideraciones médicas habituales. Además, los compuestos preferentes de la presente invención pueden administrarse en forma intranasal mediante utilización tópica de vehículos intranasales adecuados. Las formulaciones también pueden contener portadores convencionales compatibles, tales como bases de cremas o pomadas y etanol o alcohol olefílico para las lociones. Dichos portadores pueden encontrarse presentes en porcentajes de entre aproximadamente 1% y aproximadamente 98% de la formulación, más habitualmente forman hasta aproximadamente 80% de la formulación.

También resulta posible la administración transdérmica. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración transdérmica pueden presentarse en forma de parches discretos adaptados para permanecer en contacto íntimo con la epidermis del receptor durante un periodo de tiempo prolongado. Para la administración en forma de un sistema de administración transdérmica, la administración de dosis evidentemente será continua y no intermitente durante la totalidad del régimen de dosificación. Dichos parches convenientemente contienen un compuesto de la invención en una solución acuosa opcionalmente tamponada, disuelto y/o dispersado en un adhesivo, o dispersado en un polímero. Una concentración adecuada del compuesto activo es de entre aproximadamente 1% y 35%, preferentemente de entre aproximadamente 3% y 15%.

Par la administración mediante inhalación, los compuestos de la invención convenientemente se administran en forma de una pulverización de aerosol desde un dispositivo de bomba de pulverización que no requiere un gas propelente o a partir de un paquete presurizado o de un nebulizador utilizando un propelente adecuado, por ejemplo diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, tetrafluoroetano, heptafluoropropano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En cualquier caso, la unidad de dosificación de pulverización de aerosol puede determinarse proporcionando una válvula para administrar una cantidad medida de manera que se utilice el inhalador de dosis medida (MDI) para administrar los compuestos de la invención de una manera reproducible y controlada. Dichos dispositivos inhaladores, nebulizadores o atomizadores son conocidos de la técnica anterior, por ejemplo a partir de las publicaciones de patente internacional PCT n° WO 97/12687 (particularmente la figura 6 de la misma, que es la base del nebulizador comercial RESPIMAT®), n° WO 94/07607, n° WO 97/12683 y n° WO 97/20590, a las que se hace referencia en la presente invención y cada una de las cuales se incorpora en la presente memoria como referencia en su totalidad.

La administración rectal puede llevarse a cabo utilizando supositorios de dosis unitaria en los que el compuesto se mezcla con sólidos solubles o insolubles en agua que presentan baja temperatura de fusión, tales como grasas, manteca de cacao, gelatina glicerizada, aceites vegetales hidrogenados, mezclas de polietilenglicoles de diversos pesos moleculares, o ésteres de ácidos grasos de polietilenglicoles o similares. El compuesto activo habitualmente es un componente menor, con frecuencia de entre aproximadamente 0,05% y 10% en peso, siendo el resto el componente base.

En la totalidad de las composiciones farmacéuticas anteriormente indicadas, los compuestos de la invención pueden formularse con un portador o excipiente aceptable. Los portadores o excipientes utilizados deben ser, evidentemente, aceptables, en el sentido de que son compatibles con los demás ingredientes de la composición, y no deben ser perjudiciales para el paciente. El portador o excipiente puede ser un sólido o un líquido, o ambos, y preferentemente se formula con el compuesto de la invención en forma de una composición de dosis unitaria, por ejemplo una tableta, que puede contener entre 0,05% y 95% en peso del compuesto activo. Entre dichos portadores o excipientes pueden incluirse rellenos inertes o diluyentes, ligantes, lubricantes, agentes desintegrantes, retardantes de solución, aceleradores de resorción, agentes de absorción y agentes colorantes. Entre los ligantes adecuados se incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales, tales como glucosa o β -lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas, tales como acacia, tragacanto o alginato sódico, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares. Entre los lubricantes se incluyen oleato sódico, estearato sódico, estearato de magnesio, benzoato sódico, acetato sódico, cloruro sódico y similares. Entre los desintegrantes se incluyen almidón, metilcelulosa, ágar, bentonita, goma xantano y similares.

Generalmente, una dosis diaria terapéuticamente efectiva se encuentra comprendida entre aproximadamente 0,001 mg y aproximadamente 15 mg/kg de peso corporal al día de un compuesto de la invención; preferentemente de entre aproximadamente 0,1 mg y aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal al día, y más preferentemente, de entre aproximadamente 0,1 mg y aproximadamente 1,5 mg/kg de peso corporal al día. Por ejemplo, para la administración a una persona de 70 kg, el intervalo de dosis se encontraría comprendido entre aproximadamente 0,07 mg y aproximadamente 1.050 mg al día de un compuesto de la invención, preferentemente entre aproximadamente 7,0 mg y aproximadamente 700 mg al día, y más preferentemente entre aproximadamente 7,0 mg y aproximadamente 105 mg al día. Puede resultar necesario algún grado de optimización de la dosis rutinaria para determinar un nivel y patrón de dosificación óptimos.

Los portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables comprenden la totalidad de los aditivos anteriormente indicados y similares.

Ejemplos de la invención

Ejemplo 1

Análisis de micromatrices de células CD4⁺

Se purificaron células T CD4⁺ humanas a partir de sangre periférica obtenida de donantes y se estimularon con anticuerpo anti-CD3 + anticuerpo anti-CD28 o anticuerpo anti-CD3 + ICAM durante 24 horas o durante 72 horas. Las células no estimuladas se utilizaron como controles. Se extrajo el ARN total de dichas células y se cuantificó mediante análisis utilizando chips génicos Affymetrix U95. Los presentes inventores llevaron a cabo el análisis del perfil de expresión e identificaron que EST(AI989354) se expresaba a nivel elevado de inducción durante las activaciones de las células T (con anti-CD3+anti-CD28 o con anti-CD3+ICAM) (fig. 6). Los datos se confirmaron con las muestras de células T procedentes de tres donantes diferentes (fig. 1).

Ejemplo 2

Análisis de micromatrices de tejidos normales

También se obtuvo el perfil de expresión del gen AI989354 en tejidos normales mediante experimentos con chips génicos Affymetrix U95. Se utilizaron muestras de ARN de múltiples donantes para cada grupo de tejidos normales. AI989354 se expresaba a nivel elevado en los timocitos normales (fig. 4), sugiriendo que presenta una función importante en las células T y en los sistemas inmunológicos. La expresión de AI989354 en la totalidad de los demás

tejidos normales sometidos a ensayos era relativamente baja (fig. 4). La expresión selectiva en el timo sugiere que este gen presenta importantes funciones inmunológicas y que podría ser una buena diana debido a que su modulación por inhibidores, antagonistas o agonistas presentaría menos efectos secundarios debido al nivel reducido de expresión en otros tejidos.

Ejemplo 3

Aislamiento y secuenciación de LJ-2

Se aisló el clon de plásmido LJ-2 a partir de paneles de la biblioteca de ADNc de leucocitos sanguíneos periféricos (PBLs) humanos en el cribado de biblioteca de ADNc “Longest-Clone” (Origen Technologies Inc., Rockville, MD). Los fragmentos de ADNc humanos se insertaron en un vector, pCMV6-XL4, de 4,7 kb de longitud, para construir la biblioteca de ADNc. Se distribuyeron en la “superplaca” de 96 pocillos aproximadamente 6 millones de clones seleccionados por tamaño, derivados a partir de doce paneles de biblioteca de tejidos humanos consistentes de cerebro fetal y adulto, corazón, riñón, hígado, pulmón, músculo, leucocitos sanguíneos periféricos, placenta, intestino delgado, bazo y testículo. Cada pocillo de la superplaca contenía 40.000 clones. Para el cribado de la biblioteca, se diseñaron tres cebadores de PCR a partir de las secuencias de AI989354:

SEC ID nº 3:	P1R (cebador inverso)	GAGGTGTTGAGTCTTTCTGGGCA
SEC ID nº 4:	P2F (cebador directo),	ATAGCCTGCTTCCGAATTCTTGG
SEC ID nº 5:	P3F (cebador directo),	CCCATGCTCCCTAATTCCCTTC
SEC ID nº 6:	VP3F (vector de cebador directo),	GACAGAGCTCGTTTAGTGAACC
SEC ID nº 7:	VP6R (vector de cebador inverso),	TAGAAGGACACCTAGTCAGAC

Se cribó la superplaca mediante PCR utilizando la pareja de cebadores P3F/P1R. Los pocillos positivos seguidamente se cribaron nuevamente utilizando una pareja de cebadores VP3F/P1R para identificar el pocillo con el clon más largo. Este pocillo correspondería a una “placa madre”, que contendría 5.000 clones por pocillo. La placa madre también se cribó utilizando los cebadores VP3F/P1R para identificar el pocillo con el clon más largo. La subplaca de 96 pocillos apropiada, derivada del pocillo seleccionado de la placa madre y que contenía 50 clones por pocillo, se cribó mediante PCR utilizando los cebadores P3F/P1R. Las células de la subplaca positiva seguidamente se sembraron en placa y se recolectaron 96 colonias individuales y se cribaron mediante PCR para identificar el clon final utilizando las parejas de cebadores P3F/P1R, VP3F/P1R, P2F/VP6R y P3F/VP6R. Se amplificaron los productos de PCR a partir de un clon, LJ-2, con P3F/P1R (~436 pb), VP3F/P1R (~1,7 kb), P2F/VP6R (~590 pb) y P3F/VP6R (~620 pb), respectivamente. La secuencia de LJ-2 que contenía la secuencia de AI989354 se obtuvo mediante secuenciación del inserto de clon LJ-2.

Ejemplo 4

Análisis de micromatrices de la expresión de AI989354 en diversos tejidos inflamados frente a la expresión en tejidos normales

También se obtuvo la expresión de ARNm del gen AI989354 en varios tejidos inflamados y normales de control mediante experimentos con chips génicos Affymetrix U95. Se indujo la expresión de AI989354 en tejidos de colon inflamado procedente de pacientes con enfermedad intestinal inflamatoria (comparando tejidos de colon de 6 pacientes con enfermedad de Crohn y 7 pacientes con colitis ulcerosa frente a 39 colonos normales) (fig. 5). También se indujo el gen en recto inflamado y en bazo inflamado comparando con controles normales (fig. 5). La expresión inducida de AI989354 en dichos tejidos inflamados sugiere que AI989354 podría mediar en las respuestas inflamatorias en dichos tejidos.

Ejemplo 5

Búsqueda de secuencias en bases de datos

Se llevó a cabo una búsqueda de la secuencia SEC ID nº 1 en la base de datos InterPro utilizando el programa INTERPRO con el fin de obtener familias de proteínas, dominios o sitios que presentasen un grado elevado de similitud con la secuencia SEC ID nº 1. Esta búsqueda reveló dos familias de proteínas: la familia PFO2267 y la familia SSF56629. La familia PFO2267 codifica un polipéptido que presenta una ADP-ribosil-ciclase CD38/157. El valor E de PFO2267 era de $5,9 \times 10^{-5}$. La familia SSF56629 también presentaba una región ADP-ribosilciclase. Para SSF56629 el valor E era de 9×10^{-23} .

ES 2 331 891 T3

SEC ID n° 1

1 MKLGTQTVPC NKILLWSRIK DLAHQFTQVQ RDMFTLEDL LGYLADDLTW
5 51 CGEFNTSSEA LGPVGLPRDV EGEQSDFCWR P

SEC ID n° 2

10 1 GAATTCGCAC CAGAAGAGCC CAACTCTGTC TTGGCGTCAG TATCCTGGTC
CTTAAGCGTG GTCTTCTCGG GTTGAGACAG AACCGCAGTC ATAGGACCAG
51 CTGATCCTCG TCGTGGTGCT CGCGGTGGTC GTCCCGAGGT GCGGCCAGCA
GACTAGGAGC AGCACCACGA GCGCCACCAG CAGGGCTCCA CCGCGGTCTGT
15 101 GTGGAGCGGT CCGGBCACCA CCAAGCGCTT TCCCGAGACC GTCTCTGGCGC
CACCTCGCCA GGCCCGTGCT GGTTCGCGAA AGGGCTCTGG CAGGACCGCG
151 GATGCGTCAA GTACACTGAA ATTCATCCTG AGATGAGAAA CAGCTAAAAG
CTACGCAGTT CATGTGACTT TAAGTAGGAC TCTACTCTTT GTTCGATTTTC
20 201 AAGTGAGTTG GGCAGGCAC TGTGGCTCAC ACCTGTAATC CCAGCACTTT
TTCACCTAAC CCGGTCCGTG ACACCGAGTG TGGACATTAG GCTCGTGAAA
251 GGGAGGCCCA GGCAGGTGGA TCACTTAAGG TCAGGAGTAC AAGACCTGCC
CCCTCCGGGT CCGTCCACCT AGTGAATTC AGTCCTCATG TTCTGGACCG
25 301 TGGCCAACAT GCTGAAACTC CGTCTCTACT AAAAATACAA AATTAGCCGG
ACCGGTTGTA CGACTTTGAG GCAGAGATGA TTTTATGTT TTAATCGGCC
351 GTGTTGTGGC GCGTGCTGT AATCCAGCT ACTCTGGAGA CTGAGGTGGG
CACAACACCG CGCACGGACA TTAGGGTCGA TGAGACCTCT GACTCCACCC
401 AGAATCGCTT GAACCCAGGA GGAGGAGGTA GCACTGAACC AAGATCCAGC
30 TCTTAGCGAA CTTGGGTCTT CTCTCTCCAT CGTGAATTGG TTCTAGGTCTG
451 CTGGCCAAGA GAGTAAGACT CCGTCTCAA ACCAAACCAA ACCAAACCAA
GACCGTTTCT CTCATTCTGA GGCAGAGTTT TGGTTTGGTT TGGTTTGGTT
501 AAAAAGAAAC ATGTAGACTG CCAAAGTGTA TGGGATGCTT TCAAGGGTGC
35 TTTTCTTTTG TACATCTGAC GGTTTCACAT ACCCTACGAA AGTTCCACG
551 ATTTATTTCA AAACATCCTT GCAACATTAC TGAAGAAGAC TATCAGCCAC
TAAATAAAGT TTTGTAGGAA CGTTGTAATG ACTTCTTCTG ATAGTCGGTG
601 TAATGAAGTT GGGAACCTAG ACCGTACCTT GCAACAAGAT TCTTCTTTGG
40 ATTACTTCAA CCCTTGAGTC TGGCATGGAA CGTTGTTCTA AGAAGAAACC
651 AGCAGAATAA AAGATCTGGC CCATCAGTTC ACACAGGTCC AGCGGGACAT
TCGTCTTATT TTCTAGACCG GGTAGTCAAG TGTGTCCAGG TCGCCCTGTA
701 GTTCACCCTG GAGGACACGC TGCTAGGCTA CTTGCTGAT GACCTCACAT
CAAGTGGGAC CTCCTGTGCG ACGATCCGAT GGAACGACTA CTGGAGTGTA
45 751 GGTGTGGTGA ATTCAACACT TCCAGTGAGG CTCTGGGCCC TGTGGGATTG
CCACACCACT TAAGTTGTGA AGGTCACTCC GAGACCCGGG ACACCCTAAC
801 CCCAGGGATG TGGAGGGTGA ACAGAGTGAC TTCTGCTGGA GGCCTGAAT
GGGTCCCTAC ACCTCCCACT TGTCTCACTG AAGACGACCT CCGGGACTTA
50 851 GATTAGTGTG GAGGACAGAG CCACAGGCAC CCATCCTGAT GCCATCTATA
CTAATCACAC CTCCTGTCTC GGTGTCCGTG GGTAGGACTA CCGTAGATAT
901 CTTATATTAG TCCATTTGTG TTGCTATTAA GGAATACCTG AGGCTGCGTA
GAATATAATC AGGTAAACAC AACGATAATT CTTATGGAC TCCGACGCAT
55 951 ATTTATAAAG AAAAGAGGTT TATTTGACTC ACAGTTACGC AGGCTGTACA
TAAATATTTT TTTTCTCCAA ATAACTGAG TGTCAATGCG TCCGACATGT
1001 AGAAGTAGGG TACCAGCATC CACTTCGGGT GAAGGCCTGA GCGTGTTCCT
TCTTCATCCC ATGGTCGTAG GTGAAGCCCA CTTCCGGACT CCGACAAAGG
60 1051 ACTCATGGAG AAGGGGAAGG GGAGCTGGCA TTTACAGAGA TCACATGGTG
TGAGTACCTC TTCCCCTTCC CCTCGACCGT AAATGTCTCT AGTGTACCAC
1101 AGGGAGGAAA GCAAGGAGAG GTCAGGGGAG GTGCCAGGCT GTTTGTAAATG
TCCCTCCTTT CGTTCCTCTC CAGTCCCCTC CACGGTCCGA CAAACATTAC
1151 ACCAGCTGTC CTGGGAACTA GTAGAGTAAG AACTCATTAC TATAAGGACA
65 TGGTGCACAG GACCCTTGAT CATCTCATTC TTGAGTAATG ATATTCCTGT
1201 GCACCATGCC ATTCGTGCAG GATCATCCCT ATGACCCAAA CACCTCCTAC
CGTGGTACGG TAAGCACGTC CTAGTAGGGA TACTGGGTTT GTGGAGGATG

ES 2 331 891 T3

1251 TAGTCCCGAG CTCCAACACT GGGGGTCGAA TTTCAACATA AGGTTTGGAG
 ATCAGGGCTC GAGGTTGTGA CCCCCAGCTT AAAGTTGTAT TCCAAACCTC
 1301 AGTTAAATAT CCAAACATA GCACTACCCT TAATGGCAAC TCAGGCTGAT
 TCAATTTATA GGTTTGATAT CGTGATGGGA ATTACCGTTG AGTCCGACTA
 1351 ATAAAGTAGC ATTCCCTGTT TTCTTGAAAA ATTGACTTCA GAGTTGGGGA
 TATTTTCATCG TAAGGGACAA AAGAACTTTT TAACTGAAGT CTCAACCCCT
 1401 TTGCCCATGC TCCCTAATTC CCTTCTTTTG AGTGCTCACA TAGCCTGCTT
 AACGGGTACG AGGGATTAAG GGAAGAAAAC TCACGAGTGT ATCGGACGAA
 1451 CCGAATTCTT GGTATTTTGC TCTCTGTAAG GTCATCATTG AGGTCCAAAG
 GGCTTAAGAA CCATAAAACG AGAGACATTC CAGTAGTAAG TCCAGGTTTC
 1501 AAGCTTAGAA CAGGATGAGG TCTCAGTGGG ACCTAGACCA AGGTTCTTGC
 TTCAGATCTT GTCCTACTCC AGAGTCACCC TGGATCTGGT TCCAAGAACG
 1551 TCTTCAGAAT CATCACAGTA GCCATGGACT GGACTCTTCC ATCTCAGGCA
 AGAAGTCTTA GTAGTGTCAT CGGTACCTGA CCTGAGAAGG TAGAGTCCGT
 1601 CTGGCTTTGC CATCATTTT CAGATGTAGC CTTACCCTGC CCAGAAAGAC
 GACCGAAACG GTAGTAAAAA GTCTACATCG GAATGGGACG GGTCTTTCTG
 1651 TCAACACCTC ACCAGGGGAA GGGATTTCCT ACAACCAAAA CCCTACTGCA
 AGTTGTGGAG TGGTCCCCTT CCCTAAAGGA TGTGTTTGT TGGATGACGT
 1701 GTTTTCACTT CTTTTTTTTT TCTTTTGT TATATGGTGG ATATTTTAC
 CAAAAGTGAA GAAAAAACA AGAAAAACA ATATACCACC TATAAAAATG
 1751 TTTATATAGT TTTATTCTTA TTTTACTGT TTTTCATTGT TTGTTTTTAA
 AAATATATCA AAATAAGAAT AAAAATGACA AAAAGTAACA AACAAAAATT
 1801 AAGCTTATCT TATTATAGCT TCTTTGTCCT AGGTTTGCAT TACTTTCAAT
 TTCGAATAGA ATAATATCGA AGAAACAGGG TCCAAACGTA ATGAAAGTTA
 1851 TACAAAAATA AAGCATGATT ATTTGAAAAA AAAAAAATAA AAAACTCGAC
 ATGTTTTTAT TTCGTACTAA TAAACTTTTT TTTTTTTTTT TTTTGAGCTG

SEC ID n° 3

GAGGTGTTGAGTCTTTCTGGGCA

SEC ID n° 4

ATAGCCTGCTTCCGAATTCTTGG

SEC ID n° 5

CCCATGCTCCCTAATTCCCTTC

SEC ID n° 6

GACAGAGCTCGTTTAGTGAACC

SEC ID n° 7

TAGAAGGACACCTAGTCAGAC

REIVINDICACIONES

1. Variante de procesamiento de CD38 purificada que comprende el polipéptido de secuencia SEC ID nº 1.

2. Variante de procesamiento de CD38 purificada que comprende los residuos aminoácidos 58 a 81 de la secuencia SEC ID nº 1.

3. Polinucleótido aislado y purificado codificante de la variante de procesamiento de CD38 que comprende la secuencia de aminoácidos de la secuencia SEC ID nº 1 o un fragmento de la secuencia SEC ID nº 1 que comprende los aminoácidos 58 a 81.

4. Polinucleótido aislado y purificado según la reivindicación 3 que comprende las bases 603 a 845 de la secuencia SEC ID nº 2 o las bases 774 a 845 de la secuencia SEC ID nº 2.

5. Polinucleótido aislado y purificado que es complementario al polinucleótido codificante de la variante de procesamiento de CD38 que consiste de la secuencia de aminoácidos de la secuencia SEC ID nº 1 o de un fragmento de la secuencia SEC ID nº 1 que comprende los residuos aminoácidos 58 a 81 de la secuencia SEC ID nº 1.

6. Vector de expresión que contiene por lo menos un polinucleótido codificante de la variante de procesamiento de CD38 que consiste de la secuencia de aminoácidos de la secuencia SEC ID nº 1 o de los residuos aminoácidos 58 a 81 de la secuencia SEC ID nº 1.

7. Vector de expresión según la reivindicación 6 contenido en una célula huésped.

8. Composición farmacéutica que comprende una variante de procesamiento de CD38 purificada que presenta la secuencia SEC ID nº 1 según la reivindicación 1, conjuntamente con un portador farmacéutico aceptable.

9. Método para detectar una secuencia polinucleótido codificante de una variante de procesamiento de CD38 tal como se define en la secuencia SEC ID nº 1 en una muestra biológica que contiene ácidos nucleicos, comprendiendo dicho método las etapas siguientes:

(a) hibridar el complemento del polinucleótido codificante del polipéptido que comprende la secuencia SEC ID nº 1 o un fragmento de la misma con por lo menos uno de los ácidos nucleicos de la muestra biológica, formando de esta manera un complejo de hibridación, y

(b) detectar el complejo de hibridación, en el que la presencia del complejo de hibridación se correlaciona con la presencia de un polinucleótido codificante de la variante de procesamiento de CD38 en la muestra biológica.

10. Anticuerpo purificado que se une específicamente a las posiciones 58 a 81 de una variante de procesamiento de CD38 que presenta la secuencia SEC ID nº 1.

11. Utilización de la variante de procesamiento de CD38 que presenta la secuencia SEC ID nº 1 en un ensayo de cribado y/o en un ensayo de rendimiento ultraelevado para identificar inhibidores de molécula pequeña de dicho polipéptido.

12. Utilización de la variante de procesamiento de CD38 que presenta la secuencia SEC ID nº 1 para cribar bibliotecas de agentes farmacéuticos con el fin de identificar aquellos que se unen específicamente a dicho polipéptido.

13. Utilización de la variante de procesamiento de CD38 que presenta la secuencia SEC ID nº 1 para producir anticuerpos que se unen específicamente a dicho polipéptido.

Secuencia de ADNc para el clon LJ-2

```

1   GAATTCGCAC CAGAAGAGCC CAACTCTGTC TTGGCGTCAG TATCCTGGTC
51  CTGATCCTCG TCGTGGTGCT CGCGGTGGTC GTCCCGAGGT GCGGCCAGCA
101 GTGGAGCGGT CCGGGCACCA CCAAGCGCTT TCCCGAGACC GTCCTGGCGC
151 GATGCGTCAA GTACACTGAA ATTCATCCTG AGATGAGAAA CAGCTAAAAG
201 AAGTGAGTTG GGCCAGGCAC TGTGGCTCAC ACCTGTAATC CCAGCACTTT
251 GGGAGGCCCA GGCAGGTGGA TCACTTAAGG TCAGGAGTAC AAGACCTGCC
301 TGGCCAACAT GCTGAAACTC CGTCTCTACT AAAAATACAA AATTAGCCGG
351 GTGTTGTGGC GCGTGCCTGT AATCCCAGCT ACTCTGGAGA CTGAGGTGGG
401 AGAATCGCTT GAACCCAGGA GGAGGAGGTA GCACTGAACC AAGATCCAGC
451 CTGGCCAAGA GAGTAAGACT CCGTCTCAA ACCAAACCAA ACCAAACCAA
501 AAAAAGAAAC ATGTAGACTG CCAAAGTGTA TGGGATGCTT TCAAGGGTGC
551 ATTTATTTCA AAACATCCTT GCAACATTAC TGAAGAAGAC TATCAGCCAC
601 TAATGAAGTT GGGAATCAG ACCGTACCTT GCAACAAGAT TCTTCTTTGG
651 AGCAGAATAA AAGATCTGGC CCATCAGTTC ACACAGGTCC AGCGGGACAT
701 GTTCACCCTG GAGGACACGC TGCTAGGCTA CCTTGCTGAT GACCTCACAT
751 GGTGTGGTGA ATTCAACACT TCCAGTGAGG CTCTGGGCCC TGTGGGATTG
801 CCCAGGGATG TGGAGGGTGA ACAGAGTGAC TTCTGCTGGA GGCCCTGAAT
851 GATTAGTGTG GAGGACAGAG CCACAGGCAC CCATCCTGAT GCCATCTATA
901 CTTATATTAG TCCATTTGTG TTGCTATTAA GGAATACCTG AGGCTGCGTA
951 ATTTATAAAG AAAAGAGGTT TATTTGACTC ACAGTTACGC AGGCTGTACA
1001 AGAAGTAGGG TACCAGCATC CACTTCGGGT GAAGGCCTGA GGCTGTTTCC
1051 ACTCATGGAG AAGGGGAAGG GGAGCTGGCA TTTACAGAGA TCACATGGTG
1101 AGGGAGGAAA GCAAGGAGAG GTCAGGGGAG GTGCCAGGCT GTTTGTAATG
1151 ACCAGCTGTC CTGGGAAC TAAGAGTAAG AACTCATTAC TATAAGGACA
1201 GCACCATGCC ATTCTGTCAG GATCATCCCT ATGACCCAAA CACCTCCTAC
1251 TAGTCCCGAG CTCCAACACT GGGGGTCGAA TTTCAACATA AGGTTTGGAG
1301 AGTTAAATAT CCAAACATA GCACTACCCT TAATGGCAAC TCAGGCTGAT
1351 ATAAAGTAGC ATTCCCTGTT TTCTTGAAAA ATTGACTTCA GAGTTGGGGA
1401 TTGCCCATGC TCCCTAATTC CTTCTTTTGG AGTGCTCACA TAGCCTGCTT
1451 CCGAATTCTT GGTATTTTGC TCTCTGTAAG GTCATCATTC AGGTCCAAAG
1501 AAGTCTAGAA CAGGATGAGG TCTCAGTGGG ACCTAGACCA AGGTTCTTGC
1551 TCTTCAGAA TATCACAGTA GCCATGGACT GGACTCTTCC ATCTCAGGCA
1601 CTGGCTTTGC CATCATTTTT CAGATGTAGC CTTACCCTGC CCAGAAAGAC
1651 TCAACACCTC ACCAGGGGAA GGGATTTTCT ACAACCAAAA CCCTACTGCA
1701 GTTTTCACTT CTTTTTTTTT TCTTTTGTG TATATGGTGG ATATTTTAC
1751 TTTATATAGT TTTATTTCTA TTTTACTGT TTTTCATTGT TTGTTTTTAA
1801 AAGCTTATCT TATTATAGCT TCTTTGTCCC AGGTTTGCAT TACTTTCAAT
1851 TACAAAATA AAGCATGATT ATTTGAAAAA AAAAAAAAAA AAAACTCGAC

```

FIG. 1

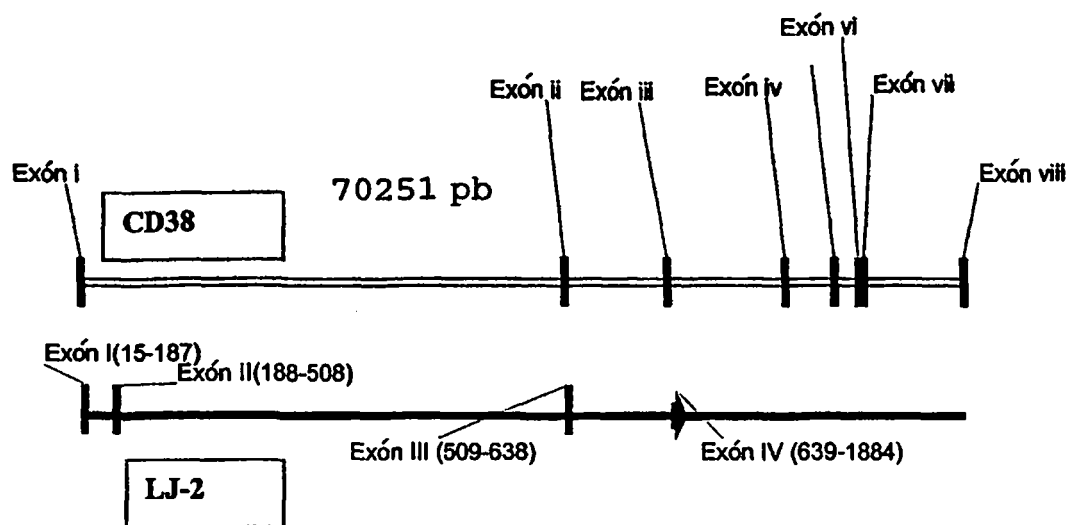


FIG. 2

		1		50
CD38_humano	(1)	MANCEFSPVSGDKPCCLRSRAQLCLGVSLVLILVVVLAVVVPRWRQ	TW	
CD38JL_humano	(1)	-----	-----	
Consenso	(1)			
		51		100
CD38_humano	(51)	SGPGTTKRFPETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCN		
CD38JL_humano	(1)	-----	-----	
Consenso	(51)			
		101		150
CD38_humano	(101)	ITEEDYQPLMKLGTQTVPCNKILLWSRIKDLAHQFTQVQVQDMFTLED	TLL	
CD38JL_humano	(1)	-----MKLGTQTVPCNKILLWSRIKDLAHQFTQVQVQDMFTLED	TLL	
Consenso	(101)	MKLGTQTVPCNKILLWSRIKDLAHQFTQVQVQDMFTLED	TLL	
		151		200
CD38_humano	(151)	GYLADDLTWCGEFNTSKINYQSCPDWRKDCSNNPVSVFWKTVSRRFAEAA		
CD38JL_humano	(42)	GYLADDLTWCGEFNTSSEALGPVGLPRDVEGEQ-SDFCWRP-----		
Consenso	(151)	GYLADDLTWCGEFNTS	R N WK	
		201		250
CD38_humano	(201)	CDVVHVMLNGRSRKIPDKNSTFGSVEVHNLQPEKVQVQLEAWVIHGGREDS		
CD38JL_humano	(82)	-----	-----	
Consenso	(201)			
		251		300
CD38_humano	(251)	RDLCQDPTIKELESIIISKRNIFQSCNKNIYRDPKFLQCVKNPEDSSCTSEI		
CD38JL_humano	(82)	-----	-----	
Consenso	(251)			

FIG. 3

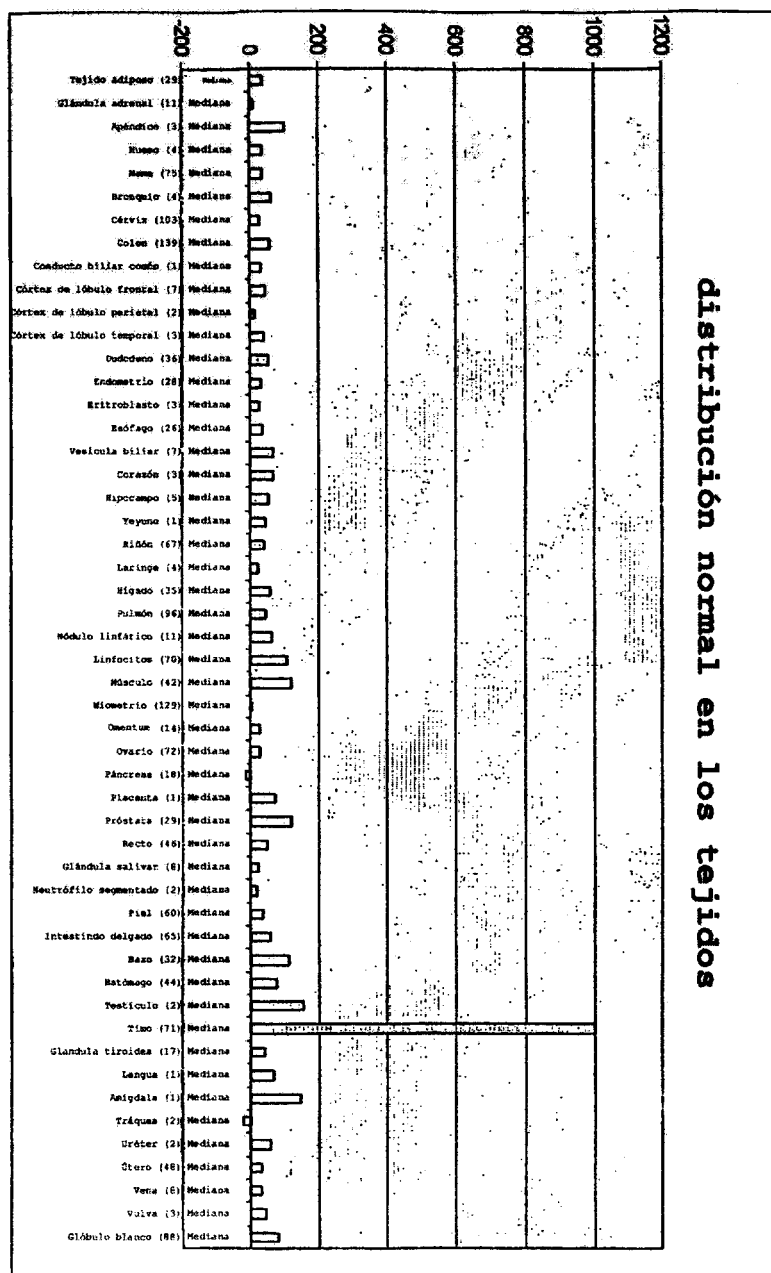


FIG. 4 Se midió la expresión de ARNm de AI989354 en tejidos humanos normales utilizando matrices Affymetrix U95 GeneChip. Se proporcionan los valores de medianas de la expresión. Se indica el número de muestras de donante.

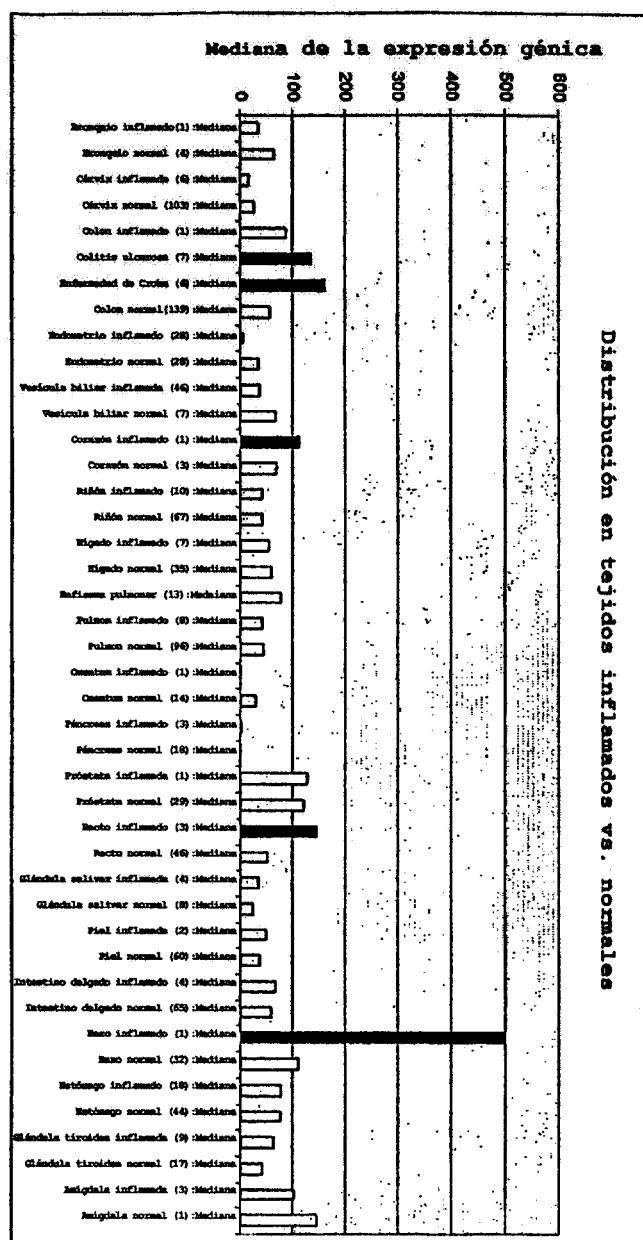


FIG. 5 Expresión del ARNm de AI989354 en diversos tejidos inflamados vs. Tejidos normales. Se proporcionan los valores de medianas de la expresión. Los datos se obtuvieron de experimentos realizados con chips génicos Affymetrix U95. Se indica el número de muestras de donante.

Se midió la expresión de AI989354 en células T CD4 humanas utilizando matrices Affymetrix U95 GeneChip. Se aislaron células T CD4 primarias de tres donantes y se estimularon con antiCD3+antiCD28 o con antiCD3+ICAM durante 24 ó 72 horas.

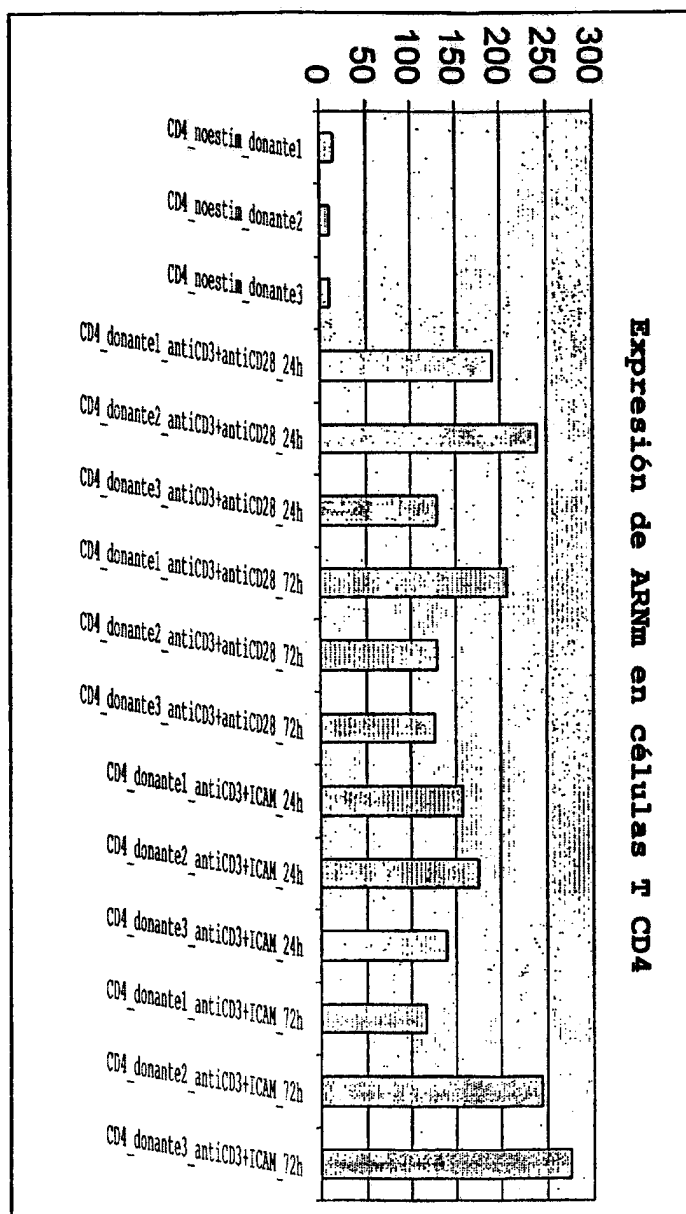


FIG. 6

1 MKLGTQTVPC NKILLWSRIK DLAHQFTQVQ RDMFTLEDTL LGYLADDLTW
51 CGEFNTSSEA LGPVGLPRDV EGEQSDFCWR P

FIG. 7

```

<-----
1  GAATTCGCAC CAGAAGAGCC CAACTCTGTC TTGGCGTCAG TATCCTGGTC CTGATCCTCG
  CTTAAGCGTG GTCTTCTCGG GTTGAGACAG AACCGCAGTC ATAGGACCAG GACTAGGAGC
-----exonI-----
61  TCGTGGTGCT CGCGGTGGTC GTCCCGAGGT GCGCCAGCA GTGGAGCGGT CCGGGCACCA
  AGCACCACGA GCGCCACCAG CAGGGCTCCA CCGCGTCTGT CACCTCGCCA GCGCCGTGGT
-----
121  CCAAGCGCTT TCCCGAGACC GTCCTGGCGC GATGCGTCAA GTACACTGAA ATTATCCTTG
  GGTTCGCGAA AGGGCTCTGG CAGGACCGCG CTACGCAGTT CATGTGACTT TAAGTAGGAC
-----><-----
181  AGATGAGAAA CAGCTAAAAG AAGTGAGTTG GGCCAGGCAC TGTGGCTCAC ACCTGTAATC
  TCTACTCTTT GTCGATTTT CACTCAAC CCGGTCCGTG ACACCGAGTG TGGACATTAG
=====
241  CCAGCACTTT GGGAGGCCCA GGCAGGTGGA TCACTTAAGG TCAGGAGTAC AAGACCTGCC
  GGTCTGAGAA CCCTCCGGT CCGTCCACCT AGTGAATTCC AGTCTCATG TTCTGGACGG
=====
301  TGGCCAACAT GCTGAACTC CGTCTCTACT AAAAATACAA AATTAGCCGG GTGTTGTGGC
  ACCGTTTGTG CGACTTTGAG GCAGAGATGA TTTTATGTT TTAATCGGCC CACAACACCG
=====
361  GCGTGCCTGT AATCCAGCT ACTCTGGAGA CTGAGGTGGG AGAATCGCTT GAACCCAGGA
  CGCACGGACA TTAGGGTCGA TGAGACCTCT GACTCCACCC TCTTAGCGAA CTTGGGTCTT
=====
421  GGAGGAGGTA GCACTGAACC AAGATCCAGC CTGGCCAAGA GAGTAAGACT CCGTCTCAAA
  CCTCTCCAT CGTGACTTGG TTCTAGGTCT GACCGTTCT CTCATTCTGA GGCAGAGTTT
-----exonII-----><-----exonIII-----
481  ACCAAACCAA ACCAAACCAA AAAAAGAAAC ATGTAGACTG CCAAAGTGTG TGGGATGCTT
  TGGTTTGGTT TGGTTTGGTT TTTTCTTTG TACATCTGAC GGTTCACAT ACCCTACGAA
-----
541  TCAAGGGTGC ATTTATTTCA AAACATCCTT GCAACATTAC TGAAGAAGAC TATCAGCCAC
  AGTTCACACG TAAATAAAGT TTGTAGGAA CGTTGTAATG ACTTCTTCG ATAGTCGGTG
-----><-----
      M K L G T Q T V P C N K I L L W S R I K
601  TAATGAAGTT GGGAACTCAG ACCGTACCTT GCAACAAGAT TCTTCTTTGG AGCAGAATAA
  ATTACTTCAA CCCTTGAGTC TGGCATGGAA CGTTGTTCTA AGAAGAAACC TCGTCTTATT
-----exonIV-----
      D L A H Q F T Q V Q R D M F T L E D T L
661  AAGATCTGGC CCATCAGTTC ACACAGGTCC AGCGGGACAT GTTCACCTG GAGGACACGC
  TTCTAGACCG GGTAGTCAAG TGTGTCCAGG TCGCCCTGTA CAAGTGGGAC CTCCTGTGCG
-----><-----
      L G Y L A D D L T W C G E F N T S S E A
721  TGCTAGGCTA CCTTGCTGAT GACCTCACAT GGTGTGGTGA ATTCAACACT TCCAGTGAGG
  ACGATCCGAT GGAACGACTA CTGGAGTGTA CCACACCACT TAAGTTGTGA AGGTCACTCC
=====
      L G P V G L P R D V E G E Q S D F C W R
781  CTCTGGGCCC TGTGGGATG CCCAGGGATG TGGAGGGTGA ACAGAGTGAC TTCTGCTGGA
  GAGACCCGGG ACACCCTAAC GGTCCCTAC ACCTCCCACT TGTCTCACTG AAGACGACCT
=====
      P
841  GGCCCTGAAT GATTAGTGTG GAGGACAGAG CCACAGGCAC CCATCCTGAT GCCATCTATA
  CCGGGACTTA CTAATCACAC CTCCTGTCTC GGTGTCCGTG GGTAGGACTA CCGTAGATAT
=====
901  CTTATATTAG TCCATTTGTG TTGCTATTAA GGAATACCTG AGGCTGCGTA ATTTATAAAG
  GAATATAATC AGGTAAACAC AACGATAATT CTTATGGAC TCCGACGCAT TAAATATTTT
=====
961  AAAAGAGGTT TATTTGACTC ACAGTTACGC AGGCTGTACA AGAAGTAGGG TACCAGCATC
  TTTTCTCCAA ATAACTGAG TGTCAATGCG TCCGACATGT TCTTCATCCC ATGGTCGTAG
=====
1021  CACTTCGGGT GAAGGCCTGA GGCTGTTTCC ACTCATGGAG AAGGGGAAGG GGAGCTGGCA
  GTGAAGCCCA CTTCGGACT CCGACAAAGG TGAGTACCTC TTCCCCTTCC CCTCGACCGT
=====
1081  TTTACAGAGA TCACATGGTG AGGGAGGAAA GCAAGGAGAG GTCAGGGGAG GTGCCAGGCT
  AAATGTCTCT AGTGTACCAC TCCCTCCTT CGTTCCTCTC CAGTCCCCTC CACGGTCCGA
=====

```

Fig. 8-1

```

1141  GTTTGTAATG ACCAGCTGTC CTGGGAACTA GTAGAGTAAG AACTCATTAC TATAAGGACA
      CAAACATTAC TGGTCGACAG GACCCCTGAT CATCTCATTG TTGAGTAATG ATATTCTGT
      =====
1201  GCACCATGCC ATTCGTGCAG GATCATCCCT ATGACCCAAA CACCTCCTAC TAGTCCCAGAG
      CGTGGTACGG TAAGCACGTC CTAGTAGGGA TACTGGGTTT GTGGAGGATG ATCAGGGCTC
      =====
1261  CTCCAACACT GGGGGTCGAA TTTCAACATA AGGTTTGGAG AGTTAAATAT CCAAATATA
      GAGGTTGTGA CCCCCAGCTT AAAGTTGTAT TCCAAACCTC TCAATTTATA GGTTTGATAT
      =====
1321  GCACTACCCT TAATGGCAAC TCAGGCTGAT ATAAAGTAGC ATTCCCTGTT TCTTGAAAA
      CGTGATGGGA ATTACCGTTG AGTCCGACTA TATTTTCATG TAAGGGACAA AAGAACTTTT
      =====
1381  ATTGACTTCA GAGTTGGGGA TTGCCCATGC TCCCTAATTC CCTTCTTTTG AGTGCTCACA
      TAACTGAAGT CTCAACCCCT AACGGGTACG AGGGATTAAG GGAAGAAAAC TCACGAGTGT
      =====
1441  TAGCCTGCTT CCGAATTCTT GGTATTTTGC TCTCTGTAAG GTCATCATTG AGGTCCAAAG
      ATCGGACGAA GGCTTAAGAA CCATAAAACG AGAGACATTC CAGTAGTAAG TCCAGGTTTC
      -----
      =====
1501  AAGTCTAGAA CAGGATGAGG TCTCAGTGGG ACCTAGACCA AGGTTCTTGC TCTTCAGAAT
      TTCAGATCTT GTCCTACTCC AGAGTCACCC TGGATCTGGT TCCAAGAACG AGAAGTCTTA
      =====
1561  CATCACAGTA GCCATGGACT GGACTCTTCC ATCTCAGGCA CTGGCTTTGC CATCATTTTT
      GTAGTGTCAT CGGTACCTGA CCTGAGAAGG TAGAGTCCGT GACCGAAACG GTAGTAAAAA
      =====
1621  CAGATGTAGC CTTACCCTGC CCAGAAAGAC TCAACACCTC ACCAGGGGAA GGGATTTCTT
      GTCTACATCG GAATGGGACG GGTCTTTCTG AGTTGTGGAG TGGTCCCCTT CCCTAAAGGA
      =====
1681  ACAACCAAAA CCCTACTGCA GTTTTCACTT CTTTTTTTTT TCTTTTGTGTT TATATGGTGG
      TGTGTGTTTT GGGATGACGT CAAAAGTGAA GAAAAAAGAA AGAAAAACAA ATATACCACC
      =====
1741  ATATTTTTAC TTTATATAGT TTTATTCTTA TTTTACTGT TTTTCATTGT TTGTTTTTAA
      TATAAAATG AAATATATCA AAATAAGAAT AAAAATGACA AAAAGTAACA AACAAAAATT
      =====
1801  AAGCTTATCT TATTATAGCT TCTTTGTCCC AGGTTTGCAT TACTTTCAAT TACAAAAATA
      TTCCAATAGA ATAATATCGA AGAAACAGGG TCCAAACGTA ATGAAAGTTA ATGTTTTTAT
      =====>

1861  AAGCATGATT ATTTGAAAAA AAAAAAAAAA AAAACTCGAC
      TTCGTACTAA TAACTTTTTT TTTTTTTTTT TTTTGAGCTG

```

FIG.8-2

El marco de lectura abierto más largo de CD38JL (partiendo de la primera MET) se tradujo en el panel de secuencias de ADNc de la variante de procesamiento de CD38 mostrada (las posiciones de los exones incluyendo el límite se encuentran señaladas; las secuencias diferentes de CD38 se encuentran subrayadas con el símbolo "=").