



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 348 971**

(51) Int. Cl.:
C12N 15/12 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **99905532 .0**

(96) Fecha de presentación : **28.01.1999**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1051491**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **15.11.2000**

(54) Título: **Moléculas de ácido nucleico de la cadena α del receptor FC ϵ equino, proteínas correspondientes y usos de las mismas.**

(30) Prioridad: **29.01.1998 US 15734**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
17.12.2010

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
17.12.2010

(73) Titular/es: **HESKA CORPORATION**
3760 Rocky Mountain Avenue
Loveland, Colorado 80538, US

(72) Inventor/es: **McCall, Catherine, A. y**
Weber, Eric, R.

(74) Agente: **Arias Sanz, Juan**

ES 2 348 971 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

**MOLÉCULAS DE ÁCIDO NUCLEICO DE LA CADENA ALFA DEL RECEPTOR Fc
ÉPSILON EQUINO, PROTEÍNAS CORRESPONDIENTES Y USOS DE LAS MISMAS**

5 **DESCRIPCION**

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a moléculas de ácido nucleico de la cadena alfa del receptor Fc épsilon equino, a proteínas codificadas por tales moléculas de ácido nucleico, a anticuerpos producidos contra tales proteínas y a inhibidores de tales proteínas. La presente invención también se refiere a métodos para detectar IgE usando tales proteínas y anticuerpos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El diagnóstico de una enfermedad y la determinación de la eficacia del tratamiento son herramientas importantes en medicina. La producción de anticuerpos IgE en un animal puede ser indicativa de enfermedad incluyendo, por ejemplo, alergia, enfermedad atópica, síndrome de hiper IgE, infecciones parasitarias internas y neoplasia de células B. Además, la detección de la producción de IgE en un animal tras un tratamiento es indicativa de la eficacia del tratamiento, tal como cuando se usan tratamientos destinados a alterar la producción de IgE.

La estimulación inmunológica puede estar mediada por anticuerpos IgE cuando la IgE se compleja con receptores Fc épsilon. Los receptores Fc épsilon se encuentran en la superficie de ciertos tipos de células, tales como mastocitos. Los mastocitos almacenan mediadores biológicos incluyendo histamina, prostaglandinas y proteasas. La liberación de estos mediadores biológicos se desencadena cuando los anticuerpos IgE se complejan con los receptores Fc épsilon en la superficie de una célula. Se producen síntomas clínicos de la liberación de los mediadores biológicos en el tejido de un animal.

El descubrimiento de la presente invención incluye una proteína de cadena alfa del receptor Fc épsilon equino (Fc_εR) novedosa y el uso de una proteína de este tipo para detectar la

presencia de IgE en una composición que contiene la supuesta IgE; para identificar inhibidores de respuestas biológicas mediadas por una proteína Fc_εR equina; y como compuesto terapéutico para prevenir o tratar síntomas clínicos que resultan de las respuestas biológicas mediadas por Fc_εR equino.

Investigadores anteriores han dado a conocer la secuencia de ácido nucleico para: la cadena alfa de Fc_εR humano (Kochan *et al.*, *Nucleic Acids Res.* 16: 3584, 1988; Shimizu *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 1907-1911, 1988; y Pang *et al.*, *J. Immunol.* 151: 6166-6174, 1993); la cadena beta de Fc_εR humano (Kuster *et al.*, *J. Biol. Chem.* 267: 12782-12787, 1992); la cadena gamma de Fc_εR humano (Kuster *et al.*, *J. Biol. Chem.* 265: 6448-6452, 1990); y la cadena alfa de Fc_εR canino (número de registro de GenBank™ D16413). Aunque ya en 1988 se conocían las subunidades de Fc_εR humano, nunca se han usado para identificar un Fc_εR equino. De manera similar, aunque se conoce la cadena de Fc_εR canino desde 1993, nunca se ha usado para identificar un Fc_εR equino. Además, la determinación de las secuencias del receptor Fc épsilon humano y canino no indica, sugiere o prevé la clonación de un gen de Fc_εR novedoso de una especie diferente, en particular, de una especie equina. Investigadores anteriores han encontrado un bajo grado de similitud entre Fc_εRα de rata, ratón y humano (Ravtech *et al.*, *Ann. Rev. Immunol.* vol. 9, págs. 457-492, 1991). Por tanto, dado este bajo grado de similitud de secuencias, parecería sólo "obvio tratar" de obtener una proteína y molécula de ácido nucleico de Fc_εRα equino.

La publicación de solicitud de patente internacional WO 89/05352 pretende dar a conocer una secuencia de ADNc que codifica para la subunidad α del receptor de superficie de IgE de mastocitos humanos. Esta solicitud se refiere además a publicaciones anteriores dentro de esta área (Metzger *et al.*, 1986, *Ann. Rev. Immunol.* 4:419; Ishizaka *et al.*, 1977, *J. Immunol.* 199:1589; Isersky *et al.*, 1978, *J. Immunol.* 121:549;

Froese, 1984, Prog. Allergy 34:142; Lewis y Austen, 1981, Nature 293:103).

Por tanto, se necesitan en la técnica los productos y procedimientos de la presente invención que proporcionarán la
5 detección específica de IgE, en particular de IgE equina, y el tratamiento de la enfermedad mediada por el receptor Fc épsilon.

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un producto y a un
10 procedimiento novedosos para detectar IgE y a una composición terapéutica para proteger animales de respuestas biológicas mediadas por el receptor Fc épsilon. Según la presente invención se proporcionan proteínas Fc_εR equinas y mimotopos de las mismas; moléculas de ácido nucleico de Fc_εR equino, incluyendo
15 las que codifican para tales proteínas; anticuerpos producidos contra tales proteínas Fc_εR equinas (es decir, anticuerpos anti-Fc_εR equino); y otros compuestos que inhiben la capacidad de la proteína Fc_εR equina para formar un complejo con IgE (es decir, compuestos inhibitorios o inhibidores).

20 La presente invención también se refiere a métodos para obtener tales proteínas, mimotopos, moléculas de ácido nucleico, anticuerpos y compuestos inhibitorios. La presente invención también se refiere a composiciones terapéuticas que comprenden tales proteínas, mimotopos, moléculas de ácido nucleico,
25 anticuerpos y/o compuestos inhibitorios, así como al uso de tales composiciones terapéuticas con respecto a las respuestas biológicas mediadas por el receptor Fc épsilon.

Una realización de la presente invención es una molécula de ácido nucleico aislada que codifica para una proteína Fc_εR
30 equina. La proteína Fc_εR equina preferiblemente incluye: proteínas que comprenden las secuencias de aminoácidos SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 12; y proteínas codificadas por variantes alélicas de las moléculas de ácido nucleico que codifican para una proteína que comprende cualquiera de las
35 secuencias de aminoácidos. Las moléculas de ácido nucleico de

Fc_εR equino particularmente preferidas incluyen: moléculas de ácido nucleico que comprenden las secuencias de ácido nucleico SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NO: 11 y moléculas de ácido nucleico que comprenden variantes alélicas de las moléculas de ácido nucleico que comprenden las secuencias de ácido nucleico SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NO: 11.

La presente invención también incluye una proteína Fc_εR equina aislada. Una proteína Fc_εR equina preferida está codificada por una molécula de ácido nucleico que hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con una secuencia de ácido nucleico incluyendo SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 8. Las proteínas Fc_εR equina particularmente preferidas incluyen al menos una de las siguientes secuencias de aminoácidos: SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 12.

La presente invención también se refiere a moléculas recombinantes, virus recombinantes y células recombinantes que incluyen moléculas de ácido nucleico de Fc_εR equino de la presente invención. También se refiere a métodos para producir tales moléculas de ácido nucleico, moléculas recombinantes, virus recombinantes y células recombinantes.

La presente invención también incluye métodos de detección y kits que detectan IgE. Una realización de la presente invención es un método para detectar IgE que comprende: (a) poner en contacto una molécula de Fc_εR equino aislada con una composición que contiene la supuesta IgE en condiciones adecuadas para la formación de un complejo de molécula de Fc_εR:IgE; y (b) determinar la presencia de IgE detectando el complejo de molécula de Fc_εR:IgE, indicando la presencia del complejo de molécula de Fc_εR:IgE la presencia de IgE. Una molécula de Fc_εR equino preferida es una en la que un grupo de hidrato de carbono de la molécula de Fc_εR equino está conjugado con biotina.

La presente invención también incluye un kit para realizar los métodos de la presente invención. Una realización es un kit para detectar IgE que comprende una proteína Fc_εR equina y un medio para detectar IgE.

5 También se incluye un método para identificar un compuesto que interfiere con la formación de un complejo entre la proteína Fc_εR equina y la IgE, comprendiendo el método: (a) poner en contacto una proteína Fc_εR equina aislada con un supuesto compuesto inhibidor en condiciones en las que, en ausencia del
10 compuesto, la proteína Fc_εR equina forma un complejo con la IgE; y (b) determinar si el supuesto compuesto inhibidor inhibe la formación del complejo. También se incluye un kit de prueba para identificar un compuesto que puede interferir con la formación de un complejo entre una proteína Fc_εR equina y la IgE,
15 comprendiendo el kit de prueba una proteína Fc_εR equina aislada que puede complejarse con la IgE y un medio para determinar la magnitud de la interferencia de la formación del complejo en presencia de un supuesto compuesto inhibidor.

Todavía otra realización de la presente invención es una
20 composición terapéutica que puede reducir las respuestas biológicas mediadas por el receptor Fc épsilon. Una composición terapéutica de este tipo incluye uno o más de los siguientes compuestos terapéuticos: una proteína Fc_εR equina aislada; un mimotopo de una proteína Fc_εR equina; una molécula de ácido
25 nucleico aislada que hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con un gen de Fc_εR equino; y un anticuerpo aislado que se une selectivamente a una proteína Fc_εR equina.

Todavía otra realización de la presente invención es un
30 método para producir una proteína Fc_εR equina, comprendiendo el método poner en cultivo una célula transformada con una molécula de ácido nucleico que codifica para una proteína Fc_εR equina.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención proporciona proteínas de cadena alfa
35 del receptor Fc épsilon equino (Fc_εRα) aisladas y moléculas de

ácido nucleico de Fc_εRα equino aisladas. Tal como se usa en el presente documento, las expresiones proteínas Fc_εRα equinas aisladas y moléculas de ácido nucleico de Fc_εRα equino aisladas se refiere a proteínas Fc_εRα y a moléculas de ácido nucleico de Fc_εRα que derivadas de caballos y, como tal, pueden obtenerse a partir de su fuente natural o pueden producirse usando, por ejemplo, tecnología de ácido nucleico recombinante o síntesis química. También se incluye en la presente invención el uso de estas proteínas y anticuerpos en un método para detectar inmunoglobulina épsilon (denominada en el presente documento IgE o anticuerpos IgE) así como en otras aplicaciones, tales como las dadas a conocer más adelante. Los productos y procedimientos de la presente invención son ventajosos porque permiten la detección de IgE y la inhibición de la actividad de la proteína Fc_εRα equina o IgE asociada con una enfermedad. Tal como se usa en el presente documento, la proteína de receptor de cadena alfa de Fc épsilon equino puede denominarse proteína Fc_εRα o proteína de cadena alfa de Fc_εR.

Una realización de la presente invención es una proteína aislada que comprende una proteína Fc_εRα equina. Debe observarse que la expresión "un" o "una" entidad se refiere a una o más de esa entidad; por ejemplo, una proteína se refiere a una o más proteínas o al menos a una proteína. Como tal, las expresiones "un" (o "una"), "una o más" y "al menos una" pueden usarse de manera intercambiable en el presente documento. También debe observarse que los términos "que comprende", "que incluye" y "que tiene" pueden usarse de manera intercambiable. Además, un compuesto "seleccionado del grupo que consiste en" se refiere a uno o más de los compuestos en la lista que sigue, incluyendo mezclas (es decir, combinaciones) de dos o más de los compuestos. Según la presente invención, una proteína aislada, o biológicamente pura, es una proteína que se ha retirado de su medio natural. Como tal, "aislada" y "biológicamente pura" no reflejan necesariamente el grado en que se ha purificado la proteína. Una proteína aislada de la presente invención puede

obtenerse a partir de su fuente natural, puede producirse usando tecnología de ADN recombinante o puede producirse mediante síntesis química.

5 Tal como se usa en el presente documento, una proteína Fc_εRα equina aislada puede ser una proteína de longitud completa o cualquier homólogo de una proteína de este tipo. Tal como se usa en el presente documento, una proteína puede ser un polipéptido o un péptido. Preferiblemente, una proteína Fc_εRα equina comprende al menos una parte de una proteína Fc_εRα equina
10 que se une a IgE, es decir, que puede formar un complejo con una IgE.

Una proteína Fc_εRα equina de la presente invención, incluyendo un homólogo, puede identificarse de manera sencilla mediante la capacidad de la proteína de unirse a IgE. Los
15 ejemplos de homólogos de proteína Fc_εRα equina incluyen proteínas Fc_εRα equinas en las que se han delecionado (por ejemplo, una versión truncada de la proteína, tal como un péptido), insertado, invertido, sustituido y/o derivatizado (por ejemplo, mediante glicosilación, fosforilación, acetilación,
20 miristoilación, prenilación, palmitoilación, amidación y/o adición de glicerofosfatidil inositol) aminoácidos de manera que el homólogo puede unirse a IgE.

Los homólogos de proteína Fc_εRα equina pueden ser el resultado de una variación alélica natural o mutación natural.
25 Los homólogos de proteína Fc_εRα equina de la presente invención también pueden producirse usando técnicas conocidas en la técnica incluyendo, pero sin limitarse a, modificaciones directas con respecto a la proteína o modificaciones con respecto al gen que codifica para la proteína usando, por
30 ejemplo, técnicas de ácido nucleico recombinante o clásicas para efectuar mutagénesis dirigida o aleatoria.

Las proteínas Fc_εRα equinas aisladas de la presente invención tienen la característica adicional de que están codificada por moléculas de ácido nucleico que hibridan en
35 condiciones de hibridación rigurosas con un gen que codifica

para una proteína Fc ϵ R α equina. Tal como se usa en el presente documento, las condiciones de hibridación rigurosas se refieren a condiciones de hibridación convencionales en las que moléculas de ácido nucleico, incluyendo oligonucleótidos, se usan para
5 identificar moléculas de ácido nucleico similares. Tales condiciones convencionales se dan a conocer, por ejemplo, en Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Labs Press, 1989. Las condiciones de hibridación rigurosas permiten normalmente el aislamiento de moléculas de
10 ácido nucleico que tienen una identidad de secuencia de ácido nucleico de al menos aproximadamente el 70% con la molécula de ácido nucleico que se usa para sondear en la reacción de hibridación. Las fórmulas para calcular las condiciones de lavado e hibridación apropiadas para conseguir una hibridación
15 que permita un apareamiento erróneo del 30% o menos de nucleótidos se dan a conocer, por ejemplo, en Meinkoth *et al.*, 1984, *Anal. Biochem.* 138,267-284.

Tal como se usa en el presente documento, un gen de Fc ϵ R α equino incluye todas las secuencias de ácido nucleico relacionadas con un gen de Fc ϵ R α equino natural tales como
20 regiones reguladoras que controlan la producción de la proteína Fc ϵ R α equina codificada por ese gen (tal como, pero sin limitarse a, regiones de control de la transcripción, traducción o postraducción) así como la propia región codificante. En una
25 realización, un gen de Fc ϵ R α equino de la presente invención incluye la secuencia de ácido nucleico SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8 y/o SEQ ID NO: 11. La secuencia de ácido nucleico SEQ ID NO: 1 representa la secuencia deducida de la cadena codificante de una
30 molécula de ácido nucleico de ADN complementario (ADNc) indicado en el presente documento como neqFc ϵ R α ₁₀₁₅, cuya producción se da a conocer en los ejemplos. El complemento de SEQ ID NO: 1 (representado en el presente documento mediante SEQ ID NO: 3) se refiere a la secuencia de ácido nucleico de la cadena
35 complementaria a la cadena que tiene SEQ ID NO: 1, que los

expertos en la técnica pueden determinar fácilmente. Asimismo, un complemento de secuencia de ácido nucleico de cualquier secuencia de ácido nucleico de la presente invención se refiere a la secuencia de ácido nucleico de la cadena de ácido nucleico que es complementaria a (es decir, puede formar una hélice doble completa con) la cadena para la que se cita la secuencia.

Debe observarse que dado que la tecnología de secuenciación de ácidos nucleicos no está completamente libre de error, SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 3 (así como otras secuencias de proteína y ácido nucleico presentadas en el presente documento) representan secuencias de ácido nucleico aparentes de ciertas moléculas de ácido nucleico que codifican para las proteínas Fc ϵ R α equinas de la presente invención.

En otra realización, un gen de Fc ϵ R α equino puede ser una variante alélica que incluye una secuencia similar pero no idéntica a SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8 y/o SEQ ID NO: 11. Una variante alélica de un gen de Fc ϵ R α equino es un gen que se produce en esencialmente el mismo locus (o loci) en el genoma que el gen que incluye SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8 y/o SEQ ID NO: 11, pero que, debido a variaciones naturales provocadas por, por ejemplo, mutación o recombinación, tiene una secuencia similar pero no idéntica. Las variantes alélicas normalmente codifican para proteínas que tienen actividad similar a la de la proteína codificada por el gen al que están comparándose. Las variantes alélicas también pueden comprender alteraciones en las regiones no traducidas en 3' o 5' del gen (por ejemplo, en regiones de control reguladoras). Los expertos en la técnica conocen bien las variantes alélicas y se esperaría que se encuentren dentro de un caballo dado puesto que el genoma es diploide y/o entre un grupo de dos o más caballos. La presente invención también incluye variantes debido a manipulación en laboratorio, tal como, pero sin limitarse a, variantes producidas durante una amplificación por reacción en cadena de la polimerasa.

El tamaño mínimo de un homólogo de proteína $Fc\epsilon R\alpha$ de la presente invención es un tamaño suficiente para codificarse por una molécula de ácido nucleico que puede formar un híbrido estable (es decir, hibridar en condiciones de hibridación rigurosas) con la secuencia complementaria de una molécula de ácido nucleico que codifica para la proteína natural correspondiente. Como tal, el tamaño de la molécula de ácido nucleico que codifica para un homólogo de proteína de este tipo depende de la composición de ácido nucleico y el porcentaje de homología entre la molécula de ácido nucleico y la secuencia complementaria. También debe observarse que la magnitud de la homología requerida para formar un híbrido estable puede variar dependiendo de si las secuencias homólogas están intercaladas en todas las moléculas de ácido nucleico o están agrupadas (es decir, ubicadas) en regiones diferenciadas en las moléculas de ácido nucleico. El tamaño mínimo de tales moléculas de ácido nucleico es normalmente al menos de aproximadamente 12 a aproximadamente 15 nucleótidos de longitud si las moléculas de ácido nucleico son ricas en GC y al menos de aproximadamente 15 a aproximadamente 17 bases de longitud si son ricas en AT. Como tal, el tamaño mínimo de una molécula de ácido nucleico usada para codificar para un homólogo de proteína $Fc\epsilon R\alpha$ equina de la presente invención es desde aproximadamente 12 hasta aproximadamente 18 nucleótidos de longitud. Por tanto, el tamaño mínimo de un homólogo de proteína $Fc\epsilon R\alpha$ equina de la presente invención es desde aproximadamente 4 hasta aproximadamente 6 aminoácidos de longitud. No existe ningún límite, diferente de un límite práctico, en el tamaño máximo de una molécula de ácido nucleico de este tipo porque la molécula de ácido nucleico puede incluir una parte de un gen, un gen completo, múltiples genes, o partes de los mismos. El tamaño preferido de una proteína codificada por una molécula de ácido nucleico de la presente invención depende de si se desea una proteína de este tipo de longitud completa, fusión, multivalente o una parte funcional. Preferiblemente, el tamaño preferido de una proteína codificada por una molécula de ácido nucleico de la presente invención es

una parte de la proteína que se une a IgE que tiene una longitud de aproximadamente 30 aminoácidos, más preferiblemente de aproximadamente 35 aminoácidos e incluso más preferiblemente de aproximadamente 44 aminoácidos.

5 Tal como se usa en el presente documento, un equino se refiere a cualquier miembro de la familia de los caballos. Los ejemplos de caballos a partir de los cuales aislar proteínas $Fc_\epsilon R\alpha$ equinas de la presente invención (incluyendo el aislamiento de la proteína natural o la producción de la

10 proteína mediante técnicas sintéticas o recombinantes) incluyen, pero no se limitan a caballos domésticos y caballos salvajes, prefiriéndose más los caballos domésticos, incluyendo caballos de carreras.

Las células de caballo adecuadas a partir de las cuales

15 aislar una proteína $Fc_\epsilon R\alpha$ equina de la presente invención incluyen células que tienen proteínas $Fc_\epsilon R\alpha$. Las células de caballo preferidas a partir de las cuales obtener una proteína $Fc_\epsilon R\alpha$ equina de la presente invención incluyen células basófilas, mastocitos, células de mastocitoma, células

20 dendríticas, linfocitos B, macrófagos, eosinófilos y/o monocitos. Un $Fc_\epsilon R\alpha$ equino de la presente invención se obtiene preferiblemente a partir de células de mastocitoma, mastocitos o células basófilas.

La presente invención también se refiere a mimotopos de

25 proteínas $Fc_\epsilon R\alpha$ equinas de la presente invención. Tal como se usa en el presente documento, un mimotopo de una proteína $Fc_\epsilon R\alpha$ equina de la presente invención se refiere a cualquier compuesto que puede imitar la actividad de una proteína $Fc_\epsilon R\alpha$ equina de este tipo (por ejemplo, capacidad de unirse a IgE), a menudo

30 debido a que el mimotopo tiene una estructura que imita a la proteína $Fc_\epsilon R\alpha$ equina. Sin embargo, debe observarse que el mimotopo no necesita tener una estructura similar a una proteína $Fc_\epsilon R\alpha$ equina siempre que el mimotopo imite funcionalmente a la proteína. Los mimotopos pueden ser, pero no se limitan a:

35 péptidos que se han modificado para disminuir su susceptibilidad

a la degradación; anticuerpos anti-idiotípicos y/o catalíticos, o fragmentos de los mismos; partes inmunogénicas no proteicas de una proteína aislada (por ejemplo, estructuras de hidrato de carbono); moléculas orgánicas o inorgánicas sintéticas o naturales, incluyendo ácidos nucleicos; y/o cualquier otro compuesto peptidomimético. Pueden diseñarse los mimotopos de la presente invención usando estructuras generadas por ordenador de las proteínas Fc_εRα equinas de la presente invención. También pueden obtenerse los mimotopos generando muestras aleatorias de moléculas, tales como oligonucleótidos, péptidos u otras moléculas orgánicas, y seleccionando tales muestras mediante técnicas de cromatografía de afinidad usando el componente de unión correspondiente (por ejemplo, un dominio Fc de IgE equina o un anticuerpo anti-Fc_εRα equino). También puede obtenerse un mimotopo mediante, por ejemplo, un diseño racional de fármacos. En un procedimiento de diseño racional de fármacos, puede analizarse la estructura tridimensional de un compuesto de la presente invención mediante, por ejemplo, resonancia magnética nuclear (RMN) o cristalografía de rayos X. Entonces puede usarse la estructura tridimensional para predecir estructuras de mimotopos potenciales mediante, por ejemplo, modelado por ordenador. Pueden producirse las estructuras de mimotopo previstas mediante, por ejemplo, síntesis química, tecnología de ADN recombinante, o aislando un mimotopo a partir de una fuente natural. Los ejemplos específicos de mimotopos de Fc_εRα equino incluyen anticuerpos anti-idiotípicos, oligonucleótidos producidos usando tecnología SelexTM, péptidos identificados mediante selección aleatoria de bibliotecas de péptidos y proteínas identificadas mediante tecnología de presentación en fagos. Un mimotopo preferido es un compuesto peptidomimético que es estructural y/o funcionalmente similar a una proteína Fc_εRα equina de la presente invención, particularmente al sitio de unión del dominio Fc de IgE de la proteína Fc_εRα equina. Tal como se usa en el presente documento, el dominio Fc de un anticuerpo se refiere a la parte de una inmunoglobulina que tiene función efectora de unión al receptor Fc. Normalmente, el

dominio Fc de una IgE comprende los dominios CH2 y CH3 de la región constante de cadena pesada.

Según la presente invención, una molécula de Fc ϵ R α equino de la presente invención se refiere a: una proteína Fc ϵ R α equina, en particular una proteína Fc ϵ R α equina soluble; un
5 homólogo de Fc ϵ R α equino; un mimotopo de Fc ϵ R α equino; un análogo de sustrato de Fc ϵ R α equino; o un péptido de Fc ϵ R α equino. Preferiblemente, una molécula de Fc ϵ R α equino se une a IgE.

Una proteína Fc ϵ R α equina preferida de la presente
10 invención está codificada por una molécula de ácido nucleico que hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con al menos una de las siguientes moléculas de ácido nucleico: neqFc ϵ R α ₁₀₁₅, neqFc ϵ R α ₇₆₅, neqFc ϵ R α ₇₀₈ y neqFc ϵ R α ₆₀₃. Preferiblemente, la proteína Fc ϵ R α equina se une a IgE. Una proteína aislada preferida
15 adicional está codificada por una molécula de ácido nucleico que hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con una molécula de ácido nucleico que tiene la secuencia de ácido nucleico SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 8.

La traducción de SEQ ID NO: 1 sugiere que la molécula de
20 ácido nucleico neqFc ϵ R α ₁₀₁₅ codifica para una proteína equina de longitud completa de aproximadamente 255 aminoácidos, denominada en el presente documento PequFc ϵ R α ₂₅₅, representada mediante la SEQ ID NO: 2, suponiendo un marco de lectura abierto que tiene un codón de iniciación (partida) que abarca desde el nucleótido
25 12 hasta el nucleótido 14 de la SEQ ID NO: 1 y un codón de terminación (fin) que abarca desde el nucleótido 777 hasta el nucleótido 779 de SEQ ID NO: 1. La región codificante que codifica para PequFc ϵ R α ₂₆₃ se representa mediante la molécula de ácido nucleico neqFc ϵ R α ₇₆₅, que tiene una cadena codificante con
30 la secuencia de ácido nucleico representada mediante SEQ ID NO: 4 y una cadena complementaria con la secuencia de ácido nucleico representada mediante SEQ ID NO: 5. El análisis de SEQ ID NO: 2 sugiere la presencia de un péptido señal codificado por un tramo de aminoácidos que abarca desde el aminoácido 1 hasta el

aminoácido 19. La proteína madura propuesta, indicada en el presente documento como $\text{PequFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{236}$, contiene aproximadamente 236 aminoácidos que se representa en el presente documento como SEQ ID NO: 7. $\text{PequFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{236}$ está codificada por la molécula de ácido nucleico $\text{negFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{708}$, que tiene una cadena codificante con la secuencia de ácido nucleico representada mediante SEQ ID NO: 6 y una cadena complementaria con la secuencia de ácido nucleico representada mediante SEQ ID NO: 8. La secuencia de aminoácidos de $\text{PequFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{236}$ (es decir SEQ ID NO: 7) prevé que $\text{PequFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{236}$ tiene un peso molecular estimado de aproximadamente 27,3 kD, un pI estimado de aproximadamente 9,77.

La comparación de la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 2 (es decir, la secuencia de aminoácidos de $\text{PequFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{255}$) con las secuencias de aminoácidos notificadas en GenBank™ indica que SEQ ID NO: 2 mostraba la homología más alta, es decir, una identidad de aproximadamente el 61%, con una subunidad α de receptor de IgE de alta afinidad humano (número de registro de SwissProt P12319).

Las proteínas $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equinas más preferidas en relación a la presente invención incluyen proteínas que comprenden secuencias de aminoácidos que son al menos aproximadamente el 65%, preferiblemente al menos aproximadamente el 70%, más preferiblemente al menos aproximadamente el 75%, más preferiblemente al menos aproximadamente el 80%, más preferiblemente al menos aproximadamente el 85%, más preferiblemente al menos aproximadamente el 90% e incluso más preferiblemente aproximadamente el 95% idénticas a la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 y/o SEQ ID NO: 12. Puede realizarse el análisis de secuencias de aminoácidos usando o bien el programa DNAsis™ (disponible de Hitachi Software, San Bruno, CA) o el programa MacVector™ (disponible de la Eastman Kodak Company, New Haven, CT), preferiblemente usando parámetros de rigurosidad implícitos.

Las proteínas $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equinas más preferidas de la presente invención incluyen proteínas codificadas por una molécula de

ácido nucleico que comprende al menos una parte de $\text{neqFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{1015}$, $\text{neqFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{765}$, $\text{neqFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{708}$ y/o $\text{neqFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{603}$, o de variantes alélicas de tales moléculas de ácido nucleico, pudiendo la parte unirse a IgE. Se prefiere más una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina codificada por

5 $\text{neqFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{1015}$, $\text{neqFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{765}$, $\text{neqFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{708}$ y/o $\text{neqFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{603}$, o por una variante alélica de tales moléculas de ácido nucleico. Las proteínas $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equinas particularmente preferidas son $\text{PequFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{255}$, $\text{PequFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{236}$ y $\text{PequFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{201}$.

En una realización, una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina preferida de

10 la presente invención está codificada por al menos una parte de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6 y/o SEQ ID NO: 11, y, como tal, tiene un secuencia de aminoácidos que incluye al menos una parte de SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 y/o SEQ ID NO: 12.

También se prefiere una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina codificada

15 por una variante alélica de una molécula de ácido nucleico que comprende al menos una parte de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6 y/o SEQ ID NO: 11. Las proteínas $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equinas particularmente preferidas de la presente invención incluyen SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 12 (incluyendo, pero sin

20 limitarse a, las proteínas que consisten en tales secuencias, proteínas de fusión y proteínas multivalentes) y proteínas codificadas por variantes alélicas de las moléculas de ácido nucleico que codifican para SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 12.

Otra realización de la presente invención es una molécula

25 de ácido nucleico aislada que hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con un gen de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino. Hasta ahora se han descrito las características de identificación de un gen de este tipo. Una molécula de ácido nucleico de la presente

30 invención puede incluir un gen de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino natural aislado o un homólogo del mismo, el segundo de los cuales se describe con más detalle a continuación. Una molécula de ácido nucleico de la presente invención puede incluir una o más regiones reguladoras, regiones codificantes parciales o de longitud completa, o

35 combinaciones de las mismas. El tamaño mínimo de una molécula de

ácido nucleico de la presente invención es el tamaño mínimo que puede formar un híbrido estable con un gen de Fc_εRα equino en condiciones de hibridación rigurosas.

Según la presente invención, una molécula de ácido nucleico
5 aislada es una molécula de ácido nucleico que se ha retirado de su medio natural (es decir, que se ha sometido a manipulación humana) y puede incluir ADN, ARN, o derivados de o bien ADN o bien ARN. Como tal, "aislada" no refleja la magnitud en la que se ha purificado la molécula de ácido nucleico. Puede aislarse
10 una molécula de ácido nucleico de Fc_εRα equino aislada de la presente invención de su fuente natural o puede producirse usando tecnología de ADN recombinante (por ejemplo, clonación, amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)) o síntesis química. Las moléculas de ácido nucleico de Fc_εRα
15 equino aisladas pueden incluir, por ejemplo, variantes alélicas naturales y moléculas de ácido nucleico modificadas por inserciones, deleciones, sustituciones y/o inversiones de nucleótidos de manera tal que las modificaciones no interfieran sustancialmente con la capacidad de la molécula de ácido
20 nucleico de codificar para una proteína Fc_εRα equina de la presente invención o de formar híbridos estables en condiciones rigurosas con aislados de genes naturales.

Un homólogo de molécula de ácido nucleico de Fc_εRα equino puede producirse usando varios métodos conocidos por los
25 expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Sambrook *et al.*, *ibid.*). Por ejemplo, pueden modificarse moléculas de ácido nucleico usando una variedad de técnicas incluyendo, pero sin limitarse a, técnicas de ADN recombinante y mutagénesis clásica (por ejemplo, mutagénesis dirigida al sitio, tratamiento
30 químico, escisión con enzimas de restricción, ligación de fragmentos de ácido nucleico y/o amplificación por PCR), síntesis de mezclas de oligonucleótidos y ligación de grupos de mezclas para "construir" una mezcla de moléculas de ácido nucleico y combinaciones de las mismas. Pueden seleccionarse
35 homólogos de moléculas de ácido nucleico mediante hibridación

con un gen de Fc ϵ R α equino o mediante detección de una función de una proteína codificada por la molécula de ácido nucleico (por ejemplo, capacidad de una proteína Fc ϵ R α equina para unirse a IgE equina).

5 Una molécula de ácido nucleico aislada de la presente invención puede incluir una secuencia de ácido nucleico que codifica para al menos una proteína Fc ϵ R α equina de la presente invención, dándose a conocer ejemplos de tales proteínas en el presente documento. Aunque la expresión "molécula de ácido
10 nucleico" se refiere principalmente a la molécula de ácido nucleico física y la expresión "secuencia de ácido nucleico" se refiere principalmente a la secuencia de nucleótidos en la molécula de ácido nucleico, pueden usarse las dos expresiones de manera intercambiable, especialmente con respecto a una molécula
15 de ácido nucleico, o a una secuencia de ácido nucleico, que puede codificar para una proteína Fc ϵ R α equina.

 Una realización de la presente invención es una molécula de ácido nucleico de Fc ϵ R α equino que hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con la molécula de ácido nucleico
20 neqFc ϵ R α ₁₀₁₅ y preferiblemente con una molécula de ácido nucleico que tiene la secuencia de ácido nucleico SEQ ID NO: 1 y/o SEQ ID NO: 3.

 La comparación de la secuencia de ácido nucleico SEQ ID NO: 1 (es decir, la secuencia de ácido nucleico de la cadena
25 codificante de neqFc ϵ R α ₁₀₁₅) con las secuencias de ácido nucleico notificadas en GenBank indica que SEQ ID NO: 1 mostraba la homología más alta, es decir, una identidad de aproximadamente el 75% con respecto a un ARNm humano para el gen de la cadena alfa del receptor de inmunoglobulina E (número de registro
30 X06948).

 Las moléculas de ácido nucleico de Fc ϵ R α equino preferidas relativas a la presente invención incluyen moléculas de ácido nucleico que tienen una secuencia de ácido nucleico que es al menos aproximadamente el 80%, preferiblemente al menos
35 aproximadamente el 85%, más preferiblemente al menos

aproximadamente el 90%, e incluso más preferiblemente al menos aproximadamente el 95% idéntica a la secuencia de ácido nucleico SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8 y/o SEQ ID NO: 11. Puede realizarse el análisis de secuencia de ADN usando o bien el programa DNAsis™ o bien el programa MacVector™, preferiblemente usando parámetros de rigurosidad implícitos.

Otra molécula de ácido nucleico preferida de la presente invención incluye al menos una parte de la secuencia de ácido nucleico SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8 y/o SEQ ID NO: 11, que puede hibridar con un gen de Fc ϵ R α equino de la presente invención, así como variantes alélicas de la misma. Una molécula de ácido nucleico más preferida incluye la secuencia de ácido nucleico SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8 y/o SEQ ID NO: 11, así como variantes alélicas de una molécula de ácido nucleico de este tipo. Tales moléculas de ácido nucleico pueden incluir nucleótidos además de los incluidos en las SEQ ID NO, tales como, pero sin limitarse a, un gen de longitud completa, una región codificante de longitud completa, una molécula de ácido nucleico que codifica para una proteína de fusión, o una molécula de ácido nucleico que codifica para un compuesto protector multivalente.

Las moléculas de ácido nucleico de Fc ϵ R α equino preferidas relativas a la presente invención también incluyen moléculas de ácido nucleico que tienen una secuencia de ácido nucleico que es al menos aproximadamente el 80%, preferiblemente al menos aproximadamente el 85%, más preferiblemente al menos aproximadamente el 90%, e incluso más preferiblemente al menos aproximadamente el 95% idéntica a las moléculas de ácido nucleico neqFc ϵ R α ₁₀₁₅, neqFc ϵ R α ₇₆₅, neqFc ϵ R α ₇₀₈ y/o neqFc ϵ R α ₆₀₃. Las moléculas de ácido nucleico particularmente preferidas incluyen neqFc ϵ R α ₁₀₁₅, neqFc ϵ R α ₇₆₅, neqFc ϵ R α ₇₀₈ y neqFc ϵ R α ₆₀₃.

La presente invención también incluye una molécula de ácido nucleico que codifica para una proteína que tiene al menos una parte de SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 12, incluyendo

moléculas de ácido nucleico que se han modificado para adaptarse a las propiedades de uso de codones de las células en las que deben expresarse tales moléculas de ácido nucleico.

El conocer las secuencias de ácido nucleico de ciertas

5 moléculas de ácido nucleico de Fc ϵ R α equino de la presente invención permite que un experto en la técnica, por ejemplo, (a) prepare copias de esas moléculas de ácido nucleico, (b) obtenga moléculas de ácido nucleico que incluyan al menos una parte de

10 tales moléculas de ácido nucleico (por ejemplo, moléculas de ácido nucleico que incluyen genes de longitud completa, regiones codificantes de longitud completa, secuencias de control reguladoras, regiones codificantes truncadas), y (c) obtenga moléculas de ácido nucleico de Fc ϵ R α equino a partir de otros

15 caballos. Tales moléculas de ácido nucleico pueden obtenerse en una variedad de formas incluyendo examinar bibliotecas de expresión apropiadas con anticuerpos de la presente invención; técnicas de clonación tradicional usando sondas de oligonucleótido de la presente invención para examinar ADN o

20 bibliotecas apropiadas; y amplificación por PCR de ADN o bibliotecas apropiadas usando cebadores de oligonucleótido de la presente invención. Las bibliotecas preferidas para examinar o a partir de las cuales amplificar una molécula de ácido nucleico

25 incluyen bibliotecas de ADN genómico así como bibliotecas de ADNc de células basófilas, mastocitos, células de mastocitoma, células dendríticas, linfocitos B, macrófagos, eosinófilos y/o monocitos equinos. De manera similar, fuentes de ADN preferidas para examinar o a partir de las cuales amplificar moléculas de

30 ácido nucleico incluyen ADN genómico y ADNc de células basófilas, mastocitos, células de mastocitoma, células dendríticas, linfocitos B, macrófagos, eosinófilos y/o monocitos equinos. Las técnicas para clonar y amplificar genes se dan a conocer, por ejemplo, en Sambrook *et al.*, *ibid.*

La presente invención también incluye moléculas de ácido nucleico que son oligonucleótidos que pueden hibridar, en

35 condiciones de hibridación rigurosas, con regiones complementarias de otras moléculas de ácido nucleico,

preferiblemente más largas, de la presente invención tales como las que comprenden genes de Fc ϵ R α equino u otras moléculas de ácido nucleico de Fc ϵ R α equino. Los oligonucleótidos de la presente invención pueden ser ARN, ADN o derivados de cualquiera de ellos. El tamaño mínimo de tales oligonucleótidos es el tamaño requerido para la formación de un híbrido estable entre un oligonucleótido y una secuencia complementaria en una molécula de ácido nucleico de la presente invención. En el presente documento se dan a conocer las características de tamaño mínimo. La presente invención incluye oligonucleótidos que pueden usarse como, por ejemplo, sondas para identificar moléculas de ácido nucleico, cebadores para producir moléculas de ácido nucleico o reactivos terapéuticos para inhibir la actividad o la producción de proteína Fc ϵ R α equina (por ejemplo, como reactivos a base de fármacos con ARN y/o ribozima, formación de tríplex o antisentido). La presente invención también incluye el uso de tales oligonucleótidos para proteger a los animales de una enfermedad usando una o más de tales tecnologías. Pueden administrarse composiciones terapéuticas apropiadas que contienen oligonucleótidos a un animal usando técnicas conocidas por los expertos en la técnica.

Una realización de la presente invención incluye un vector recombinante, que incluye al menos una molécula de ácido nucleico aislada de la presente invención, insertada en cualquier vector que puede liberar la molécula de ácido nucleico en el interior de una célula huésped. Un vector de este tipo contiene secuencias de ácido nucleico heterólogas, es decir secuencias de ácido nucleico que no se encuentran de manera natural adyacentes a las moléculas de ácido nucleico de la presente invención y que se derivan preferiblemente de una especie diferente de la especie de la que se deriva(n) la(s) molécula(s) de ácido nucleico. El vector puede ser o bien ARN o bien ADN, o bien procariota o bien eucariota, y normalmente es un virus o un plásmido. Pueden usarse vectores recombinantes en la clonación, secuenciación y/o por el contrario manipulación de

moléculas de ácido nucleico de $Fc\epsilon R\alpha$ equino de la presente invención.

Un tipo de vector recombinante, denominado en el presente documento molécula recombinante, comprende una molécula de ácido nucleico de la presente invención ligada operativamente a un vector de expresión. La expresión ligada operativamente se refiere a la inserción de una molécula de ácido nucleico en un vector de expresión de manera que la molécula pueda expresarse cuando se transforma en una célula huésped. Tal como se usa en el presente documento, un vector de expresión es un vector de ADN o ARN que puede transformar una célula huésped y efectuar la expresión de una molécula de ácido nucleico especificado. Preferiblemente, el vector de expresión también puede replicarse dentro la célula huésped. Los vectores de expresión pueden ser o bien procariotas o bien eucariotas, y normalmente son virus o plásmidos. Los vectores de expresión de la presente invención incluyen cualquier vector que funciona (es decir, dirige la expresión génica) en células recombinantes de la presente invención, incluyendo en células bacterianas, fúngicas, endoparasitarias, de insectos, de otros animales y de vegetales. Los vectores de expresión preferidos de la presente invención pueden dirigir la expresión génica en células bacterianas, de levaduras, de insectos y de mamíferos y más preferiblemente en los tipos de células dados a conocer en el presente documento.

En particular, los vectores de expresión de la presente invención contienen secuencias reguladoras tales como secuencias de control de la transcripción, secuencias de control de la traducción, orígenes de replicación y otras secuencias reguladoras que son compatibles con la célula recombinante y que controlan la expresión de las moléculas de ácido nucleico de la presente invención. En particular, las moléculas recombinantes de la presente invención incluyen secuencias de control de la transcripción. Las secuencias de control de la transcripción son secuencias que controlan el inicio, la elongación y la terminación de la transcripción. Las secuencias de control de la transcripción particularmente importantes son aquellas que

controlan el inicio de la transcripción, tales como secuencias promotoras, potenciadoras, operadoras y represoras. Las secuencias de control de la transcripción adecuadas incluyen cualquier secuencia de control de la transcripción que puede
5 funcionar en al menos una de las células recombinantes de la presente invención. Los expertos en la técnica conocen una variedad de tales secuencias de control de la transcripción. Las secuencias de control de la transcripción preferidas incluyen aquellas que funcionan en células bacterianas, de levaduras, de
10 insectos y de mamíferos, tales como, pero sin limitarse a, *tac*, *lac*, *trp*, *trc*, *oxy-pro*, *omp/lpp*, *rrnB*, bacteriófago lambda (tal como lambda p_L y lambda p_R y fusiones que incluyen tales promotores), bacteriófago T7, *T7lac*, bacteriófago T3, bacteriófago SP6, bacteriófago SP01, metalotioneína, factor de
15 apareamiento alfa, alcohol oxidasa de *Pichia*, promotores subgenómicos de alfavirus (tales como promotores subgenómicos de virus Sindbis), gen de resistencia a antibióticos, baculovirus, virus de insecto *Heliothis zea*, virus Vaccinia, herpesvirus, virus de la viruela de los mapache, otros poxvirus, adenovirus, citomegalovirus (tales como promotores tempranos intermedios),
20 virus 40 de los simios, retrovirus, actina, repetición terminal larga retroviral, virus del sarcoma de Rous, choque térmico, secuencias de control de la transcripción de nitrato y fosfato así como otras secuencias que pueden controlar la expresión
25 génica en células procariotas o eucariotas. Las secuencias de control de la transcripción adecuadas adicionales incluyen potenciadores y promotores específicos de tejido así como promotores inducibles por linfoquinas (por ejemplo, promotores inducibles por interferones o interleucinas). Las secuencias de
30 control de la transcripción de la presente invención también pueden incluir secuencias de control de la transcripción que se producen de manera natural asociadas de manera natural con caballos.

Las moléculas de ácido nucleico preferidas y adecuadas para
35 incluirse en los vectores recombinantes de la presente invención son tal como se dan a conocer en el presente documento. Las

moléculas de ácido nucleico preferidas para incluirse en los vectores recombinantes, y particularmente en las moléculas recombinantes, incluyen neqFc_εRα₁₀₁₅, neqFc_εRα₇₆₅, neqFc_εRα₇₀₈ y neqFc_εRα₆₀₃. Una molécula recombinante particularmente preferida de la presente invención incluye pFB-neqFc_εRα₆₀₃, cuya producción se describe en la sección de ejemplos.

Las moléculas recombinantes de la presente invención también pueden (a) contener señales secretoras (es decir, secuencias de ácido nucleico de segmento de señal) para permitir que se secrete una proteína Fc_εRα equina expresada de la presente invención de la célula que produce la proteína y/o (b) contener secuencias de fusión que conducen a la expresión de moléculas de ácido nucleico de la presente invención como proteínas de fusión. Los ejemplos de segmentos de señal adecuados incluyen cualquier segmento de señal que puede dirigir la secreción de una proteína de la presente invención. Los segmentos de señal preferidos incluyen, pero no se limitan a, activador de plasminógeno tisular (t-PA), interferón, interleucina, hormona de crecimiento, segmentos de señal de glicoproteínas de la envuelta viral e histocompatibilidad, así como segmentos de señal naturales. En el presente documento se dan a conocer segmentos de fusión adecuados codificados por ácidos nucleicos de segmentos de fusión. Además, una molécula de ácido nucleico de la presente invención puede unirse a un segmento de fusión que dirige la proteína codificada al proteosoma, tal como un segmento de fusión de ubiquitina. Las moléculas recombinantes también pueden incluir secuencias no traducidas y/o de intervención que rodean y/o están dentro de las secuencias de ácido nucleico de las moléculas de ácido nucleico de la presente invención.

Otra realización de la presente invención incluye una célula recombinante que comprende una célula huésped transformada con una o más moléculas recombinantes de la presente invención. Puede llevarse a cabo la transformación de una molécula de ácido nucleico en una célula mediante cualquier método por el que pueda insertarse una molécula de ácido

nucleico en la célula. Las técnicas de transformación incluyen, pero no se limitan a, transfección, electroporación, microinyección, lipofección, adsorción y fusión de protoplastos. Una célula recombinante puede permanecer unicelular o puede
5 crecer para dar lugar a un tejido, un órgano o un organismo multicelular. Las moléculas de ácido nucleico transformadas de la presente invención pueden permanecer extracromosómicas o pueden integrarse en uno o más sitios dentro de un cromosoma de la célula transformada (es decir, recombinante) de manera que se
10 conserve su capacidad para expresarse. Las moléculas de ácido nucleico preferidas con las cuales transformar una célula incluyen moléculas de ácido nucleico de $Fc\epsilon R\alpha$ equino dadas a conocer en el presente documento. Las moléculas de ácido nucleico particularmente preferidas con las cuales transformar
15 una célula incluyen $neqFc\epsilon R\alpha_{1015}$, $neqFc\epsilon R\alpha_{765}$, $neqFc\epsilon R\alpha_{708}$ y $neqFc\epsilon R\alpha_{603}$.

Las células huésped adecuadas para transformar incluyen cualquier célula que puede transformarse con una molécula de ácido nucleico de la presente invención. Las células huésped
20 pueden ser o bien células no transformadas o bien células que ya están transformadas con al menos una molécula de ácido nucleico (por ejemplo, moléculas de ácido nucleico que codifican para una o más proteínas de la presente invención y/u otras proteínas útiles en la producción de vacunas multivalentes). Las células
25 huésped de la presente invención o bien pueden producir endógenamente (es decir, naturalmente) proteínas $Fc\epsilon R\alpha$ equinas de la presente invención o bien pueden producir tales proteínas tras transformarse con al menos una molécula de ácido nucleico de la presente invención. Las células huésped de la presente
30 invención pueden ser cualquier célula que puede producir al menos una proteína de la presente invención, e incluyen células bacterianas, fúngicas (incluyendo levaduras), de otros insectos, de otros animales y de vegetales. Las células huésped preferidas incluyen células bacterianas, de micobacterias, de levadura, de
35 parásitos, de insectos y de mamíferos. Las células huésped más preferidas incluyen *Salmonella*, *Escherichia*, *Bacillus*, *Listeria*,

Saccharomyces, *Spodoptera*, *Mycobacteria*, *Trichoplusia*, células BHK (riñón de cría de hámster), células MDCK (línea celular de riñón de perro normal para cultivo con herpesvirus canino), células CRFK (línea celular de riñón de gato normal para cultivo con herpesvirus felino), células CV-1 (línea celular de riñón de mono africano usada, por ejemplo, para poner en cultivo virus de la viruela de los mapache), células COS (por ejemplo, COS-7) y células Vero. Las células huésped particularmente preferidas son *Escherichia coli*, incluyendo derivados K-12 de *E. coli*; *Salmonella typhi*; *Salmonella typhimurium*, incluyendo cepas atenuadas tales como UK-1 x3987 y SR-11 x4072; *Spodoptera frugiperda*; *Trichoplusia ni*; células BHK; células MDCK; células CRFK; células CV-1; células COS; células Vero; y células G8 de mioblasto de ratón no tumorigeno (por ejemplo, ATCC CRL 1246).

Las células huésped de mamífero apropiadas adicionales incluyen otras líneas celulares de riñón, otras líneas celulares de fibroblastos (por ejemplo, líneas celulares de fibroblastos de embrión humano, murino o de pollo), líneas celulares de mieloma, células de ovario de hámster chino, células NIH/3T3 de ratón, células LMTK³¹ y/o células HeLa. En una realización, las proteínas pueden expresarse como proteínas heterólogas en líneas celulares de mieloma empleando promotores de inmunoglobulina.

Se produce preferiblemente una célula recombinante transformando una célula huésped con una o más moléculas recombinantes, cada una comprendiendo una o más moléculas de ácido nucleico de la presente invención ligadas operativamente a un vector de expresión que contiene una o más secuencias de control de la transcripción. La expresión ligada operativamente se refiere a la inserción de una molécula de ácido nucleico en un vector de expresión de manera tal que la molécula pueda expresarse cuando se transforma en una célula huésped.

Una molécula recombinante relativa a la presente invención es una molécula que puede incluir al menos una de cualquier molécula de ácido nucleico descrita hasta ahora ligada operativamente a al menos una de cualquier secuencia de control de la transcripción que puede regular eficazmente la expresión

de la(s) molécula(s) de ácido nucleico en la célula que va a transformarse, cuyos ejemplos se dan a conocer en el presente documento. Una molécula recombinante particularmente preferida incluye pFB-neqFc₆R α ₆₀₃.

5 Una célula recombinante relativa a la presente invención incluye cualquier célula transformada con al menos una de cualquier molécula de ácido nucleico de la presente invención. Las moléculas de ácido nucleico preferidas y adecuadas así como
10 las moléculas recombinantes preferidas y adecuadas con las cuales transformar células se dan a conocer en el presente documento. Una célula recombinante particularmente preferida incluye *S. frugiperda*: pFB-neqFc₆R α ₆₀₃. Los detalles con respecto a la producción de esta célula recombinante se dan a conocer en el presente documento.

15 Pueden usarse las tecnologías de ADN recombinante para mejorar la expresión de moléculas de ácido nucleico transformadas manipulando, por ejemplo, el número de copias de las moléculas de ácido nucleico dentro de una célula huésped, la eficiencia con la que se transcriben esas moléculas de ácido
20 nucleico, la eficiencia con la que se traducen los transcritos resultantes y la eficiencia de las modificaciones postraduccionales. Las técnicas recombinantes útiles para aumentar la expresión de moléculas de ácido nucleico de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, moléculas de
25 ácido nucleico que se unen operativamente a plásmidos de alto número de copias, integración de las moléculas de ácido nucleico en uno o más cromosomas de la célula huésped, adición de secuencias de estabilidad de vector a plásmidos, sustituciones o modificaciones de las señales de control de la transcripción
30 (por ejemplo, promotores, operadores, potenciadores), sustituciones o modificaciones de señales de control de la traducción (por ejemplo, sitios de unión a ribosomas, secuencias Shine-Dalgarno), modificación de moléculas de ácido nucleico de la presente invención para corresponder con el uso de codones de
35 la célula huésped, delección de secuencias que desestabilizan transcritos y uso de señales de control que separan temporalmente

el crecimiento de células recombinantes de la producción de enzimas recombinantes durante la fermentación. Puede mejorarse la actividad de una proteína recombinante expresada de la presente invención fragmentando, modificando o derivatizando

5 moléculas de ácido nucleico que codifican para una proteína de este tipo.

Pueden producirse las proteínas $FC_\epsilon R\alpha$ equinas aisladas de la presente invención en una variedad de formas, incluyendo producción y recuperación de proteínas naturales, producción y

10 recuperación de proteínas recombinantes y síntesis química de las proteínas. En una realización, se produce una proteína aislada de la presente invención poniendo en cultivo una célula que puede expresar la proteína en condiciones eficaces para producir la proteína, y recuperando la proteína. Una célula

15 preferida para poner en cultivo es una célula recombinante de la presente invención. Las condiciones de cultivo eficaces incluyen, pero no se limitan a, condiciones de medios, biorreactor, temperatura, pH y oxígeno eficaces que permitan la producción de proteínas. Un medio eficaz se refiere a cualquier

20 medio en el que se cultiva una célula para producir una proteína $FC_\epsilon R\alpha$ equina de la presente invención. Un medio de este tipo comprende normalmente un medio acuoso que tiene fuentes de carbono, nitrógeno y fosfato asimilables, y sales, minerales, metales y otros nutrientes apropiados, tales como vitaminas. Las

25 células de la presente invención pueden ponerse en cultivo en biorreactores de fermentación, matraces de agitación, tubos de ensayo, placas de microtitulación y placas de petri convencionales. Puede llevarse a cabo el cultivo a una temperatura, pH y contenido en oxígeno apropiados para una

30 célula recombinante. Tales condiciones de cultivo están dentro del conocimiento de un experto en la técnica. Los ejemplos de condiciones adecuadas se incluyen en la sección de ejemplos.

Dependiendo del sistema de huésped y vector usado para la producción, las proteínas resultantes de la presente invención

35 pueden o bien permanecer dentro de la célula recombinante; secretarse en el medio de fermentación; secretarse en un espacio

entre dos membranas celulares, tal como el espacio periplásmico en *E. coli*; o bien quedar retenidas en la superficie externa de una célula o membrana viral. La expresión "recuperar la proteína", así como expresiones similares, se refiere a recoger el medio de fermentación completo que contiene la proteína y no necesita implicar etapas adicionales de separación o purificación. Las proteínas de la presente invención pueden purificarse usando una variedad de técnicas de purificación de proteínas convencionales, tales como, pero sin limitarse a, cromatografía de afinidad, cromatografía de intercambio iónico, filtración, electroforesis, cromatografía de interacción hidrófoba, cromatografía de filtración en gel, cromatografía de fase inversa, cromatografía con concanavalina A, cromatografía de solubilización diferencial. Las proteínas de la presente invención se recuperan preferiblemente de forma "sustancialmente pura". Tal como se usa en el presente documento, "sustancialmente pura" se refiere a una pureza que permite el uso eficaz de la proteína como una composición terapéutica o agente de diagnóstico. Una composición terapéutica para animales, por ejemplo, no debe presentarse como sustancial.

La presente invención también se refiere a anticuerpos aislados (es decir, retirados de su medio natural) que se unen selectivamente a una proteína Fc ϵ R α equina de la presente invención o a un mimotopo de la misma (es decir, anticuerpos anti-Fc ϵ R α equino). Tal como se usa en el presente documento, la expresión "se une selectivamente a" una proteína Fc ϵ R α equina se refiere a la capacidad de los anticuerpos de la presente invención para unirse preferentemente a proteínas especificadas y mimotopos de las mismas de la presente invención. Puede medirse la unión usando una variedad de métodos convencionales en la técnica incluyendo inmunoensayos enzimáticos (por ejemplo, ELISA), ensayos de inmunotransferencia, etc.; véase, por ejemplo, Sambrook *et al.*, *ibid.* Un anticuerpo anti-Fc ϵ R α equino se une de manera selectivamente preferible a una proteína Fc ϵ R α equina de tal manera que reduce la actividad de esa proteína.

Los anticuerpos aislados pueden incluir anticuerpos en un fluido corporal (tal como, pero sin limitarse a, suero) o anticuerpos que se han purificado hasta grados variables. Los anticuerpos de la presente invención pueden ser policlonales o monoclonales. También se incluyen los equivalentes funcionales de tales anticuerpos, tales como fragmentos de anticuerpo y anticuerpos modificados mediante ingeniería genética (incluyendo anticuerpos de cadena sencilla o anticuerpos quiméricos que pueden unirse a más de un epítipo) en la presente invención.

Un método preferido para producir anticuerpos incluye (a) administrar a un animal una cantidad eficaz de una proteína, péptido o mimotopo de los mismos de la presente invención para producir los anticuerpos y (b) recuperar los anticuerpos. En otro método, se producen los anticuerpos de manera recombinante usando técnicas tal como se han dado a conocer hasta ahora para producir las proteínas Fc ϵ R α equinas de la presente invención. Los anticuerpos producidos contra proteínas o mimotopos definidos pueden ser ventajosos debido a que tales anticuerpos no están contaminados sustancialmente con anticuerpos contra otras sustancias que por el contrario podrían provocar una interferencia en un ensayo diagnóstico o efectos secundarios si se usan en una composición terapéutica.

Los anticuerpos relativos a la presente invención tienen una variedad de usos potenciales que están dentro del alcance de la presente invención. Por ejemplo, tales anticuerpos pueden usarse (a) como herramientas para detectar el receptor Fc épsilon en presencia o ausencia de IgE y/o (b) como herramientas para examinar bibliotecas de expresión y/o para recuperar las proteínas deseadas de la presente invención a partir de una mezcla de proteínas y otros contaminantes. Además, pueden usarse los anticuerpos relativos a la presente invención para el transporte dirigido de agentes citotóxicos a células que tienen receptores Fc épsilon tales como los dados a conocer en el presente documento con el fin de destruir directamente tales células. El transporte dirigido puede llevarse a cabo conjugando (es decir, uniendo de manera estable) tales anticuerpos con los

agentes citotóxicos usando técnicas conocidas por los en la técnica. Los expertos en la técnica conocen agentes citotóxicos adecuados. También pueden usarse los anticuerpos relativos a la presente invención, incluyendo partes de unión a $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ de los
5 mismos, por ejemplo, para inhibir la unión de la IgE a los receptores Fc épsilon, para producir anticuerpos idiotípicos anti- $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino, para purificar células que tienen proteínas $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equinas, para estimular la transducción de señales intracelulares a través de un $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino y para identificar
10 células que tienen proteínas $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equinas.

Una molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino de la presente invención puede incluir moléculas quiméricas que comprenden una parte de una molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino que se une a una IgE y una segunda molécula que permite que la molécula quimérica se una a un
15 sustrato de manera que la parte de molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ se una a IgE en esencialmente la misma manera que una molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ que no esté unida a un sustrato. Un ejemplo de una segunda molécula adecuada incluye una parte de una molécula de inmunoglobulina u otro ligando que tiene un componente de unión
20 adecuado que puede inmovilizarse en un sustrato, por ejemplo, biotina y avidina, o una proteína de unión a metales y un metal (por ejemplo, His), o una proteína de unión a azúcares y un azúcar (por ejemplo, maltosa).

Una molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino de la presente invención puede
25 incluir moléculas quiméricas que comprenden una parte de una molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino que se une a una IgE y una segunda molécula, tal como una enzima, que permite que la molécula quimérica se una a IgE en esencialmente la misma manera que una molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ que no incluye una segunda molécula de este
30 tipo, e hidrolice un sustrato de tal manera que proporcione una señal detectable. Un ejemplo de una segunda molécula adecuada incluye fosfatasa alcalina, peroxidasa del rábano o ureasa. En una realización, una molécula quimérica de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino de la presente invención comprende una proteína codificada por una
35 molécula recombinante que comprende una molécula de ácido

nucleico que codifica para al menos una parte de una molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino que se une a una IgE, ligada operativamente a una molécula de ácido nucleico que codifica para una enzima, preferiblemente fosfatasa alcalina.

5 Una molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino de la presente invención puede estar contenida en una formulación, denominada en el presente documento formulación de molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$. Por ejemplo, puede combinarse una molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino con un tampón en el que se solubiliza la molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino, y/o con un portador.

10 Los expertos en la técnica conocen tampones y portadores adecuados. Los ejemplos de tampones adecuados incluyen cualquier tampón en el que una molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino puede funcionar para unirse selectivamente a IgE, tal como, pero sin limitarse a, solución salina tamponada con fosfato, agua, solución salina, tampón fosfato, tampón bicarbonato, tampón HEPES (solución

15 salina tamponada con ácido N-2-hidroxietilpiperazina-N'-2-etanosulfónico), tampón TES (solución salina tamponada con Tris-EDTA), tampón Tris y tampón TAE (Tris-acetato-EDTA). Los ejemplos de portadores incluyen, pero no se limitan a, matrices

20 poliméricas, toxoides y albúminas séricas, tales como albúmina sérica bovina. Pueden mezclarse los portadores con moléculas de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino o conjugarse (es decir, unirse) con moléculas de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino de tal manera que no interfieran sustancialmente con la capacidad de las moléculas de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino de unirse

25 selectivamente a IgE.

Puede unirse una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina de la presente invención a la superficie de una célula que comprende la proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina. Una célula que posee proteínas $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equinas preferida incluye una célula recombinante que comprende

30 una molécula de ácido nucleico que codifica para una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina de la presente invención. Una célula recombinante más preferida comprende una molécula de ácido nucleico que codifica para al menos una de las siguientes proteínas: $\text{PequFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{255}$, $\text{PequFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{236}$ y $\text{PequFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{201}$. Una célula recombinante

35 incluso más preferida comprende una molécula de ácido nucleico

que incluye neqFc_εRα₁₀₁₅, neqFc_εRα₇₆₅, neqFc_εRα₇₀₈ y neqFc_εRα₆₀₃, prefiriéndose incluso más una célula recombinante que comprende una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de ácido nucleico que incluye SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 11, o una molécula de ácido nucleico que comprende una variante alélica de una molécula de ácido nucleico que comprende SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 11.

Además, una formulación de molécula de Fc_εRα equino de la presente invención puede incluir no sólo una molécula de Fc_εRα equino sino también uno o más anticuerpos o antígenos adicionales útiles en la detección de IgE. Tal como se usa en el presente documento, un antígeno se refiere a cualquier molécula a la que puede unirse selectivamente un anticuerpo. Tal como se usa en el presente documento, la unión selectiva de una primera molécula a una segunda molécula se refiere a la capacidad de la primera molécula de unirse preferentemente (por ejemplo, que tiene mayor afinidad, mayor avidéz) a la segunda molécula cuando se compara con la capacidad de una primera molécula de unirse a una tercera molécula. No es necesario que la primera molécula sea necesariamente el ligando natural de la segunda molécula. Los ejemplos de tales anticuerpos incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos que se unen selectivamente a la región constante de una cadena pesada de IgE (es decir, anticuerpo isotípico anti-IgE) o anticuerpos que se unen selectivamente a una IgE que tiene una especificidad antigénica específica (es decir, anticuerpo idiotípico anti-IgE). Los anticuerpos anti-IgE adecuados para su uso en una formulación de la presente invención no pueden entrecruzar dos o más anticuerpos IgE. Los anticuerpos anti-IgE preferidos incluyen fragmentos Fab de los anticuerpos (tal como se define en Janeway *et al.*, *ibid.*). Los ejemplos de tales antígenos incluyen cualquier antígeno que se sabe que induce la producción de IgE. Los antígenos preferidos incluyen alérgenos y antígenos de parásito. Los alérgenos incluyen, pero no se limitan a alérgenos ingeridos, inhalados o puestos en contacto con un caballo. Los alérgenos de la presente

invención se derivan preferiblemente de hongos, royas, tizones, bacterias, árboles, malas hierbas, arbustos, pastos, trigo, maíz, granos, henos, pajas, avenas, alfalfa, tréboles, sojas, levaduras, pulgas, moscas, mosquitos, ácaros, mosquitos
5 pequeños, jejenes que pican, piojo, abejas, avispa, hormigas, chinches o garrapatas. Un alérgeno de jején que pica adecuado incluye un alérgeno derivado de un jején, en particular un antígeno de saliva de jején. Un alérgeno de jején preferido incluye un antígeno de saliva de jején, en particular un
10 antígeno de saliva de jején derivado de un jején del género *Culicoides*. Un alérgeno de pulga adecuado incluye un alérgeno derivado de una pulga, en particular un antígeno de saliva de pulga. Un alérgeno de pulga preferido incluye un antígeno de saliva de pulga. Los antígenos de saliva de pulga preferidos
15 incluyen antígenos tales como los dados a conocer en la publicación de patente PCT n.º WO 96/11271, publicada el 18 de abril de 1996, por Frank et al., prefiriéndose particularmente productos de saliva de pulga y proteínas de saliva de pulga. Según la presente invención, una proteína de saliva de pulga
20 incluye una proteína producida mediante métodos de ADN recombinante, así como proteínas aisladas mediante otros métodos dados a conocer en la publicación de patente PCT n.º WO 96/11271.

Los alérgenos generales preferidos incluyen los derivados
25 de pasto, festuca de los prados, lengua de vaca, llantén, notro mexicano, quihuilla, bledo, ambrosía, vara de oro, acedera, leguminosas, diente de león, salvia, olmo, abrojo, saúco, nuez, arce, sicomoro, nuez dura, álamo temblón, pino, álamo de Virginia, fresno, abedul, cedro, roble, morera, cucaracha,
30 *Dermataphagoides*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Mucor*, *Curvularia*, *Candida*, *Penicillium*, *Pullularia*, *Rhizopus* y/o *Tricophyton*. Los alérgenos generales más preferidos incluyen los derivados de sorgo de alepo, pasto azul de Kentucky, festuca de los prados, dátilo
35 apelotonado, ballico perenne, agróstide blanca, fleo de los prados, pasto Bermuda, pasto salado, bromo, lengua de vaca,

romaza, llantén menor, notro mexicano, quihuilla, bleo áspero, ambrosía pequeña, vara de oro, acederilla, trébol rojo, diente de león, salvia de ajeno, olmo americano, abrojo común, arce negundo, cenegal, nogal negro, arce rojo, sicomoro oriental, 5 pino blanco, chopo negro norteamericano, fresno verde, abedul de río, cedro rojo, roble rojo, morera roja, cucaracha, tizón de granos, roya del tallo de avena, roya del tallo de trigo, *Dermatophagoides farinae*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuis*, *Curvularia spicifera*, *Aspergillus fumigatus*, 10 *Cladosporium herbarum*, *Fusarium vasinfectum*, *Helminthosporium sativum*, *Mucor recemosus*, *Penicillium notatum*, *Pullularia pullulans*, *Rhizopus nigricans* y/o *Tricophyton spp.* La expresión "derivado de" se refiere a un alérgeno natural de tales plantas u organismos (es decir, un alérgeno aislado directamente de 15 tales plantas u organismos), así como, a alérgenos no naturales de tales plantas u organismos que poseen al menos un epítipo que puede provocar una respuesta inmunitaria contra un alérgeno (por ejemplo, producido usando tecnología de ADN recombinante o mediante síntesis química). Los alérgenos preferidos incluyen 20 los que provocan enfermedades respiratorias alérgicas en equinos, incluyendo, por ejemplo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, hemorragia pulmonar inducida por ejercicio y urticaria inducida por inhaladores. Tales alérgenos incluyen, pero no se limitan a, mohos, componentes de polvo y componentes 25 de pienso.

Una realización de la presente invención es un método para detectar IgE que incluye las etapas de: (a) poner en contacto una molécula de Fc_εRα equino aislada con una composición que contiene la supuesta IgE en condiciones adecuadas para la 30 formación de un complejo de molécula de Fc_εRα equino:IgE; y (b) detectar la presencia de IgE detectando el complejo de molécula de Fc_εRα equino:IgE. La presencia de un complejo de molécula de Fc_εRα equino:IgE de este tipo indica que el animal está produciendo IgE. Las IgE preferidas para detectar usando una 35 molécula de Fc_εRα equino incluyen IgE equina, IgE canina, IgE felina e IgE humana, prefiriéndose particularmente IgE equina.

El presente método puede incluir además la etapa de determinar si una IgE complejada con una proteína $Fc\epsilon R\alpha$ equina es termolábil. Preferiblemente, se determina una IgE termolábil incubando una IgE a aproximadamente 56°C durante aproximadamente 3 o aproximadamente 4 horas. Sin querer restringirse a la teoría, los inventores creen que las formas termolábiles de IgE se unen a ciertos alérgenos y las formas no termolábiles de IgE se unen a otros tipos de alérgenos. Como tal, puede usarse la detección de IgE termolábil en comparación con IgE no termolábil para discriminar entre las sensibilidades del alérgeno.

Tal como se usa en el presente documento, canino se refiere a cualquier miembro de la familia de los perros, incluyendo perros domésticos, perros salvajes y perros de zoológicos. Los ejemplos de perros incluyen, pero no se limitan a, perros domésticos, perros salvajes, zorros, lobos, chacales y coyotes. Tal como se usa en el presente documento, felino se refiere a cualquier miembro de la familia de los gatos, incluyendo gatos domésticos, gatos salvajes y gatos de zoológicos. Los ejemplos de gatos incluyen, pero no se limitan a, gatos domésticos, gatos salvajes, leones, tigres, leopardos, panteras, pumas, gatos monteses, lince, jaguares, guepardos y gatos cervales.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "poner en contacto" se refiere a combinar o mezclar, en este caso una composición que contiene la supuesta IgE con una molécula de $Fc\epsilon R\alpha$ equino. La formación de un complejo entre una molécula de $Fc\epsilon R\alpha$ equino y una IgE se refiere a la capacidad de la molécula de $Fc\epsilon R\alpha$ equino para unirse selectivamente a la IgE con el fin de formar un complejo estable que puede medirse (es decir, detectarse). Tal como se usa en el presente documento, la expresión se une selectivamente a una IgE se refiere a la capacidad de una molécula de $Fc\epsilon R\alpha$ equino de la presente invención de unirse preferentemente a IgE, sin poder unirse sustancialmente a otros isotipos de anticuerpos. La unión entre una molécula de $Fc\epsilon R\alpha$ equino y una IgE se efectúa en condiciones adecuadas para formar un complejo; los expertos en la técnica

conocen tales condiciones (por ejemplo, concentraciones, tampones, temperaturas, tiempos de reacción apropiados) así como los métodos para optimizar tales condiciones, y se dan a conocer los ejemplos en el presente documento. Los ejemplos de las
5 condiciones para la formación de complejos también se dan a conocer en, por ejemplo, Sambrook *et al.*, *ibid.*

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "detectar la formación de complejos" se refiere a determinar si se forma cualquier complejo, es decir, someter a ensayo la
10 presencia (es decir, existencia) de un complejo. Si se forman complejos, puede, pero no es necesario, determinarse la cantidad de los complejos formados. Puede medirse la formación de complejos, o la unión selectiva, entre la molécula de Fc ϵ R α equino y cualquier IgE en la composición (es decir, detectarse,
15 determinarse) usando una variedad de métodos convencionales en la técnica (véase, por ejemplo, Sambrook *et al.* *ibid.*), cuyos ejemplos se dan a conocer en el presente documento.

En una realización, una composición que contiene la supuesta IgE del presente método incluye una muestra biológica
20 de un animal. Una muestra biológica adecuada incluye, pero no se limita a, una composición de fluido corporal o una composición celular. Un fluido corporal se refiere a cualquier fluido que puede extraerse (es decir, obtenerse) de un animal, cuyos ejemplos incluyen, pero no se limitan a, sangre, suero, plasma,
25 orina, lágrimas, humor acuoso, líquido cefalorraquídeo (LCR), saliva, linfa, secreciones nasales, aspirados traqueobronquiales, leche, heces y fluidos obtenidos a través de lavado alveolar bronquial. Una composición de este tipo del presente método puede, pero no es necesario, tratarse
30 previamente para eliminar al menos algunos de los isotipos de inmunoglobulina distintos de IgE y/u otras proteínas, tales como albúmina, presentes en el fluido. Tal eliminación puede incluir, pero no se limita a, poner en contacto el fluido corporal con un material, tal como proteína G, para eliminar anticuerpos IgG y/o
35 para purificar por afinidad anticuerpos IgE de otros componentes del fluido corporal exponiendo el fluido a, por ejemplo,

concanavalina A. En otra realización, una composición incluye fluido corporal extraído que se trata previamente para concentrar la inmunoglobulina contenida en el fluido. Por ejemplo, puede precipitarse la inmunoglobulina contenida en un
5 fluido corporal de otras proteínas usando sulfato de amonio. Una composición preferida del presente método es suero.

En otra realización, una composición que contiene IgE del presente método incluye una célula que produce IgE. Una célula de este tipo puede tener IgE unida a la superficie de la célula
10 y/o puede secretar IgE. Un ejemplo de una célula de este tipo incluye células de mieloma. Puede unirse IgE a la superficie de una célula o bien directamente a la membrana de la célula o bien unirse a una molécula (por ejemplo, un antígeno) unida a la superficie de la célula.

15 Puede detectarse un complejo en una variedad de formas incluyendo, pero sin limitarse a, el uso de uno o más de los siguientes ensayos: un inmunoensayo ligado a enzimas, un radioinmunoanálisis, un inmunoensayo de fluorescencia, un ensayo quimioluminiscente, un ensayo de flujo lateral, un ensayo de
20 aglutinación, un ensayo basado en partículas (por ejemplo, usando partículas tales como, pero sin limitarse a, partículas magnéticas o polímeros para plásticos, tales como látex o perlas de poliestireno), un ensayo de inmunoprecipitación, un ensayo con BioCoreTM (por ejemplo, usando oro coloidal) y un ensayo de
25 inmunotransferencia (por ejemplo, una inmunotransferencia de tipo Western). Los expertos en la técnica conocen bien tales ensayos. Pueden usarse los ensayos para proporcionar resultados cualitativos o cuantitativos dependiendo de cómo se usen. Algunos ensayos, tales como aglutinación, separación de
30 partículas e inmunoprecipitación, pueden observarse visualmente (por ejemplo, o bien a simple vista o bien mediante una máquina, tal como un densitómetro o espectrofotómetro) sin la necesidad de un marcador detectable. En otros ensayos, la conjugación (es decir, unión) de un marcador detectable con la molécula de Fc_εRα
35 equino o a un reactivo que se une selectivamente a la molécula de Fc_εRα equino o a la IgE que va a detectarse (descritos con

más detalle a continuación) ayuda en la detección de la formación de complejos. Los ejemplos de marcadores detectables incluyen, pero no se limitan a, un marcador radioactivo, una enzima, un marcador fluorescente, un marcador quimioluminiscente, un marcador cromofórico o un ligando. Un ligando se refiere a una molécula que se une selectivamente a otra molécula. Los marcadores detectables preferidos incluyen, pero no se limitan a, fluoresceína, un radioisótopo, una fosfatasa (por ejemplo, fosfatasa alcalina), biotina, avidina, una peroxidasa (por ejemplo, peroxidasa del rábano) y compuestos relacionados con biotina o compuestos relacionados con avidina (por ejemplo, estreptavidina o ImmunoPure® NeutrAvidin disponible de Pierce, Rockford, IL). Según la presente invención, puede conectarse un marcador detectable a una molécula de Fc ϵ R α equino usando, por ejemplo, conjugación química o tecnología de ADN recombinante (por ejemplo, conexión de un segmento de fusión tal como el descrito en el presente documento para un dominio de unión a metales; una unión a inmunoglobulina; un dominio de unión a azúcares; y un dominio de unión de "etiqueta"). Preferiblemente un grupo de hidrato de carbono de la molécula de Fc ϵ R α equino se conjuga químicamente a biotina.

En una realización, se detecta un complejo poniendo en contacto una composición que contiene la supuesta IgE con una molécula de Fc ϵ R α equino que está conjugada con un marcador detectable. Un marcador detectable adecuado a conjugarlo con una molécula de Fc ϵ R α equino incluye, pero no se limita a, un marcador radiactivo, un marcador fluorescente, un marcador enzimático, un marcador quimioluminiscente, un marcador cromofórico o un ligando. Se conjuga un marcador detectable con una molécula de Fc ϵ R α equino de tal manera que no bloquee la capacidad de la molécula de Fc ϵ R α equino de unirse a la IgE que está detectándose. Preferiblemente, un grupo de hidrato de carbono de una molécula de Fc ϵ R α equino se conjuga con biotina.

En otra realización, se detecta un complejo de molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino:IgE poniendo en contacto una composición que contiene la supuesta IgE con una molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino y entonces poniendo en contacto el complejo con una molécula indicadora. Las moléculas indicadoras adecuadas de la presente invención incluyen moléculas que pueden unirse a o bien la molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino o bien al anticuerpo IgE. Como tal, una molécula indicadora puede comprender, por ejemplo, un antígeno, un anticuerpo y una lectina, dependiendo de qué parte del complejo de molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino:IgE esté detectándose. Las moléculas indicadoras preferidas que son anticuerpos incluyen, por ejemplo, anticuerpos anti-IgE y anticuerpos anti- $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino. Las lectinas preferidas incluyen aquellas lectinas que se unen a grupos con alto contenido en manosa. Lectinas más preferidas se unen a grupos con alto contenido en manosa presentes en una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina de la presente invención producida en células de insectos. Puede unirse una molécula indicadora en sí misma a un marcador detectable de la presente invención. Por ejemplo, puede conjugarse un anticuerpo con biotina, peroxidasa del rábano, fosfatasa alcalina o fluoresceína.

En una realización preferida, se detecta un complejo de molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino:IgE poniendo en contacto el complejo con una molécula indicadora que se une selectivamente a una molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino de la presente invención. Los ejemplos de una molécula indicadora de este tipo incluyen, pero no se limitan a, un anticuerpo que se une selectivamente a una molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino (denominada en el presente documento un anticuerpo anti- $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino) o un compuesto que se une selectivamente a un marcador detectable conjugado con una molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino. Se detecta preferiblemente una molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino conjugada con biotina usando estreptavidina.

En otra realización preferida, se detecta un complejo de molécula de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino:IgE poniendo en contacto el complejo

con una molécula indicadora que se une selectivamente a un anticuerpo IgE (denominada en el presente documento reactivo anti-IgE). Los ejemplos de un anticuerpo anti-IgE de este tipo incluyen, pero no se limitan a, un anticuerpo secundario que es
5 un anticuerpo anti-isotipo (por ejemplo, un anticuerpo que se une selectivamente a la región constante de una IgE), una proteína de superficie bacteriana de unión a anticuerpos (por ejemplo, proteína A o proteína G), una célula de unión a anticuerpos (por ejemplo, una célula B, una célula T, un
10 linfocito citolítico natural, una célula leucocítica polimorfonuclear, una célula monocítica o una célula macrófaga), una proteína de superficie celular eucariota de unión a anticuerpos (por ejemplo, un receptor Fc), y una proteína del complemento de unión a anticuerpos. Una molécula indicadora
15 preferida incluye un anticuerpo anti-IgE equina. Tal como se usa en el presente documento, un anticuerpo anti-IgE incluye no sólo un anticuerpo completo sino también cualquier subunidad o parte del mismo que puede unirse selectivamente a una región constante de cadena pesada de IgE. Por ejemplo, un reactivo anti-IgE puede
20 incluir un fragmento Fab o un fragmento $F(ab')_2$, describiéndose ambos en detalle en Janeway *et al.*, en *Immunobiology, the Immune System in Health and Disease*, Garland Publishing, Inc., NY, 1996.

En una realización puede formarse y detectarse un complejo
25 en disolución. En otra realización, puede formarse un complejo en el que se inmovilizan uno o más miembros del complejo en (por ejemplo, se recubren sobre) un sustrato. Los expertos en la técnica conocen las técnicas de inmovilización. Los materiales de sustrato adecuados incluyen, pero no se limitan a, plástico,
30 vidrio, gel, celuloide, papel, PVDF (poli(fluoruro de vinilideno)), nailon, nitrocelulosa, y materiales particulados tales como látex, poliestireno, nailon, nitrocelulosa, agarosa y resina magnética. Las formas adecuadas para el material de sustrato incluyen, pero no se limitan a, un pocillo (por
35 ejemplo, pocillo de placa de microtitulación), una placa, una tira reactiva, una perla, un aparato de flujo lateral, una

membrana, un filtro, un tubo, un plato, una matriz de tipo celuloide, una partícula magnética, y otros materiales particulados. Un sustrato particularmente preferido comprende una placa para ELISA, una tira reactiva, una placa para radioinmunoanálisis, perlas de agarosa, perlas de plástico, perlas de látex, membranas para inmunotransferencia y papeles para inmunotransferencia. En una realización, un sustrato, tal como un material particulado, puede incluir un marcador detectable.

Un método preferido para detectar IgE es un ensayo de inmunoabsorción. Un ensayo de inmunoabsorción de la presente invención comprende una molécula de captura y una molécula indicadora. Una molécula de captura de la presente invención se une a una IgE de tal manera que la IgE se inmoviliza en un sustrato. Como tal, se inmoviliza preferiblemente una molécula de captura en un sustrato de la presente invención antes de la exposición de la molécula de captura a una composición que contiene la supuesta IgE. Una molécula indicadora de la presente invención detecta la presencia de una IgE unida a una molécula de captura. Como tal, no se inmoviliza preferiblemente una molécula indicadora en el mismo sustrato que una molécula de captura antes de la exposición de la molécula de captura a una composición que contiene la supuesta IgE.

Un método de ensayo de inmunoabsorción preferido incluye una etapa de cualquiera de:

(a) inmovilizar una molécula de $Fc_\epsilon R\alpha$ equino sobre un sustrato antes de poner en contacto una molécula de $Fc_\epsilon R\alpha$ equino con una composición que contiene la supuesta IgE para formar un sustrato con molécula de $Fc_\epsilon R\alpha$ equino inmovilizada; y (b) unir una composición que contiene la supuesta IgE sobre un sustrato antes de poner en contacto una molécula de $Fc_\epsilon R\alpha$ equino con una composición que contiene la supuesta IgE para formar un sustrato unido a una composición que contiene la supuesta IgE. Preferiblemente, el sustrato incluye un sustrato no recubierto, un sustrato con molécula de $Fc_\epsilon R\alpha$ equino inmovilizada, un

sustrato con antígeno inmovilizado o un sustrato con anticuerpo anti-IgE inmovilizado.

Tanto una molécula de captura como una molécula indicadora relativas a la presente invención pueden unirse a una IgE. Preferiblemente, una molécula de captura se une a una región diferente de una IgE que una molécula indicadora, permitiendo de ese modo que una molécula de captura se una a una IgE al mismo tiempo que una molécula indicadora. El uso de un reactivo como molécula de captura o una molécula indicadora depende de si la molécula queda inmovilizada en un sustrato cuando se expone la molécula a una IgE. Por ejemplo, se usa una molécula de $Fc_\epsilon R\alpha$ equino de la presente invención como molécula de captura cuando se une la molécula de $Fc_\epsilon R\alpha$ equino sobre un sustrato. Alternativamente, se usa una molécula de $Fc_\epsilon R\alpha$ equino como una molécula indicadora cuando la molécula de $Fc_\epsilon R\alpha$ equino no está unida sobre un sustrato. Las moléculas adecuadas para su uso como moléculas de captura o moléculas indicadoras incluyen, pero no se limitan a, una molécula de $Fc_\epsilon R\alpha$ equino de la presente invención, un reactivo antigénico o un reactivo de anticuerpo anti-IgE de la presente invención.

Un ensayo de inmunoabsorción relativo a la presente invención puede comprender además una o más capas y/o tipos de moléculas secundarias u otras moléculas de unión que pueden detectar la presencia de una molécula indicadora. Por ejemplo, un anticuerpo secundario no marcado con etiqueta (es decir, no conjugado con un marcador detectable) que se une selectivamente a una molécula indicadora puede unirse a un anticuerpo terciario marcado con etiqueta (es decir, conjugado con un marcador detectable) que se une selectivamente al anticuerpo secundario. Los expertos en la técnica pueden seleccionar anticuerpos secundarios, anticuerpos terciarios y otras moléculas secundarias o terciarias adecuados. Las moléculas secundarias preferidas de la presente invención incluyen un antígeno, un anticuerpo idiotípico anti-IgE y un anticuerpo isotípico anti-IgE. Las moléculas terciarias preferidas puede seleccionarlas un experto en la técnica basándose en las características de la

molécula secundaria. Se aplica la misma estrategia para capas posteriores.

En una realización, se usa un antígeno específico como molécula de captura inmovilizándose sobre un sustrato, tal como un pocillo de placa de microtitulación o una tira reactiva. Los antígenos preferidos incluyen los dados a conocer en el presente documento. Se aplica una muestra biológica recogida de un animal al sustrato y se incuba en condiciones adecuadas (es decir, suficientes) para permitir la formación del complejo de antígeno:IgE unido al sustrato (es decir, IgE en una muestra se une a un antígeno inmovilizado sobre un sustrato). El material no unido en exceso (es decir, material procedente de la muestra biológica que no se ha unido al antígeno), si lo hubiera, se elimina del sustrato en condiciones que conserven la unión del complejo de antígeno:IgE al sustrato. Las condiciones preferidas se dan a conocer generalmente en Sambrook *et al.*, *ibíd.* Se añade al sustrato molécula indicadora que puede unirse selectivamente a una IgE unida al antígeno y se incuba para permitir la formación de un complejo entre la molécula indicadora y el complejo de antígeno:IgE. Se elimina la molécula indicadora en exceso, si se requiere se añade un agente de revelado, y se somete el sustrato a un dispositivo de detección para su análisis. Una molécula indicadora preferida para esta realización es una molécula de Fc_εRα equino, conjugada preferiblemente con biotina, con un marcador fluorescente o con un marcador enzimático.

En una realización, se usa una molécula de Fc_εRα equino como molécula de captura inmovilizándose sobre un sustrato, tal como un pocillo de placa de microtitulación o una tira reactiva. Se aplica una muestra biológica recogida de un animal al sustrato y se incuba en condiciones adecuadas para permitir la formación del complejo de molécula de Fc_εRα equino:IgE unido al sustrato. El material no unido en exceso, si lo hubiera, se elimina del sustrato en condiciones que conserven la unión del complejo de molécula de Fc_εRα equino:IgE al sustrato. Se añade al sustrato una molécula indicadora que puede unirse

selectivamente a una IgE unida a la molécula de $Fc_\epsilon R\alpha$ equino y se incuba para permitir la formación de un complejo entre la molécula indicadora y el complejo de molécula de $Fc_\epsilon R\alpha$ equino:IgE. Preferiblemente, se conjuga la molécula indicadora con un marcador detectable (preferiblemente con un marcador enzimático, con un marcador colorimétrico, con un marcador fluorescente, con un radioisótopo o con un ligando tal como de la familia de la biotina o la avidina). Se elimina la molécula indicadora en exceso, si se requiere se añade un agente de revelado, y se somete el sustrato a un dispositivo de detección para su análisis. Una molécula indicadora preferida para esta realización es un antígeno que se unirá a IgE en la muestra biológica o un anticuerpo idiotípico o isotípico anti-IgE, preferiblemente que se conjuga con o bien fluoresceína o bien biotina.

En una realización, se usa un anticuerpo anti-IgE (por ejemplo, anticuerpo específico idiotípico o isotípico) como molécula de captura inmovilizándose sobre un sustrato, tal como un pocillo de placa de microtitulación o una tira reactiva. Se aplica una muestra biológica recogida de un animal al sustrato y se incuba en condiciones adecuadas para permitir la formación del complejo de anticuerpo anti-IgE:IgE unido al sustrato. El material no unido en exceso, si lo hubiera, se elimina del sustrato en condiciones que conserven la unión del complejo de anticuerpo anti-IgE:IgE al sustrato. Se añade al sustrato una molécula de $Fc_\epsilon R\alpha$ equino y se incuba para permitir la formación de un complejo entre la molécula de $Fc_\epsilon R\alpha$ equino y el complejo de anticuerpo anti-IgE:IgE. Preferiblemente, se conjuga la molécula de $Fc_\epsilon R\alpha$ equino con un marcador detectable (preferiblemente con biotina, con un marcador enzimático o con un marcador fluorescente). Se elimina la molécula de $Fc_\epsilon R\alpha$ equino en exceso, si se requiere se añade un agente de revelado, y se somete el sustrato a un dispositivo de detección para su análisis.

En una realización, un ensayo de inmunoabsorción no utiliza una molécula de captura. En esta realización, se aplica una muestra biológica recogida de un animal al sustrato, tal como un pocillo de placa de microtitulación o una tira reactiva, y se
5 incuba en condiciones adecuadas para permitir la unión de IgE al sustrato. Cualquier IgE presente en el fluido corporal se inmoviliza sobre el sustrato. El material no unido en exceso, si lo hubiera, se elimina del sustrato en condiciones que conserven la unión de IgE al sustrato. Se añade una molécula de Fc_εRα
10 equino al sustrato y se incuba para permitir la formación de un complejo entre la molécula de Fc_εRα equino y la IgE. Preferiblemente, se conjuga la molécula de Fc_εRα equino con un marcador detectable (preferiblemente con biotina, con un marcador enzimático o con un marcador fluorescente). Se elimina
15 la molécula de Fc_εRα equino en exceso, si se requiere se añade un agente de revelado, y se somete el sustrato a un dispositivo de detección para su análisis.

Otro método preferido para detectar IgE es un ensayo de flujo lateral, del que se dan a conocer ejemplos en la patente
20 estadounidense n.º 5.424.193, expedida el 13 de junio de 1995, de Pronovost *et al.*; la patente estadounidense n.º 5.415.994, expedida el 16 de mayo de 1995, de Imrich *et al.*; el documento WO 94/29696, publicado el 22 de diciembre de 1994, de Miller *et al.*; y el documento WO 94/01775, publicado el 20 de enero de
25 1994, de Pawlak *et al.* En una realización, se coloca una muestra biológica en un aparato de flujo lateral que incluye los siguientes componentes: (a) una estructura de soporte que define una trayectoria de flujo; (b) un reactivo de marcado que comprende una perla conjugada con un antígeno, impregnándose el
30 reactivo de marcado dentro de la estructura de soporte en una zona de marcado; y (c) un reactivo de captura que comprende una composición de unión a IgE. Los antígenos preferidos incluyen los dados a conocer en el presente documento. El reactivo de captura se ubica aguas abajo del reactivo de marcado dentro de
35 una zona de captura conectada de manera fluida con la zona de

marcado de tal manera que el reactivo de marcado puede fluir desde la zona de marcado hacia la zona de captura.

La estructura de soporte comprende un material que no obstruye el flujo de las perlas desde la zona de marcado hasta la zona de captura. Los materiales adecuados para su uso como una estructura de soporte incluyen material iónico (es decir, aniónico o catiónico). Ejemplos de un material de este tipo incluyen, pero no se limitan a, nitrocelulosa (NC), PVDF, carboximetilcelulosa (CM). La estructura de soporte define una trayectoria de flujo que es lateral y está dividida en zonas, denominadas una zona de marcado y una zona de captura. El aparato puede comprender además una zona de recepción de muestra ubicada a lo largo de la trayectoria de flujo, más preferiblemente aguas arriba del reactivo de marcado. La trayectoria de flujo en la estructura de soporte se crea poniendo en contacto una parte de la estructura de soporte aguas abajo de la zona de captura, preferiblemente al final de la trayectoria de flujo, con un absorbente que puede absorber el líquido en exceso de las zonas de marcado y captura.

En esta realización, se aplica la muestra biológica a la zona de recepción de muestra que incluye una parte de la estructura de soporte. La zona de marcado recibe la muestra desde la zona de recepción de muestra que se dirige aguas abajo mediante la trayectoria de flujo. La zona de marcado comprende el reactivo de marcado que se une a la IgE. Un reactivo de marcado preferido es un antígeno conjugado, o bien directamente o bien a través de un ligador, con un sustrato de perla de plástico, tal como con una perla de látex. El sustrato también incluye un marcador detectable, preferiblemente un marcador colorimétrico. Normalmente, se impregna el reactivo de marcado en la estructura de soporte mediante secado o liofilización. La estructura de muestra también comprende una zona de captura aguas abajo de la zona de marcado. La zona de captura recibe reactivo de marcado desde la zona de marcado que se dirige aguas abajo mediante la trayectoria de flujo. La zona de captura contiene el reactivo de captura, en este caso una molécula de

Fc_εRα equino, tal como se dio a conocer anteriormente, que inmoviliza la IgE complejada con el antígeno en la zona de captura. El reactivo de captura se fija preferiblemente a la estructura de soporte mediante secado o liofilización. El
5 reactivo de marcado se acumula en la zona de captura y se evalúa la acumulación visualmente o mediante un dispositivo de detección óptica.

En otra realización, un aparato de flujo lateral usado para detectar IgE incluye: (a) una estructura de soporte que define
10 una trayectoria de flujo; (b) un reactivo de marcado que comprende una molécula de Fc_εRα equino tal como se describió anteriormente, el reactivo de marcado impregnado dentro de la estructura de soporte en una zona de marcado; y (c) un reactivo de captura que comprende un antígeno, estando ubicado el
15 reactivo de captura aguas abajo del reactivo de marcado dentro de una zona de captura conectada de manera fluida a la zona de marcado de tal manera que el reactivo de marcado puede fluir desde la zona de marcado hacia la zona de captura. El aparato también incluye preferiblemente una zona de recepción de muestra
20 ubicada a lo largo de la trayectoria de flujo, preferiblemente aguas arriba del reactivo de marcado. El aparato también incluye preferiblemente un absorbente ubicado al final de la trayectoria de flujo.

Una realización de la presente invención se refiere a un
25 ensayo de inhibición en el que se determina la presencia de IgE en una composición que contiene la supuesta IgE, añadiendo tal composición a una molécula de Fc_εRα equino de la presente invención y una IgE aislada que se sabe que se une a la molécula de Fc_εRα equino. La ausencia de la unión de la molécula de Fc_εRα equino a la IgE conocida indica la presencia de IgE en la
30 composición que contiene la supuesta IgE. La IgE conocida se conjuga preferiblemente con un marcador detectable.

La presente invención también se refiere a kits para detectar IgE basados en cada uno de los métodos de detección
35 dados a conocer. Una realización es un kit para detectar IgE que comprende una proteína Fc_εRα equina y un medio para detectar una

IgE. La proteína $Fc_\epsilon R\alpha$ equina preferida y adecuada se da a conocer en el presente documento. Los medios adecuados de detección incluyen compuestos dados a conocer en el presente documento que se unen o bien a la proteína $Fc_\epsilon R\alpha$ equina o bien a una IgE. Un kit preferido de la presente invención comprende además un medio de detección que incluye uno o más antígenos dados a conocer en el presente documento, un anticuerpo que puede unirse selectivamente a una IgE dada a conocer en el presente documento y/o a un compuesto que puede unirse a un marcador detectable conjugado con una proteína $Fc_\epsilon R\alpha$ equina (por ejemplo, avidina, estreptavidina y neutravidina de ImmunoPure® cuando el marcador detectable es biotina). Tales antígenos preferiblemente inducen la producción de anticuerpos IgE en animales, incluyendo equinos, caninos y/o felinos.

Otro kit preferido de la presente invención es un kit de alérgeno general que comprende un alérgeno común en todas las regiones de los Estados Unidos y una proteína $Fc_\epsilon R\alpha$ equina de la presente invención. Tal como se usa en el presente documento, un kit de "alérgeno general" se refiere a un kit que comprende alérgenos que se encuentran sustancialmente en la totalidad de los Estados Unidos (es decir, esencialmente no limitado para ciertas regiones de los Estados Unidos). Un kit de alérgeno general proporciona una ventaja con respecto a los kits de alérgenos regionales porque puede usarse un solo kit para someter a prueba un animal ubicado en la mayoría de ubicaciones geográficas de los Estados Unidos. Los alérgenos generales preferidos y adecuados para su uso con un kit de alérgeno general de la presente invención incluyen aquellos alérgenos generales dados a conocer en el presente documento.

Otro kit preferido de la presente invención es un kit de alérgeno de polvo de pienso y/o de pienso que comprende un alérgeno de polvo de pienso y/o de pienso incluyendo trigo, maíz, alfalfa, heno, paja, avena, granos, subproductos de granos procesados y pastos y/o polvos de los mismos, y una molécula de $Fc_\epsilon R\alpha$ equino de la presente invención. Pueden usarse kits para detectar la hipersensibilidad a piensos y/o alérgenos de polvo

de pienso en combinación con un alérgeno de moho que se produce comúnmente en tales piensos.

Un kit preferido de la presente invención incluye aquellos en los que se inmoviliza el alérgeno sobre un sustrato. Si un
5 kit comprende dos o más antígenos, el kit puede comprender una o más composiciones, comprendiendo cada composición un antígeno. Como tal, cada antígeno puede someterse a prueba por separado. Un kit también puede contener dos o más reactivos de diagnóstico para IgE, anticuerpos y/o antígenos de IgE aislados adicionales
10 tal como se dan a conocer en el presente documento. Se prefieren particularmente los kits usados en un formato de ensayo de flujo lateral. Se encuentra dentro del alcance de la presente invención que un kit de ensayo de flujo lateral puede incluir uno o más aparatos de ensayo de flujo lateral. Los múltiples
15 aparatos de flujo lateral pueden conectarse entre sí en un extremo de cada aparato, creando de ese modo una estructura similar a un abanico.

En particular, un método y un kit de la presente invención son útiles para diagnosticar estados anómalos en animales que se
20 asocian con niveles cambiantes de IgE. Los estados particularmente preferidos para diagnosticar incluyen alergias, infecciones parasitarias y neoplasias. Por ejemplo, Un método y un kit de la presente invención son particularmente útiles para detectar la hipersensibilidad a la picadura de jejenes del
25 género *Culicoides* cuando tal método o kit incluye el uso de un antígeno de *Culicoides*. Preferiblemente, una composición que contiene la supuesta IgE se obtiene de un animal del que se sospecha que es hipersensible a las picaduras de *Culicoides*. Un método y un kit de la presente invención también son útiles para
30 detectar dermatitis alérgica por picadura de pulga (FAD), cuando tal método o kit incluye el uso de antígenos de pulga, preferiblemente antígenos de saliva de pulga. FAD se define como una respuesta de hipersensibilidad a las picaduras de pulga. Preferiblemente, se obtiene una composición que contiene la
35 supuesta IgE de un animal del que se sospecha que tiene FAD. Los

animales preferidos incluyen los dados a conocer en el presente documento, siendo más preferidos los caballos, perros y gatos.

Una realización de la presente invención es una composición terapéutica que, cuando se administra a un animal de una manera eficaz, puede reducir reacciones mediadas por el receptor Fc asociadas con enfermedades relacionadas con respuestas biológicas que implican la función del receptor Fc. Una composición terapéutica de la presente invención puede incluir: una proteína $Fc\epsilon R\alpha$ equina aislada, o un homólogo de la misma; un mimotopo de una proteína $Fc\epsilon R\alpha$ equina; una molécula de ácido nucleico aislada que se hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con un gen de $Fc\epsilon R\alpha$ equino; un anticuerpo aislado que se une selectivamente a una proteína $Fc\epsilon R\alpha$ equina; y/o un inhibidor que interfiere con la formación de un complejo entre una proteína $Fc\epsilon R\alpha$ equina e IgE.

Una realización de la composición terapéutica de la presente invención es un compuesto terapéutico que comprende una molécula de $Fc\epsilon R\alpha$ equino de la presente invención, que se une a una IgE. Según la presente invención, una molécula de $Fc\epsilon R\alpha$ equino compite por IgE con receptores Fc épsilon que se producen naturalmente, particularmente aquellos en células de mastocitoma, mastocitos o basófilos, de modo que la IgE se une a la molécula de $Fc\epsilon R\alpha$ equino administrada y, por tanto, no puede unirse al receptor Fc épsilon en una célula, inhibiendo de ese modo la mediación de una respuesta biológica. La molécula de $Fc\epsilon R\alpha$ equino preferida para su uso en una composición terapéutica comprende una proteína $Fc\epsilon R\alpha$ equina, o un homólogo de la misma, tal como se describe en el presente documento, particularmente un fragmento de la misma, que se une a IgE. Las moléculas de $Fc\epsilon R\alpha$ equino para su uso en una composición terapéutica pueden estar en una forma monovalente y/o multivalente, siempre que la molécula de $Fc\epsilon R\alpha$ equino pueda unirse a IgE. Una molécula de $Fc\epsilon R\alpha$ equino más preferida para su uso en una composición terapéutica incluye un fragmento soluble

de una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina. Una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina preferida está codificada por $\text{neqFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{603}$ y una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina incluso más preferida es $\text{PequFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{201}$.

5 Ejemplos de moléculas de ácido nucleico adecuadas para su uso en una composición terapéutica de la presente invención se dan a conocer en el presente documento.

Otra realización de una composición terapéutica de la presente invención comprende un compuesto terapéutico que interfiere con la formación de un complejo entre proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina e IgE, habitualmente uniéndose a o interaccionando de otro modo con o modificando de otro modo el sitio de unión a IgE de la proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina. Los inhibidores de la proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina también pueden interaccionar con otras regiones de la proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina para inhibir la actividad de la proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina, por ejemplo, mediante interacción alostérica. Un inhibidor de una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina puede interferir en la formación del complejo de proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina e IgE, por ejemplo, evitando la formación de un complejo de proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina e IgE o alterando un complejo de proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina e IgE existente provocando que se disocien la proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ e IgE. Un inhibidor de una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina es habitualmente una molécula relativamente pequeña. Preferiblemente, un inhibidor de la proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina de la presente invención se identifica por su capacidad para unirse a, o interaccionar de otro modo con, una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina, interfiriendo de ese modo en la formación de un complejo entre una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina e IgE.

Los inhibidores preferidos de una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, un análogo de sustrato de una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina, un mimotopo de una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina, una parte soluble (es decir, forma secretada de una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina) de una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina que se une a IgE, y otras moléculas que unen a una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina (por ejemplo, a un sitio alostérico) de

tal manera que se inhibe la actividad de unión a IgE de la proteína Fc ϵ R α equina. Un análogo de sustrato de proteína Fc ϵ R α equina se refiere a un compuesto que interacciona con (por ejemplo, se une a, se asocia con, modifica) el sitio de unión a

5 IgE de una proteína Fc ϵ R α equina. Un análogo de sustrato de proteína Fc ϵ R α equina preferido inhibe la actividad de unión a IgE de una proteína Fc ϵ R α equina. Los análogos de sustrato de proteína Fc ϵ R α equina pueden ser de cualquier composición orgánica o inorgánica, y, como tal, pueden ser, pero no se

10 limitan a, péptidos, ácidos nucleicos y compuestos peptidomiméticos. Los análogos de sustrato de proteína Fc ϵ R α equina pueden ser, pero es necesario que lo sean, similares estructuralmente a un sustrato natural de proteína Fc ϵ R α equina (por ejemplo, IgE) siempre que puedan interaccionar con el sitio

15 activo (por ejemplo, sitio de unión a IgE de ese Fc ϵ R α equino). Los análogos de sustrato de proteína Fc ϵ R α equina pueden diseñarse usando estructuras generadas por ordenador de proteínas Fc ϵ R α equinas de la presente invención o estructuras por ordenador de, por ejemplo, el dominio Fc de IgE. Los

20 análogos de sustrato también pueden obtenerse generando muestras aleatorias de moléculas, tales como oligonucleótidos, péptidos, compuestos peptidomiméticos, u otras moléculas orgánicas o inorgánicas, y examinando tales muestras mediante técnicas de cromatografía de afinidad usando la pareja de unión

25 correspondiente, (por ejemplo, una proteína Fc ϵ R α equina o anticuerpo idiotípico anti-Fc ϵ R α equino). Un análogo de sustrato de proteína Fc ϵ R α equina preferido es un compuesto peptidomimético (es decir, un compuesto que es similar estructural y/o funcionalmente a un sustrato natural de una

30 proteína Fc ϵ R α equina de la presente invención, particularmente a la región del sustrato que se une a una proteína Fc ϵ R α equina, pero que inhibe la unión a IgE en la interacción con el sitio de unión a IgE).

Las moléculas de Fc ϵ R α equino, así como otros compuestos inhibidores y terapéuticos, pueden usarse directamente como compuestos en composiciones de la presente invención para tratar animales siempre que tales compuestos no sean nocivos para los animales que estén tratándose.

La presente invención también incluye una composición terapéutica que comprende uno o más compuestos terapéuticos de la presente invención. Ejemplos de tales compuestos terapéuticos se dan a conocer en el presente documento.

En una realización, una composición terapéutica de la presente invención puede usarse para reducir una respuesta biológica mediada por el receptor Fc ϵ psilon en un animal administrando una composición de este tipo a un animal. Preferiblemente, se trata un animal administrando al animal una composición terapéutica de la presente invención de tal manera que un compuesto terapéutico (por ejemplo, un inhibidor de una proteína Fc ϵ R α equina, un anticuerpo anti-Fc ϵ R α equino, un inhibidor de IgE, o moléculas de ácido nucleico que codifican para proteínas Fc ϵ R α equinas) se une a una IgE o un receptor Fc ϵ psilon en el animal. Tal administración podría ser por una variedad de vías conocidas por los expertos en la técnica incluyendo, pero sin limitarse a, vías subcutánea, intradérmica, intravenosa, intranasal, oral, con aerosol, transdérmica, intramuscular y otras vías parenterales.

Las composiciones de la presente invención pueden administrarse a cualquier animal que tiene un receptor Fc ϵ psilon o una IgE que se une a un compuesto terapéutico de la presente invención o a una proteína expresada por una molécula de ácido nucleico contenida en una composición terapéutica. Los animales preferidos para tratar incluyen mamíferos y aves, con caballos, perros, gatos, seres humanos y otras mascotas, animales de trabajo y/o para alimentación económica. Animales preferidos para proteger son caballos, gatos y perros.

Las composiciones terapéuticas de la presente invención pueden formularse en un excipiente que pueda tolerar el animal que va a tratarse. Los ejemplos de tales excipientes incluyen

agua, solución salina, disolución de Ringer, disolución de dextrosa, disolución de Hank, y otras soluciones salinas acuosas fisiológicamente equilibradas. También pueden usarse vehículos no acuosos, tales como aceites fijos, aceite de sésamo, oleato de etilo o triglicéridos. Otras formulaciones útiles incluyen suspensiones que contienen agentes potenciadores de la viscosidad, tales como carboximetilcelulosa sódica, sorbitol o dextrano. Los excipientes también pueden contener cantidades menores de aditivos, tales como sustancias que potencian la isotonicidad y estabilidad química. Los ejemplos de tampones incluyen tampón fosfato, tampón bicarbonato y tampón Tris, mientras que los ejemplos de conservantes incluyen timerosal, o-cresol, formalina y alcohol bencílico. Las formulaciones convencionales pueden ser o bien inyectables líquidos o sólidos que pueden llevarse a un líquido adecuado como una suspensión o disolución para inyección. Por tanto, en una formulación no líquida, el excipiente puede comprender dextrosa, albúmina sérica humana, conservantes, etc., a los que puede añadirse solución salina o agua estéril antes de la administración.

En una realización de la presente invención, una composición terapéutica puede incluir un adyuvante. Los adyuvantes son agentes que pueden potenciar la respuesta inmunitaria de un animal frente a un antígeno específico. Los adyuvantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, citocinas, quimiocinas y compuestos que inducen la producción de citocinas y quimiocinas (por ejemplo, factor estimulante de colonias de macrófagos y granulocitos (GM-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor estimulantes de colonias de macrófagos (M-CSF), factor estimulante de colonias (CSF), eritropoyetina (EPO), interleucina 2 (IL-2), interleucina 3 (IL-3), interleucina 4 (IL-4), interleucina 5 (IL-5), interleucina 6 (IL-6), interleucina 7 (IL-7), interleucina 8 (IL-8), interleucina 10 (IL-10), interleucina 12 (IL-12), interferón gamma, factor inductor de interferón gamma I (IGIF), factor de crecimiento transformante beta, RANTES (regulado con la activación, expresado y presumiblemente secretado en células

T normales), proteínas inflamatorias de macrófagos (por ejemplo, MIP-1 alfa y MIP-1 beta), y factor de iniciación de elongación de Leishmania (LEIF); componentes bacterianos (por ejemplo, endotoxinas, en particular superantígenos, exotoxinas y componentes de la pared celular); sales a base de aluminio; sales a base de calcio; sílice; polinucleótidos; toxoides; proteínas séricas; proteínas de la cubierta viral; adyuvantes de copolímero de bloque (por ejemplo, adyuvante Titermax™ de Hunter (Vaxcel™, Inc. Norcross, GA), adyuvantes Ribi (Ribi ImmunoChem Research, Inc., Hamilton, MT); y saponinas y sus derivados (por ejemplo, Quil A (Superfos Biosector A/S, Dinamarca). Los adyuvantes de proteína de la presente invención pueden suministrarse en la forma de las propias proteínas o de moléculas de ácido nucleico que codifican para tales proteínas usando los métodos descritos en el presente documento.

En una realización de la presente invención, una composición terapéutica puede incluir un portador. Los portadores incluyen compuestos que aumentan la semivida de una composición terapéutica en el animal tratado. Los portadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, vehículos de liberación controlada poliméricos, implantes biodegradables, liposomas, bacterias, virus, otras células, aceites, ésteres y glicoles.

Una realización de la presente invención es una formulación de liberación controlada que puede liberar lentamente una composición de la presente invención en un animal. Tal como se usa en el presente documento, una formulación de liberación controlada comprende una composición de la presente invención en un vehículo de liberación controlada. Los vehículos de liberación controlada adecuados incluyen, pero no se limitan a, polímeros biocompatibles, otras matrices poliméricas, cápsulas, microcápsulas, micropartículas, preparaciones en bolo, bombas osmóticas, dispositivos de difusión, liposomas, lipoesferas y sistemas de suministro transdérmica. Otras formulaciones de liberación controlada de la presente invención incluyen líquidos que, con la administración a un animal, forman un sólido o un

gel *in situ*. Las formulaciones de liberación controlada preferidas son biodegradables (es decir, bioerosionables).

Una formulación de liberación controlada preferida de la presente invención puede liberar una composición de la presente invención en la sangre de un animal a una velocidad constante suficiente para conseguir niveles de dosis terapéuticas de la composición para reducir respuestas biológicas mediadas por el receptor Fc épsilon en el animal. Tal como se usa en el presente documento, una respuesta biológica mediada por el receptor Fc épsilon se refiere a respuestas celulares que se producen cuando se compleja el receptor Fc épsilon con IgE. Por ejemplo, una respuesta biológica mediada por el receptor Fc épsilon incluye la liberación de mediadores biológicos, tales como histamina, prostaglandinas y/o proteasas, que pueden desencadenar síntomas clínicos de alergia. La composición terapéutica se libera preferiblemente durante un período de tiempo que oscila desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 12 meses. Una formulación de liberación controlada preferida de la presente invención puede efectuar un tratamiento preferiblemente durante al menos aproximadamente 1 mes, más preferiblemente durante al menos aproximadamente 3 meses, incluso más preferiblemente durante al menos aproximadamente 6 meses, incluso más preferiblemente durante al menos aproximadamente 9 meses, e incluso más preferiblemente durante al menos aproximadamente 12 meses.

Los protocolos aceptables para administrar composiciones terapéuticas de la presente invención de una manera eficaz incluyen tamaño de dosis individual, número de dosis, frecuencia de administración de dosis y modo de administración. Los expertos en la técnica pueden realizar la determinación de tales protocolos. Una dosis única adecuada es una dosis que puede proteger (es decir, prevenir o tratar) a un animal frente a una enfermedad cuando se administra una o más veces durante un período de tiempo adecuado. La necesidad de administraciones adicionales de una composición terapéutica puede determinarla un experto en la técnica según el estado dado de un paciente. Por

ejemplo, para regular una respuesta mediada por el receptor Fc épsilon específico de antígeno, puede administrarse una composición terapéutica con más frecuencia cuando un antígeno está presente en el entorno de un paciente en grandes cantidades y con menos frecuencia cuando el antígeno está presente en cantidades menores.

Según una realización, puede administrarse una molécula de ácido nucleico de la presente invención a un animal de manera que permita la expresión de esa molécula de ácido nucleico para dar una proteína Fc γ R α equina o un ARN de Fc γ R α equino (por ejemplo, ARN antisentido, ribozima, formas de triple hélice o fármaco de ARN) en el animal. Las moléculas de ácido nucleico pueden suministrarse a un animal con una variedad de métodos incluyendo, pero sin limitarse a, (a) administrar una molécula de ácido nucleico desnudo (es decir, no empaquetado en una cubierta viral o membrana celular) (por ejemplo, como moléculas de ARN o ADN desnudo, tal como se enseña, por ejemplo en Wolff *et al.*, 1990, *Science* 247, 1465-1468) o (b) administrar una molécula de ácido nucleico empaquetado como un virus recombinante o como una célula recombinante (es decir, la molécula de ácido nucleico se suministra mediante un vehículo celular o viral).

Una molécula de ácido nucleico desnudo de la presente invención incluye una molécula de ácido nucleico de la presente invención e incluye preferiblemente una molécula recombinante de la presente invención que preferiblemente es competente en la replicación, o de otro modo en la amplificación. Un ácido nucleico desnudo de la presente invención puede comprender una o más moléculas de ácido nucleico de la presente invención en la forma de, por ejemplo, una molécula recombinante bicistrónica que tiene, por ejemplo uno o más sitios internos de entrada al ribosoma. Las moléculas de ácido nucleico desnudo preferidas incluyen al menos una parte de un genoma viral (es decir, un vector viral). Los vectores virales preferidos incluyen los basados en alfavirus, poxvirus, adenovirus, herpesvirus, picornavirus, y retrovirus, prefiriéndose particularmente los

basados en alfavirus (tales como virus Sindbis o Semliki), herpesvirus específicos de la especie y poxvirus específicos de la especie. Puede usarse cualquier secuencia de control de la transcripción adecuada, incluyendo aquellas dadas a conocer como

5 adecuadas para la producción de proteínas. La secuencia de control de la transcripción particularmente preferida incluye secuencias de expresión temprana intermedia de citomegalovirus (preferiblemente en conjunto con el intrón A), repetición

10 terminal larga del virus del sarcoma de Rous y de control de la transcripción específica de tejido, así como secuencias de control de la transcripción endógenas en vectores virales si se usan vectores virales. También se prefiere la incorporación de secuencias de poli(A) "fuertes".

Las moléculas de ácido nucleico desnudo de la presente

15 invención pueden administrarse mediante una variedad de métodos. Los métodos de suministro adecuados incluyen, por ejemplo, inyección intramuscular, inyección subcutánea, inyección intradérmica, escarificación intradérmica, bombardeo de partículas, aplicación oral y aplicación nasal, prefiriéndose la

20 inyección intramuscular, inyección intradérmica, escarificación intradérmica y bombardeo de partículas. Una dosis única preferida de una molécula de ADN desnudo oscila desde aproximadamente 1 nanogramo (ng) hasta aproximadamente 1 miligramo (mg), dependiendo de la vía de administración y/o

25 método de suministro, tal como pueden determinar los expertos en la técnica. Se dan a conocer ejemplos de métodos de administración, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 5.204.253, de Brunner, et al., expedida el 20 de abril de 1993, la publicación PCT n.º WO 95/19799, publicada el 27 de julio de

30 1995, de McCabe y la publicación PCT n.º WO 95/05853, publicada el 2 de marzo de 1995, de Carson, et al. Las moléculas de ADN desnudo de la presente invención pueden estar contenidas en un excipiente acuoso (por ejemplo, solución salina tamponada con fosfato) y/o con un portador (por ejemplo, vehículos a base de

35 lípidos), o puede unirse a micropartículas (por ejemplo, partículas de oro).

Un virus recombinante de la presente invención incluye una molécula recombinante de la presente invención que se empaqueta en una cubierta viral y que puede expresarse en un animal tras la administración. Preferiblemente, la molécula recombinante es
5 deficiente en cuanto al empaquetamiento y/o codifica para un virus atenuado. Puede usarse una serie de virus recombinantes, incluyendo, pero sin limitarse a, los basados en alfavirus, poxvirus, adenovirus, herpesvirus, picornavirus y retrovirus. Los virus recombinantes preferidos son los basados en alfavirus
10 (tal como virus Sindbis), poxvirus de mapache, herpesvirus específicos de la especie y poxvirus específicos de la especie. Se da a conocer un ejemplo de métodos para producir y usar virus recombinantes de alfavirus en la publicación PCT n.º WO 94/17813, de Xiong *et al.*, publicada el 18 de agosto de 1994.

15 Cuando se administra a un animal, un virus recombinante relativo a la presente invención infecta las células en el animal receptor y dirige la producción de una proteína o molécula de ácido nucleico de ARN que puede reducir respuestas biológicas mediadas por el receptor Fc épsilon en el animal. Por
20 ejemplo, un virus recombinante que comprende una molécula de ácido nucleico de Fc_εRα equino de la presente invención se administra según un protocolo que da como resultado que el animal produce una cantidad de proteína o ARN suficiente para reducir respuestas biológicas mediadas por el receptor Fc
25 épsilon. Una dosis única preferida de un virus recombinante de la presente invención es de desde aproximadamente 1×10^4 hasta aproximadamente 1×10^7 unidades formadoras de placas (pfu) de virus por kilogramo de peso corporal del animal. Los protocolos de administración son similares a los descritos en el presente
30 documento para composiciones a base de proteínas, prefiriéndose las vías de administración subcutánea, intramuscular, intranasal y oral.

Una célula recombinante útil en una composición terapéutica de la presente invención incluye células recombinantes que
35 comprenden al menos un Fc_εRα equino de la presente invención. Las células recombinantes preferidas para esta realización

incluyen *Salmonella*, *E. coli*, *Listeria*, *Mycobacterium*, *S. frugiperda*, levaduras (incluyendo *Saccharomyces cerevisiae*), células recombinantes BHK, CV-1, mioblasto G8, COS (por ejemplo, COS-7), Vero, MDCK y CRFK. Una célula recombinante relativa a la
5 presente invención puede administrarse en una variedad de maneras pero tiene la ventaja de que puede administrarse por vía oral, preferiblemente a dosis que oscilan desde aproximadamente 10^8 hasta aproximadamente 10^{12} células por kilogramo de peso corporal. Los protocolos de administración son similares a los
10 descritos en el presente documento para composiciones de proteínas. Las células recombinantes pueden comprender células completas, células despojadas de las paredes celulares o lisados celulares.

Una realización se refiere a un método de inmunoterapia que
15 comprende las etapas de: (a) administrar a un animal una cantidad eficaz de una composición terapéutica seleccionada del grupo que consiste en un inhibidor de un $Fc\epsilon R\alpha$ equino y una proteína $Fc\epsilon R\alpha$ equina (incluyendo homólogos), en el que dicho $Fc\epsilon R\alpha$ equino puede unirse a IgE. Se dan a conocer en el presente
20 documento composiciones terapéuticas y métodos de administración adecuados. Según la presente invención, puede usarse una composición terapéutica de la presente invención para prevenir o aliviar síntomas asociados con respuestas biológicas mediadas por el receptor Fc épsilon.

25 La eficacia de una composición terapéutica de la presente invención para efectuar respuestas biológicas mediadas por el receptor Fc épsilon pueden someterse a prueba usando métodos convencionales para detectar inmunidad mediada por el receptor Fc incluyendo, pero sin limitarse a, hipersensibilidad
30 inmediata, hipersensibilidad retardada, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), actividad del complejo inmunitario, actividad mitogénica, ensayos de liberación de histamina y otros métodos tales como los descritos en Janeway et al., *ibíd.*

35 Puede identificarse un inhibidor de la actividad de $Fc\epsilon R\alpha$ equino usando proteínas $Fc\epsilon R\alpha$ equinas de la presente invención

determinando la capacidad de un inhibidor de evitar o alterar la formación del complejo entre una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina e IgE. Una realización se refiere a un método para identificar un compuesto que puede inhibir la actividad de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino. Un
5 método de este tipo incluye las etapas de (a) poner en contacto (por ejemplo, combinando, mezclando) una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina aislada con un supuesto compuesto inhibidor en condiciones en las que, en ausencia del compuesto, la proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina tiene actividad de unión a IgE, y (b) determinar si el supuesto
10 compuesto inhibidor inhibe la actividad de unión a IgE. Los supuestos compuestos inhibidores que van a examinarse incluyen moléculas orgánicas pequeñas, anticuerpos (incluyendo mimotopos de los mismos) y análogos de sustratos. Los métodos para determinar la actividad de unión a IgE los conocen los expertos
15 en la técnica.

La presente invención también incluye un kit de prueba para identificar un compuesto que puede inhibir la actividad de $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equino. Un kit de prueba de este tipo incluye: una proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina aislada que tiene actividad de unión a IgE o un
20 complejo de proteína $\text{Fc}_\epsilon\text{R}\alpha$ equina e IgE; y un medio para determinar el grado de inhibición de la actividad de unión a IgE en presencia de (es decir, efectuado mediante) un supuesto compuesto inhibidor. Tales compuestos también se examinan para identificar aquellos que son sustancialmente no tóxicos en
25 animales.

Los siguientes ejemplos se proporcionan con fines de ilustración y no pretenden limitar el alcance de la presente invención.

30 EJEMPLOS

Debe observarse que los ejemplos incluyen una serie de técnicas de biología molecular, microbiología, inmunología y bioquímica que se considera que conocen los expertos en la técnica. La descripción de tales técnicas puede encontrarse, por
35 ejemplo, en Sambrook *et al.*, *ibid.*, y referencias relacionadas.

Ejemplo 1

Este ejemplo describe el aislamiento, mediante hibridación de ADN, de una molécula de ácido nucleico que codifica para una
5 cadena Fc ϵ R α de *Equus caballus*.

Se aisló esta molécula de ácido nucleico a partir de una biblioteca de ADNc de capa leucocitaria de caballo por su capacidad de hibridarse con un ADNc marcado con ^{32}P que codifica para la cadena Fc ϵ R α de ser humano (Kotchan *et al.*, *Nucleic*
10 *Acids Res.* 16:3584, 1988). Se preparó la biblioteca de ADNc de capa leucocitaria de caballo tal como sigue. Se extrajo el ARN total de 400 mililitros (ml) de capa leucocitaria preparada a partir de aproximadamente 1 litro de sangre de caballo reciente, usando el método de ácido-guanidinio-fenol-cloroformo descrito de
15 manera general en Chomzynski *et al.*, 1987, *Anal. Biochem.*, vol. 162, págs. 156-159. Se aisló ARN-poli A $^{+}$ de la preparación de ARN total usando el kit de purificación de ARNm (disponible de Pharmacia Biotech, Newark, NJ), según el método recomendado por el fabricante. Se construyó la biblioteca de ADNc de capa
20 leucocitaria de caballo en el vector lambda-Uni-ZAP $^{\text{TM}}$ XR (disponible de Stratagene, La Jolla, CA), usando el protocolo de kit de síntesis de ZAP-ADNc de Stratagene. Se usaron aproximadamente 5 miligramos (mg) de ARN-poli A $^{+}$ para producir la biblioteca de ADNc de capa leucocitaria de caballo.

25 Se examinó la biblioteca de ADNc de capa leucocitaria de caballo, usando elevadores de filtro de placas por duplicado, con un ADNc marcado con ^{32}P que codifica para la cadena Fc ϵ R α de ser humano en las siguientes condiciones. Se prehibridaron los filtros y se hibridaron en una disolución de hibridación que
30 incluía SSC 5X, Denhardt's 5X, SDS al 5% y ADN de esperma de salmón 10 $\mu\text{g/ml}$. Después se lavaron los filtros con un tampón de agua que incluía SSC 0,2X y SDS al 0,1% a aproximadamente 55°C. Se purificó una placa identificada en el examen y se convirtió en una molécula recombinante bicatenaria, indicada en el
35 presente documento como neqFc ϵ R α_{1015} , usando el fago auxiliar ExAssist $^{\text{TM}}$ y *E.coli* SOLR $^{\text{TM}}$ según el protocolo de escisión *in vivo*

descrito en el kit de síntesis de ZAP-ADNc. Se preparó ADN de plásmido bicatenario usando un protocolo de lisis alcalina, tal como se describe en Sambrook *et al.*, *ibid.*

5 Ejemplo 2

Este ejemplo describe la secuenciación de una molécula de ácido nucleico de cadena $Fc_eR\alpha$ equina de la presente invención.

Se secuenció un plásmido que contenía $neqFc_eR\alpha_{1015}$ mediante el método de terminación de cadena didesoxi de Sanger, usando el
 10 kit de secuenciación Ready Dye Terminator Cycle PRISM™ con ADN polimerasa de Ampli Taq, FS (disponible de Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, CT). Se hicieron las extensiones de PCR en el sistema de PCR GeneAmp™ 9600 (disponible de Perkin-Elmer). Se
 15 eliminaron los terminadores de tinte en exceso de los productos de extensión usando el cartucho de filtración en gel Centriflex™ (disponible de Advanced Genetics Technologies Corporation, Gaithersburg, MD) siguiendo el protocolo convencional proporcionado por el fabricante. Se resuspendieron las muestras según los protocolos ABI y se corrieron en un secuenciador de
 20 ADN automatizado ABI PRISM™ 377 de Perkin-Elmer. Se realizaron el análisis de la secuencia de ADN, incluyendo la compilación de secuencias y la determinación de los marcos de lectura abiertos, usando el programa GCG™ (disponible de Genetics Computer Group, Madison, WI). Se realizó el análisis de la secuencia de
 25 proteínas, incluyendo la determinación del peso molecular y el punto isoeléctrico (pI) usando el programa GCG™.

Se determinó una secuencia consenso de aproximadamente 1015 nucleótidos del fragmento de ADN de $neqFc_eR\alpha_{1015}$ entero; las secuencias de las dos cadenas complementarias se presentan como
 30 SEQ ID NO:1 (la cadena codificante) y SEQ ID NO:3 (la cadena complementaria). La secuencia de $neqFc_eR\alpha_{1015}$ equino contiene una región codificante de longitud completa aparente. El codón de iniciación aparente abarca desde el nucleótido 12 hasta el nucleótido 14 y el codón de terminación aparente abarca desde el
 35 nucleótido 777 hasta el nucleótido 779, respectivamente, de SEQ ID NO:1. Una supuesta señal de poliadenilación (5' AATAA 3')

está ubicada en una región que abarca desde el nucleótido 976-981 de SEQ ID NO:1.

La traducción de SEQ ID NO:1 produce una proteína de aproximadamente 255 aminoácidos, indicada como PequFc_εRα₂₅₅, cuya

5 secuencia de aminoácidos se presenta en SEQ ID NO:2. La molécula de ácido nucleico que consiste en la región codificante que codifica para PequFc_εRα₂₅₅ se refiere en el presente documento como neqFc_εRα₇₆₅, cuya secuencia de ácido nucleico se representa en SEQ ID NO:4 (la cadena codificante) y SEQ ID NO:5 (la cadena

10 complementaria). La secuencia de aminoácidos de PequFc_εRα₂₅₅ (es decir, SEQ ID NO:2) pronostica que PequFc_εRα₂₅₅ tiene un peso molecular estimado de aproximadamente 29,4 kD y un pI estimado de aproximadamente 9,77. El análisis de SEQ ID NO:2 sugiere la presencia de un péptido señal que abarca desde el aminoácido 1

15 hasta el aminoácido 19. La proteína madura propuesta, indicada en el presente documento como PequFc_εRα₂₃₆, contiene aproximadamente 236 aminoácidos que se representan en el presente documento como SEQ ID NO:7. PequFc_εRα₂₃₆ está codificada por neqFc_εRα₇₀₈ que tiene una secuencia de ácido nucleico

20 representada en el presente documento como SEQ ID NO:6 y un complemento representado en el presente documento como SEQ ID NO:8. La secuencia de aminoácidos de PequFc_εRα₂₃₆ (es decir, SEQ ID NO:7) pronostica que PequFc_εRα₂₃₆ tiene un peso molecular estimado de aproximadamente 27,3 kD, un pI estimado de

25 aproximadamente 9,77 y siete sitios de glucosilación de unión a asparagina pronosticados que abarcan desde los aminoácidos 46-48, 60-62, 67-69, 79-81, 99-101, 160-162 y 195-197, respectivamente.

Se realizaron búsquedas de homología de bases de datos de

30 proteínas no redundantes y secuencias de nucleótidos a través del Centro Nacional para Información Biotecnológica usando la red BLAST. La base de datos de proteínas incluye SwissProt + PIR + SPUpdate + Genpept + GUpdate. La base de datos de nucleótidos incluye GenBank + EMBL + DDBJ + PDB. La mayor coincidencia de

35 puntuación de la búsqueda de homología en el nivel de

aminoácidos fue para el número de registro P12319 de SwissProt: cadena α del receptor de IgE de alta afinidad humano, que era idéntico en aproximadamente un 61% con SEQ ID NO:2. Al nivel de los nucleótidos, se realizó la búsqueda usando SEQ ID NO:1, que
 5 era la más similar al número de registro X06948 de GenBank, ARNm humano para la cadena alfa del receptor de inmunoglobulina E, que era idéntico en aproximadamente un 75% a SEQ ID NO:1.

Ejemplo 3

Este ejemplo demuestra la producción de una proteína de
 10 cadena $Fc_\epsilon R\alpha$ equina en células eucariotas.

Se produjo la molécula recombinante pFB-neqFc $\epsilon R\alpha$ ₆₀₃, que contiene una molécula de ácido nucleico de neqFc $\epsilon R\alpha$ equino que abarca desde los nucleótidos 12 hasta 614 de SEQ ID NO:1, operativamente unido a secuencias de control de la transcripción
 15 de poliedro de baculovirus de la siguiente manera. Se amplificó por PCR un fragmento que contenía una molécula de ácido nucleico de Fc $\epsilon R\alpha$ equino, de aproximadamente 603 nucleótidos a partir de neqFc $\epsilon R\alpha$ ₁₀₁₅ usando el cebador sentido EqIgErFor que tiene la secuencia de ácido nucleico 5' GCG **GGA TCC** TAT AAA TAT GCG TGC
 20 TCC CAT GGG 3' (SEQ ID NO:9; sitio *Bam*HI mostrado en negrita) y el cebador antisentido EqIgERRev que tiene la secuencia de ácido nucleico 5' GCG **CTG CAG** TTA AGC TTT TTT TAC AGT AAT GTT GAG 3' (SEQ ID NO:10; sitio *Pst*I mostrado en negrita). Se diseñó el cebador N-terminal a partir de la secuencia pol h de baculovirus
 25 con modificaciones para potenciar la expresión en el sistema de baculovirus.

El producto de PCR resultante, que representa la región codificante de neqFc $\epsilon R\alpha$ ₁₀₁₅, referido como Bv-neqFc $\epsilon R\alpha$ ₆₀₃ (designado en el presente documento SEQ ID NO:11) se digirió con
 30 *Bam*HI y *Pst*I y se subclonó en los sitios *Bam*HI y *Pst*I únicos del plásmido lanzadera de baculovirus pFASTBAC1 (disponible de Pharmingen, San Diego, CA) para producir la molécula recombinante referida en el presente documento como pFB-neqFc $\epsilon R\alpha$ ₆₀₃. La traducción de SEQ ID NO:11 indica que la molécula
 35 de ácido nucleico neqFc $\epsilon R\alpha$ ₆₀₃ codifica para una proteína Fc $\epsilon R\alpha$ de

aproximadamente 201 aminoácidos, referida en el presente documento como $\text{PequFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{201}$, que tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:12.

Se verificó la molécula recombinante resultante, pFB-neqFc ϵ R α_{603} , para determinar la orientación de inserción apropiada mediante el mapeo de restricción. Una molécula recombinante de este tipo puede cotransfectarse con un ADN de baculovirus Baculogold lineal (disponible de Pharmingen) en células Sf9 de *S. frugiperda* (disponible de InVitrogen, Carlsbad, CA) para formar la célula recombinante indicada como pFB-neqFc ϵ R α_{603} de *S. frugiperda*. La pFB-neqFc ϵ R α_{603} de *S. frugiperda* puede ponerse en cultivo usando condiciones conocidas por los expertos en la técnica con el fin de producir la proteína Fc ϵ R α equina, $\text{PequFc}_\epsilon\text{R}\alpha_{201}$ o una forma secretada de la misma.

Aunque se han descrito diversas realizaciones de la presente invención en detalle, es evidente que se les ocurrirán modificaciones y adaptaciones de esas realizaciones a los expertos en la técnica. Sin embargo, debe entenderse expresamente, que tales modificaciones son adaptaciones que están dentro del alcance de la presente invención, tal como se expone en las siguientes reivindicaciones.

LISTA DE SECUENCIAS

(1) INFORMACIÓN GENERAL:

(i) SOLICITANTE:

- 5 (A) NOMBRE: Heska Corporation
(B) CALLE: 1613 Prospect Parkway
(C) CIUDAD: Fort Collins
(D) ESTADO: CO
(E) PAÍS: EE.UU.
- 10 (F) CÓDIGO POSTAL (ZIP): 80525
(G) TELÉFONO: (970) 493-7272
(H) FAX: (970) 484-9505

- 15 (ii) TÍTULO DE LA INVENCION: MOLÉCULAS DE ÁCIDO NUCLEICO DE LA CADENA ALFA DEL RECEPTOR Fc ÉPSILON EQUINO NOVEDOSAS, PROTEÍNAS Y USOS DE LAS MISMAS

(iii) NÚMERO DE SECUENCIAS: 12

20 (iv) DIRECCIÓN POSTAL:

- (A) DESTINATARIO: LAHIVE & COCKFIELD, LLP
(B) CALLE: 28 STATE STREET
(C) CIUDAD: BOSTON
(D) ESTADO: MA
- 25 (E) PAÍS: EE.UU.
(F) CÓDIGO POSTAL: 02109

(v) FORMA LEGIBLE POR ORDENADOR:

- (A) TIPO DE MEDIO: DISCO FLEXIBLE
- 30 (B) ORDENADOR: IBM PC compatible
(C) SISTEMA OPERATIVO: Windows 95
(D) SOFTWARE: ASCII DOS TEXT

(vi) DATOS DE LA PRESENTE SOLICITUD:

- 35 (A) NÚMERO DE SOLICITUD:
(B) FECHA DE PRESENTACIÓN:

(C) CLASIFICACIÓN:

(vii) DATOS DE LA SOLICITUD ANTERIOR:

(A) NÚMERO DE SOLICITUD: 09/015.734

5 (B) FECHA DE PRESENTACIÓN: 29-ENE-1998

(viii) INFORMACIÓN DEL AGENTE/ABOGADO:

(A) NOMBRE: Hanley, Elizabeth A.

(B) NÚMERO DE REGISTRO: 33.505

10 (C) NÚMERO DE EXPEDIENTE/REFERENCIA: DI-4-PCT

(ix) INFORMACIÓN DE TELECOMUNICACIÓN:

(A) TELÉFONO: (617) 227-7400

(B) FAX: (617) 742-4214

15

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 1:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 1015 nucleótidos

20 (B) TIPO: ácido nucleico

(C) TIPO DE CADENA: sencilla

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc

25

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: CDS

(B) UBICACIÓN: 12..776

30 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 1

CCACAGAGGA G ATG CCT GCT CCC ATG GGA AGC CCT GCC CTG CTG	44
Met Pro Ala Pro Met Gly Ser Pro Ala Leu Leu	
1 5 10	
TGG ATA ACT TTT CTG CTC TTC TCT CTG GAT GGC GTG CCA GCA	86
Trp Ile Thr Phe Leu Leu Phe Ser Leu Asp Gly Val Pro Ala	
15 20 25	
GCC ATC CGG AAA TCT ACA GTG TCC TTG AAT CCC CCA TGG AAT	128
Ala Ile Arg Lys Ser Thr Val Ser Leu Asn Pro Pro Trp Asn	
30 35	
AGA ATA TTT CGA GGA GAG AAT GTG ACT CTT ACA TGT AAT AAG	170
Arg Ile Phe Arg Gly Glu Asn Val Thr Leu Thr Cys Asn Lys	
40 45 50	
AAC AAG CCC CTT AAA GGC AAC TCC ACT GAG TGG ACC TAC AAC	212
Asn Lys Pro Leu Lys Gly Asn Ser Thr Glu Trp Thr Tyr Asn	
55 60 65	
AAC ACC ACT TTA GAA GTG ACA ACT TCA AGT TTG AAC ATC ACT	254
Asn Thr Thr Leu Glu Val Thr Thr Ser Ser Leu Asn Ile Thr	
70 75 80	
AAT GCC TCA CAC CGG AGC AGT GGG GAA TAC AGA TGT CGG AAC	296
Asn Ala Ser His Arg Ser Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Arg Asn	
85 90 95	
AAT GAC TTG AAC CTG AGT GAA GCT GTG CAC CTA GAA GTT TTC	338
Asn Asp Leu Asn Leu Ser Glu Ala Val His Leu Glu Val Phe	
100 105	
AGT GAC TGG CTG CTC CTT CAG GCC TCT GCT GAG GAG GTC ATA	380
Ser Asp Trp Leu Leu Leu Gln Ala Ser Ala Glu Glu Val Ile	
110 115 120	
GAG GGT AAG GCC CTC GTT CTC AGG TGC CGT GGC TGG AAG GAT	422
Glu Gly Lys Ala Leu Val Leu Arg Cys Arg Gly Trp Lys Asp	
125 130 135	
TGG GAC GTC TTC AAG GTG ATC TAC TAC AAG GAT GGC AAA CCC	464
Trp Asp Val Phe Lys Val Ile Tyr Tyr Lys Asp Gly Lys Pro	
140 145 150	

CTC GAG TAC TGG TAT GAG AAC AAA AAC ATC TCC ATT GAA AGT	506
Leu Glu Tyr Trp Tyr Glu Asn Lys Asn Ile Ser Ile Glu Ser	
155 160 165	
GCC ACA ACA GAA AAC AGT GGC ACC TAT TAC TGC GAG GGT GCT	548
Ala Thr Thr Glu Asn Ser Gly Thr Tyr Tyr Cys Glu Gly Ala	
170 175	
TTT AAC TTT AAG CGA ACA AGT GAA CGC TAT ACC TCT GAT TAC	590
Phe Asn Phe Lys Arg Thr Ser Glu Arg Tyr Thr Ser Asp Tyr	
180 185 190	
CTC AAC ATT ACT GTA AAA AAA GCT GAG CAA AGC AAA CGC TAC	632
Leu Asn Ile Thr Val Lys Lys Ala Glu Gln Ser Lys Arg Tyr	
195 200 205	
TGG CTA CAA TTT ATT ATT CCA TTG TTG GTG GTG ATT CTG TTT	674
Trp Leu Gln Phe Ile Ile Pro Leu Leu Val Val Ile Leu Phe	
210 215 220	
GCT GTG GAC ACA GGA TTG TTT GTC TCG ACC CAG CAG CAG TTA	716
Ala Val Asp Thr Gly Leu Phe Val Ser Thr Gln Gln Gln Leu	
225 230 235	
ACA TTT CTC TTG AAG ATT AAG AGG ACC AGG AGA GGC AGA AAA	758
Thr Phe Leu Leu Lys Ile Lys Arg Thr Arg Arg Gly Arg Lys	
240 245	
CTT ATG GAC CCC CAT CCT TAAGTGAGAC CCGAGAAAGA ACTGATGTCA	806
Leu Met Asp Pro His Pro	
250 255	
CTGCTCAAGA AACCTTTGCA ACAGCAATTT CTTCCTGGCA TCAGCAATTG	856
CTTTTCAGTT GTCAAACACA GATCATAATG TACATAGAAA GGTCTATGCC	906
CACGGCTTTG CAGAATTGCA TCATTAACT AACTAGAACT GGTTAAGTGG	956
CATGTAATAG TAAGTGCTCA ATAAACATCA TTAAATAAA TATAAAAAAA	1006
AAAAAAA	1015

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 2:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

5

- (A) LONGITUD: 255 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: Proteína

10

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 2:

Met Pro Ala Pro Met Gly Ser Pro Ala Leu Leu Trp Ile Thr	
1 5 10	
Phe Leu Leu Phe Ser Leu Asp Gly Val Pro Ala Ala Ile Arg	
15 20 25	
Lys Ser Thr Val Ser Leu Asn Pro Pro Trp Asn Arg Ile Phe	
30 35 40	

```

Arg Gly Glu Asn Val Thr Leu Thr Cys Asn Lys Asn Lys Pro
      45                      50                      55

Leu Lys Gly Asn Ser Thr Glu Trp Thr Tyr Asn Asn Thr Thr
      60                      65                      70

Leu Glu Val Thr Thr Ser Ser Leu Asn Ile Thr Asn Ala Ser
      75                      80

His Arg Ser Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Arg Asn Asn Asp Leu
      85                      90                      95

Asn Leu Ser Glu Ala Val His Leu Glu Val Phe Ser Asp Trp
     100                      105                      110

Leu Leu Leu Gln Ala Ser Ala Glu Glu Val Ile Glu Gly Lys
     115                      120                      125

Ala Leu Val Leu Arg Cys Arg Gly Trp Lys Asp Trp Asp Val
     130                      135                      140

Phe Lys Val Ile Tyr Tyr Lys Asp Gly Lys Pro Leu Glu Tyr
     145                      150

Trp Tyr Glu Asn Lys Asn Ile Ser Ile Glu Ser Ala Thr Thr
     155                      160                      165

Glu Asn Ser Gly Thr Tyr Tyr Cys Glu Gly Ala Phe Asn Phe
     170                      175                      180

Lys Arg Thr Ser Glu Arg Tyr Thr Ser Asp Tyr Leu Asn Ile
     185                      190                      195

Thr Val Lys Lys Ala Glu Gln Ser Lys Arg Tyr Trp Leu Gln
     200                      205                      210

Phe Ile Ile Pro Leu Leu Val Val Ile Leu Phe Ala Val Asp
     215                      220

Thr Gly Leu Phe Val Ser Thr Gln Gln Gln Leu Thr Phe Leu
     225                      230                      235

Leu Lys Ile Lys Arg Thr Arg Arg Gly Arg Lys Leu Met Asp
     240                      245                      250

Pro His Pro
     255

```

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 3:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

5

- (A) LONGITUD: 1015 nucleótidos
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) TIPO DE CADENA: sencilla
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

10

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc

(iii) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 3:

TTTTTTTTTT	TTTTTTATAT	TTATTAAAT	GATGTTTATT	GAGCACTTAC	50
TATTACATGC	CACTTAACCA	GTTCTAGTTA	GTTTAATGAT	GCAATTCTGC	100
AAAGCCGTGG	GCATAGACCT	TTCTATGTAC	ATTATGATCT	GTGTTTGACA	150
ACTGAAAAGC	AATTGCTGAT	GCCAGGAAGA	AATTGCTGTT	GCAAAGGTTT	200
CTTGAGCAGT	GACATCAGTT	CTTCTCGGG	TCTCACTTAA	GGATGGGGGT	250
CCATAAGTTT	TCTGCCTCTC	CTGGTCCTCT	TAATCTTCAA	GAGAAATGTT	300
AACTGCTGCT	GGGTCGAGAC	AAACAATCCT	GTGTCCACAG	CAAACAGAAT	350
CACCACCAAC	AATGGAATAA	TAAATTGTAG	CCAGTAGCGT	TTGCTTTGCT	400
CAGCTTTTTT	TACAGTAATG	TTGAGGTAAT	CAGAGGTATA	GCGTTCCTT	450
GTTTCGCTTAA	AGTTAAAAGC	ACCCTCGCAG	TAATAGGTGC	CACTGTTTTT	500
TGTTGTGGCA	CTTTCATG	AGATGTTTTT	GTTCTCATAC	CAGTACTCGA	550
GGGGTTTGCC	ATCCTTGTAG	TAGATCACCT	TGAAGACGTC	CCAATCCTTC	600
CAGCCACGGC	ACCTGAGAAC	GAGGGCCTTA	CCCTCTATGA	CCTCCTCAGC	650
AGAGGCCTGA	AGGAGCAGCC	AGTCACTGAA	AACTTCTAGG	TGCACAGCTT	700
CACTCAGGTT	CAAGTCATTG	TTCCGACATC	TGTATTCCCC	ACTGCTCCGG	750
TGTGAGGCAT	TAGTGATGTT	CAAACCTGAA	GTTGTCACCT	CTAAAGTGGT	800
GTGTTGTAG	GTCCACTCAG	TGGAGTTGCC	TTTAAGGGGC	TTGTTCTTAT	850
TACATGTAAG	AGTCACATT	TCTCCTCGAA	ATATTCTATT	CCATGGGGGA	900
TTCAAGGACA	CTGTAGATTT	CCGGATGGCT	GCTGGCACGC	CATCCAGAGA	950
GAAGAGCAGA	AAAGTTATCC	ACAGCAGGGC	AGGGCTTCCC	ATGGGAGCAG	1000
GCATCTCCTC	TGTGG				1015

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 4:

5

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 765 nucleótidos

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) TIPO DE CADENA: sencilla

10

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc

(ix) CARACTERÍSTICA:

15

(A) NOMBRE/CLAVE: CDS

(B) UBICACIÓN: 1..765

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 4:

ATG CCT GCT CCC ATG GGA AGC CCT GCC CTG CTG TGG ATA ACT	42
Met Pro Ala Pro Met Gly Ser Pro Ala Leu Leu Trp Ile Thr	
1 5 10	
TTT CTG CTC TTC TCT CTG GAT GGC GTG CCA GCA GCC ATC CGG	84
Phe Leu Leu Phe Ser Leu Asp Gly Val Pro Ala Ala Ile Arg	
15 20 25	
AAA TCT ACA GTG TCC TTG AAT CCC CCA TGG AAT AGA ATA TTT	126
Lys Ser Thr Val Ser Leu Asn Pro Pro Trp Asn Arg Ile Phe	
30 35 40	
CGA GGA GAG AAT GTG ACT CTT ACA TGT AAT AAG AAC AAG CCC	168
Arg Gly Glu Asn Val Thr Leu Thr Cys Asn Lys Asn Lys Pro	
45 50 55	
CTT AAA GGC AAC TCC ACT GAG TGG ACC TAC AAC AAC ACC ACT	210
Leu Lys Gly Asn Ser Thr Glu Trp Thr Tyr Asn Asn Thr Thr	
60 65 70	
TTA GAA GTG ACA ACT TCA AGT TTG AAC ATC ACT AAT GCC TCA	252
Leu Glu Val Thr Thr Ser Ser Leu Asn Ile Thr Asn Ala Ser	
75 80	
CAC CGG AGC AGT GGG GAA TAC AGA TGT CGG AAC AAT GAC TTG	294
His Arg Ser Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Arg Asn Asn Asp Leu	
85 90 95	
AAC CTG AGT GAA GCT GTG CAC CTA GAA GTT TTC AGT GAC TGG	336
Asn Leu Ser Glu Ala Val His Leu Glu Val Phe Ser Asp Trp	
100 105 110	
CTG CTC CTT CAG GCC TCT GCT GAG GAG GTC ATA GAG GGT AAG	378
Leu Leu Leu Gln Ala Ser Ala Glu Glu Val Ile Glu Gly Lys	
115 120 125	
GCC CTC GTT CTC AGG TGC CGT GGC TGG AAG GAT TGG GAC GTC	420
Ala Leu Val Leu Arg Cys Arg Gly Trp Lys Asp Trp Asp Val	
130 135 140	
TTC AAG GTG ATC TAC TAC AAG GAT GGC AAA CCC CTC GAG TAC	462
Phe Lys Val Ile Tyr Tyr Lys Asp Gly Lys Pro Leu Glu Tyr	
145 150	
TGG TAT GAG AAC AAA AAC ATC TCC ATT GAA AGT GCC ACA ACA	504
Trp Tyr Glu Asn Lys Asn Ile Ser Ile Glu Ser Ala Thr Thr	
155 160 165	

GAA AAC AGT GGC ACC TAT TAC TGC GAG GGT GCT TTT AAC TTT	546
Glu Asn Ser Gly Thr Tyr Tyr Cys Glu Gly Ala Phe Asn Phe	
170 175 180	
AAG CGA ACA AGT GAA CGC TAT ACC TCT GAT TAC CTC AAC ATT	588
Lys Arg Thr Ser Glu Arg Tyr Thr Ser Asp Tyr Leu Asn Ile	
185 190 195	
ACT GTA AAA AAA GCT GAG CAA AGC AAA CGC TAC TGG CTA CAA	630
Thr Val Lys Lys Ala Glu Gln Ser Lys Arg Tyr Trp Leu Gln	
200 205 210	
TTT ATT ATT CCA TTG TTG GTG GTG ATT CTG TTT GCT GTG GAC	672
Phe Ile Ile Pro Leu Leu Val Val Ile Leu Phe Ala Val Asp	
215 220	
ACA GGA TTG TTT GTC TCG ACC CAG CAG CAG TTA ACA TTT CTC	714
Thr Gly Leu Phe Val Ser Thr Gln Gln Gln Leu Thr Phe Leu	
225 230 235	
TTG AAG ATT AAG AGG ACC AGG AGA GGC AGA AAA CTT ATG GAC	756
Leu Lys Ile Lys Arg Thr Arg Arg Gly Arg Lys Leu Met Asp	
240 245 250	
CCC CAT CCT	
Pro His Pro	
255	

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 5:

5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 765 nucleótidos
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) TIPO DE CADENA: sencilla
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

10

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 5:

15

```

AGGATGGGGG TCCATAAGTT TTCTGCCTCT CCTGGTCCTC TTAATCTTCA      50
AGAGAAATGT TAACTGCTGC TGGGTCGAGA CAAACAATCC TGTGTCCACA      100
GCAAACAGAA TCACCACCAA CAATGGAATA ATAAATTGTA GCCAGTAGCG      150
TTTGCTTTGC TCAGCTTTTT TTACAGTAAT GTTGAGGTAA TCAGAGGTAT      200
AGCGTTCACT TGTTGCTTA AAGTTAAAAG CACCCTCGCA GTAATAGGTG      250
CCACTGTTTT CTGTTGTGGC ACTTTCATG GAGATGTTT TGTTCTCATA      300
CCAGTACTCG AGGGGTTTGC CATCCTTGTA GTAGATCACC TTGAAGACGT      350
CCCAATCCTT CCAGCCACGG CACCTGAGAA CGAGGGCCTT ACCCTCTATG      400
ACCTCCTCAG CAGAGGCCTG AAGgAGCAGC CAGTCACTGA AACTTCTAG      450
GTGCACAGCT TCACTCAGGT TCAAGTCATT GTTCCGACAT CTGTATTCCTC      500
CACTGCTCCG GTGTGAGGCA TTAGTGATGT TCAAACCTGA AGTTGTCACT      550
TCTAAAGTGG TGTGTGTGTA GGTCCACTCA GTGGAGTTGC CTTTAAGGGG      600
CTTGTTCTTA TTACATGTAA GAGTCACATT CTCTCCTCGA AATATTCTAT      650
TCCATGGGGG ATTCAAGGAC ACTGTAGATT TCCGGATGGC TGCTGGCACG      700
CCATCCAGAG AGAAGAGCAG AAAAGTTATC CACAGCAGGG CAGGGCTTCC      750
CATGGGAGCA GGCAT                                             765

```

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 6:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- 5 (A) LONGITUD: 708 nucleótidos
 (B) TIPO: ácido nucleico
 (C) TIPO DE CADENA: sencilla
 (D) TOPOLOGÍA: lineal

10 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc

(ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: CDS
 (B) UBICACIÓN: 1..708

15 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 6:

```

CTG GAT GGC GTG CCA GCA GCC ATC CGG AAA TCT ACA GTG TCC      42
Leu Asp Gly Val Pro Ala Ala Ile Arg Lys Ser Thr Val Ser
  1               5               10

TTG AAT CCC CCA TGG AAT AGA ATA TTT CGA GGA GAG AAT GTG      84
Leu Asn Pro Pro Trp Asn Arg Ile Phe Arg Gly Glu Asn Val
  15             20             25

```

ACT CTT ACA TGT AAT AAG AAC AAG CCC CTT AAA GGC AAC TCC	126
Thr Leu Thr Cys Asn Lys Asn Lys Pro Leu Lys Gly Asn Ser	
30 35 40	
ACT GAG TGG ACC TAC AAC AAC ACC ACT TTA GAA GTG ACA ACT	168
Thr Glu Trp Thr Tyr Asn Asn Thr Thr Leu Glu Val Thr Thr	
45 50 55	
TCA AGT TTG AAC ATC ACT AAT GCC TCA CAC CGG AGC AGT GGG	210
Ser Ser Leu Asn Ile Thr Asn Ala Ser His Arg Ser Ser Gly	
60 65 70	
GAA TAC AGA TGT CGG AAC AAT GAC TTG AAC CTG AGT GAA GCT	252
Glu Tyr Arg Cys Arg Asn Asn Asp Leu Asn Leu Ser Glu Ala	
75 80	
GTG CAC CTA GAA GTT TTC AGT GAC TGG CTG CTC CTT CAG GCC	294
Val His Leu Glu Val Phe Ser Asp Trp Leu Leu Leu Gln Ala	
85 90 95	
TCT GCT GAG GAG GTC ATA GAG GGT AAG GCC CTC GTT CTC AGG	336
Ser Ala Glu Glu Val Ile Glu Gly Lys Ala Leu Val Leu Arg	
100 105 110	
TGC CGT GGC TGG AAG GAT TGG GAC GTC TTC AAG GTG ATC TAC	378
Cys Arg Gly Trp Lys Asp Trp Asp Val Phe Lys Val Ile Tyr	
115 120 125	
TAC AAG GAT GGC AAA CCC CTC GAG TAC TGG TAT GAG AAC AAA	420
Tyr Lys Asp Gly Lys Pro Leu Glu Tyr Trp Tyr Glu Asn Lys	
130 135 140	
AAC ATC TCC ATT GAA AGT GCC ACA ACA GAA AAC AGT GGC ACC	462
Asn Ile Ser Ile Glu Ser Ala Thr Thr Glu Asn Ser Gly Thr	
145 150	
TAT TAC TGC GAG GGT GCT TTT AAC TTT AAG CGA ACA AGT GAA	504
Tyr Tyr Cys Glu Gly Ala Phe Asn Phe Lys Arg Thr Ser Glu	
155 160 165	
CGC TAT ACC TCT GAT TAC CTC AAC ATT ACT GTA AAA AAA GCT	546
Arg Tyr Thr Ser Asp Tyr Leu Asn Ile Thr Val Lys Lys Ala	
170 175 180	
GAG CAA AGC AAA CGC TAC TGG CTA CAA TTT ATT ATT CCA TTG	588
Glu Gln Ser Lys Arg Tyr Trp Leu Gln Phe Ile Ile Pro Leu	
185 190 195	
TTG GTG GTG ATT CTG TTT GCT GTG GAC ACA GGA TTG TTT GTC	630
Leu Val Val Ile Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly Leu Phe Val	
200 205 210	
TCG ACC CAG CAG CAG TTA ACA TTT CTC TTG AAG ATT AAG AGG	672
Ser Thr Gln Gln Gln Leu Thr Phe Leu Leu Lys Ile Lys Arg	
215 220	

ACC	AGG	AGA	GGC	AGA	AAA	CTT	ATG	GAC	CCC	CAT	CCT	708
Thr	Arg	Arg	Gly	Arg	Lys	Leu	Met	Asp	Pro	His	Pro	
225					230					235		

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 7:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

5

(A) LONGITUD: 236 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: Proteína

10

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 7:

```

Leu Asp Gly Val Pro Ala Ala Ile Arg Lys Ser Thr Val Ser
 1              5              10

Leu Asn Pro Pro Trp Asn Arg Ile Phe Arg Gly Glu Asn Val
15              20              25

Thr Leu Thr Cys Asn Lys Asn Lys Pro Leu Lys Gly Asn Ser
30              35              40

Thr Glu Trp Thr Tyr Asn Asn Thr Thr Leu Glu Val Thr Thr
45              50              55

Ser Ser Leu Asn Ile Thr Asn Ala Ser His Arg Ser Ser Gly
60              65              70

Glu Tyr Arg Cys Arg Asn Asn Asp Leu Asn Leu Ser Glu Ala
75              80

Val His Leu Glu Val Phe Ser Asp Trp Leu Leu Leu Gln Ala
85              90              95

Ser Ala Glu Glu Val Ile Glu Gly Lys Ala Leu Val Leu Arg
100             105             110

Cys Arg Gly Trp Lys Asp Trp Asp Val Phe Lys Val Ile Tyr
115             120             125

Tyr Lys Asp Gly Lys Pro Leu Glu Tyr Trp Tyr Glu Asn Lys
130             135             140

Asn Ile Ser Ile Glu Ser Ala Thr Thr Glu Asn Ser Gly Thr
145             150

Tyr Tyr Cys Glu Gly Ala Phe Asn Phe Lys Arg Thr Ser Glu
155             160             165

Arg Tyr Thr Ser Asp Tyr Leu Asn Ile Thr Val Lys Lys Ala
170             175             180

Glu Gln Ser Lys Arg Tyr Trp Leu Gln Phe Ile Ile Pro Leu
185             190             195

Leu Val Val Ile Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly Leu Phe Val
200             205             210

Ser Thr Gln Gln Gln Leu Thr Phe Leu Leu Lys Ile Lys Arg
215             220

Thr Arg Arg Gly Arg Lys Leu Met Asp Pro His Pro
225             230             235

```

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 708 nucleótidos
 (B) TIPO: ácido nucleico
 (C) TIPO DE CADENA: sencilla
 (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 8:

```

AGGATGGGGG TCCATAAGTT TTCTGCCTCT CCTGGTCCTC TTAATCTTCA    50
AGAGAAATGT TAACTGCTGC TGGGTCGAGA CAAACAATCC TGTGTCCACA    100
GCAAACAGAA TCACCACCAA CAATGGAATA ATAAATTGTA GCCAGTAGCG    150
TTTGCTTTGC TCAGCTTTT TTACAGTAAT GTTGAGGTAA TCAGAGGTAT    200
AGCGTTCACT TGTTCGCTTA AAGTTAAAAG CACCCTCGCA GTAATAGGTG    250
CCACTGTTTT CTGTTGTGGC ACTTTCAATG GAGATGTTTT TGTTCCTATA    300
CCAGTACTCG AGGGGTTTGC CATCCTTGTA GTAGATCACC TTGAAGACGT    350
CCCAATCCTT CCAGCCACGG CACCTGAGAA CGAGGGCCTT ACCCTCTATG    400
ACCTCCTCAG CAGAGGCCTG AAGGAGCAGC CAGTCACTGA AAACCTTCTAG    450
GTGCACAGCT TCACTCAGGT TCAAGTCATT GTTCCGACAT CTGTATTCCC    500
CACTGCTCCG GTGTGAGGCA TTAGTGATGT TCAAACCTGA AGTTGTCACT    550
TCTAAAGTGG TGTGTGTGTA GGTCCACTCA GTGGAGTTGC CTTTAAGGGG    600
CTTGTTCTTA TTACATGTAA GAGTCACATT CTCTCCTCGA AATATTCTAT    650
TCCATGGGGG ATTCAAGGAC ACTGTAGATT TCCGGATGGC TGCTGGCACG    700
CCATCCAG                                     708

```

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 9:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 33 nucleótidos
 (B) TIPO: ácido nucleico
 (C) TIPO DE CADENA: sencilla
 (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: Cebador

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 9:

```

GCGGGGATCCT ATAAATATGC CTGCTCCCAT GGG    33

```

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 10:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 36 nucleótidos

- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) TIPO DE CADENA: sencilla
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

5 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: Cebador

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 10:

GCGCTGCAGT TAAGCTTTT TTACAGTAAT GTTGAG

36

10 (2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 11:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 603 nucleótidos
- (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) TIPO DE CADENA: sencilla
- (D) TOPOLOGÍA: lineal

15

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADNc

20 (ix) CARACTERÍSTICA:

- (A) NOMBRE/CLAVE: CDS
- (B) UBICACIÓN: 1..603

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 11:

ATG CCT GCT CCC ATG GGA AGC CCT GCC CTG CTG TGG ATA ACT	42
Met Pro Ala Pro Met Gly Ser Pro Ala Leu Leu Trp Ile Thr	
1 5 10	
TTT CTG CTC TTC TCT CTG GAT GGC GTG CCA GCA GCC ATC CGG	84
Phe Leu Leu Phe Ser Leu Asp Gly Val Pro Ala Ala Ile Arg	
15 20 25	
AAA TCT ACA GTG TCC TTG AAT CCC CCA TGG AAT AGA ATA TTT	126
Lys Ser Thr Val Ser Leu Asn Pro Pro Trp Asn Arg Ile Phe	
30 35 40	
CGA GGA GAG AAT GTG ACT CTT ACA TGT AAT AAG AAC AAG CCC	168
Arg Gly Glu Asn Val Thr Leu Thr Cys Asn Lys Asn Lys Pro	
45 50 55	
CTT AAA GGC AAC TCC ACT GAG TGG ACC TAC AAC AAC ACC ACT	210
Leu Lys Gly Asn Ser Thr Glu Trp Thr Tyr Asn Asn Thr Thr	
60 65 70	
TTA GAA GTG ACA ACT TCA AGT TTG AAC ATC ACT AAT GCC TCA	252
Leu Glu Val Thr Thr Ser Ser Leu Asn Ile Thr Asn Ala Ser	
75 80	
CAC CGG AGC AGT GGG GAA TAC AGA TGT CGG AAC AAT GAC TTG	294
His Arg Ser Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Arg Asn Asn Asp Leu	
85 90 95	
AAC CTG AGT GAA GCT GTG CAC CTA GAA GTT TTC AGT GAC TGG	336
Asn Leu Ser Glu Ala Val His Leu Glu Val Phe Ser Asp Trp	
100 105 110	

CTG CTC CTT CAG GCC TCT GCT GAG GAG GTC ATA GAG GGT AAG	378
Leu Leu Leu Gln Ala Ser Ala Glu Glu Val Ile Glu Gly Lys	
115 120 125	
GCC CTC GTT CTC AGG TGC CGT GGC TGG AAG GAT TGG GAC GTC	420
Ala Leu Val Leu Arg Cys Arg Gly Trp Lys Asp Trp Asp Val	
130 135 140	
TTC AAG GTG ATC TAC TAC AAG GAT GGC AAA CCC CTC GAG TAC	462
Phe Lys Val Ile Tyr Tyr Lys Asp Gly Lys Pro Leu Glu Tyr	
145 150	
TGG TAT GAG AAC AAA AAC ATC TCC ATT GAA AGT GCC ACA ACA	504
Trp Tyr Glu Asn Lys Asn Ile Ser Ile Glu Ser Ala Thr Thr	
155 160 165	
GAA AAC AGT GGC ACC TAT TAC TGC GAG GGT GCT TTT AAC TTT	546
Glu Asn Ser Gly Thr Tyr Tyr Cys Glu Gly Ala Phe Asn Phe	
170 175 180	
AAG CGA ACA AGT GAA CGC TAT ACC TCT GAT TAC CTC AAC ATT	588
Lys Arg Thr Ser Glu Arg Tyr Thr Ser Asp Tyr Leu Asn Ile	
185 190 195	
ACT GTA AAA AAA GCT	603
Thr Val Lys Lys Ala	
200	

(2) INFORMACIÓN PARA LA SEQ ID NO: 12:

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

5

(A) LONGITUD: 201 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: Proteína

10

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 12:

Met Pro Ala Pro Met Gly Ser Pro Ala Leu Leu Trp Ile Thr
 1 5 10
 Phe Leu Leu Phe Ser Leu Asp Gly Val Pro Ala Ala Ile Arg
 15 20 25
 Lys Ser Thr Val Ser Leu Asn Pro Pro Trp Asn Arg Ile Phe
 30 35 40
 Arg Gly Glu Asn Val Thr Leu Thr Cys Asn Lys Asn Lys Pro
 45 50 55
 Leu Lys Gly Asn Ser Thr Glu Trp Thr Tyr Asn Asn Thr Thr
 60 65 70
 Leu Glu Val Thr Thr Ser Ser Leu Asn Ile Thr Asn Ala Ser
 75 80

 His Arg Ser Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Arg Asn Asn Asp Leu
 85 90 95
 Asn Leu Ser Glu Ala Val His Leu Glu Val Phe Ser Asp Trp
 100 105 110
 Leu Leu Leu Gln Ala Ser Ala Glu Glu Val Ile Glu Gly Lys
 115 120 125
 Ala Leu Val Leu Arg Cys Arg Gly Trp Lys Asp Trp Asp Val
 130 135 140
 Phe Lys Val Ile Tyr Tyr Lys Asp Gly Lys Pro Leu Glu Tyr
 145 150
 Trp Tyr Glu Asn Lys Asn Ile Ser Ile Glu Ser Ala Thr Thr
 155 160 165
 Glu Asn Ser Gly Thr Tyr Tyr Cys Glu Gly Ala Phe Asn Phe
 170 175 180
 Lys Arg Thr Ser Glu Arg Tyr Thr Ser Asp Tyr Leu Asn Ile
 185 190 195
 Thr Val Lys Lys Ala
 200

REIVINDICACIONES

1. Molécula de ácido nucleico aislada que codifica para una proteína $Fc\epsilon R\alpha$ que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica a SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:7 o SEQ ID NO:12.
2. Molécula de ácido nucleico aislada seleccionada del grupo que consiste en una molécula de ácido nucleico que comprende
 - a) una secuencia de ácido nucleico al menos el 90% idéntica a una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 y SEQ ID NO:11, y que codifica para una proteína $Fc\epsilon R\alpha$; y
 - b) una secuencia de ácido nucleico al menos el 90% idéntica a una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 y SEQ ID NO:8, que hibrida en condiciones rigurosas con una secuencia de ácido nucleico que codifica para una proteína $Fc\epsilon R\alpha$.
3. Molécula de ácido nucleico aislada que codifica para una proteína que comprende una secuencia de aminoácidos idéntica a SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:7 o SEQ ID NO:12.
4. Molécula de ácido nucleico aislada que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8 y SEQ ID NO:11.
5. Proteína $Fc\epsilon R\alpha$ aislada que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica a SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:7 o SEQ ID NO:12.
6. Método para producir una proteína $Fc\epsilon R\alpha$, comprendiendo dicho método poner en cultivo una célula transformada con una molécula de ácido nucleico que codifica para una proteína que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica a SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:7 o SEQ ID NO:12.
7. Método para detectar IgE que comprende:

5 i) poner en contacto una proteína aislada que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica a SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:7 o SEQ ID NO:12 con una composición que contiene la supuesta IgE en condiciones adecuadas para la formación de un complejo de proteína:IgE ; y

ii) determinar la presencia de IgE detectando dicho complejo de proteína:IgE, indicando la presencia de dicho complejo de proteína:IgE la presencia de IgE.

10 8. Kit para detectar IgE que comprende una proteína $Fc_\epsilon R\alpha$ que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica a SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:7 o SEQ ID NO:12, y un medio para detectar IgE.

15 9. Método para identificar un compuesto que interfiere con la formación de un complejo entre una proteína $Fc_\epsilon R\alpha$ que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica a SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:7 o SEQ ID NO:12, e IgE, comprendiendo dicho método:

20 (a) poner en contacto dicha proteína con un supuesto compuesto inhibidor en condiciones en las que, en ausencia de dicho compuesto, dicha proteína forma un complejo con IgE; y

(b) determinar si dicho supuesto compuesto inhibidor inhibe dicha formación de complejo.

25 10. Kit de prueba para identificar un compuesto que puede interferir con la formación de un complejo entre una proteína e IgE, comprendiendo dicho kit de prueba una proteína $Fc_\epsilon R\alpha$ aislada que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica a SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:7 o SEQ ID NO:12 que puede complejarse con la IgE y un medio para determinar la magnitud de la interferencia de la formación de dicho complejo en presencia de un supuesto compuesto inhibidor.

30 11. Composición terapéutica que, cuando se administra a un animal, reduce las respuestas biológicas mediadas por el receptor Fc ϵ psilon, comprendiendo dicha composición

terapéutica un compuesto terapéutico seleccionado del grupo que consiste en:

5 una proteína $Fc\epsilon R\alpha$ aislada que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90% idéntica a SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:7 o SEQ ID NO:12;

una secuencia de ácido nucleico al menos el 90% idéntica a una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6 y SEQ ID NO:11, y que codifica para una proteína $Fc\epsilon R\alpha$;

10 una secuencia de ácido nucleico al menos el 90% idéntica a una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 y SEQ ID NO:8, que hibrida en condiciones rigurosas con una secuencia de ácido nucleico que codifica para una proteína $Fc\epsilon R\alpha$; y

15 un anticuerpo aislado que se une específicamente a una proteína que comprende una secuencia de aminoácidos idéntica a SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:7 o SEQ ID NO:12.