



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 602 13 402 T2** 2007.08.23

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 390 543 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **602 13 402.1**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/EP02/05229**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **02 742 996.8**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2002/086156**

(86) PCT-Anmeldetag: **23.04.2002**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **31.10.2002**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **25.02.2004**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **26.07.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **23.08.2007**

(51) Int Cl.⁸: **C12Q 1/68** (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

C12N 15/85 (2006.01)

C12N 15/63 (2006.01)

C07K 14/56 (2006.01)

C07K 16/00 (2006.01)

C07K 16/24 (2006.01)

A61K 38/21 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

0105516 24.04.2001 FR

(73) Patentinhaber:

GenOdyssee, Courtaboeuf, FR

(74) Vertreter:

Meissner, Bolte & Partner GbR, 81679 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE, TR**

(72) Erfinder:

ESCARY, Jean-Louis, F-78510 Le Chesnay, FR

(54) Bezeichnung: **NEUE POLYNUKLEOTIDE UND POLYPEPTIDE DES IFN ALPHA-17-GENS**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

VERWANDTE ANMELDUNGEN:

[0001] Die vorliegende Erfindung beansprucht eine Priorität der französischen Patentanmeldung 0105516, welche am 24. April 2001 eingereicht wurde, mit dem Titel: „Nouveaux polynucléotides et polypeptides du gène IFN α -17“.

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

Gebiet der Erfindung

[0002] Die vorliegende Erfindung betrifft neue Polynukleotide, die von der Nukleotidsequenz des IFN α -17-Gens abstammen und neue SNPs umfassen, sowie neue Polypeptide, die von dem natürlichen IFN α -17-Protein des Wildtyps abstammen und Mutationen umfassen, welche durch diese SNPs verursacht werden, sowie ihre therapeutischen Verwendungen.

Verwandter Stand der Technik

[0003] Das Gen des Interferons α -17, nachfolgend als IFN α -17 bezeichnet, wird in folgenden Veröffentlichungen beschrieben:

- Olopade et al., „Mapping of the shortest region of overlap of deletions of the short arm of chromosome 9 associated with human neoplasia“, Genomics 14: 437–443, 1992
- Lawn R. M. et al., "DNA sequence of two closely linked human leukocyte interferon genes", Science 212 (4499): 1159–1162, 1981

[0004] Die Nukleotidsequenz dieses Gens ist unter der Zugangsnummer V00532 in der Datenbank GenBank zugänglich.

[0005] Die IFN α sind für ihre zellulären antiproliferativen Wirkungen und ihre Beteiligungen an antiviralen und antiparasitären Reaktionen bekannt.

[0006] Die IFN α sind ebenso dafür bekannt, die Expression einiger anderer Cytokine auf der Stufe der hämatopoietischen Stammzellen zu hemmen, und ebenso die zelluläre Proliferation bestimmter Tumoren zu hemmen.

[0007] Die IFN α sind ebenso dafür bekannt, die Expression der Rezeptoren für EGF in Nierenkarzinomen herabzusetzen, die Expression bestimmter mitochondrialer Gene zu hemmen, die Proliferation von Fibroblasten, Monocyten und B-Lymphocyten, insbesondere in vitro, zu hemmen, und die Synthese von Antikörpern durch B-Lymphocyten zu blockieren.

[0008] Die IFN α sind ebenso dafür bekannt, die Expression tumor-spezifischer Antigene auf der Oberfläche von Tumorzellen zu induzieren, und ebenso diejenigen Gene, welche unter der Kontrolle der Promotorregionen vom ISRE-Typ (Element, das auf eine Anregung durch Interferon reagiert; Interferon-Stimulated Response Element) stehen, zu induzieren, indem sie auf spezifische Transkriptionsfaktoren dieser ISRE wirken.

[0009] Es ist bekannt, dass die IFN α an verschiedenen Störungen und/oder humanen Krankheiten beteiligt sind, wie zum Beispiel verschiedenen Arten von Krebs, wie zum Beispiel Karzinomen, Melanomen, Lymphomen, Leukämien und Leberkrebs, Krebs im Hals- und Kopf-Bereich, Nierenkrebs, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Stoffwechselkrankheiten, wie zum Beispiel jene, die nicht mit dem Immunsystem in Zusammenhang stehen, wie zum Beispiel Fettleibigkeit, Infektionskrankheiten, wie zum Beispiel Hepatitis B und C und AIDS, Lungenentzündungen, eiternde Dickdarmentzündung, Krankheiten des zentralen Nervensystems, wie zum Beispiel Alzheimer'sche Krankheit, Schizophrenie und Depression, Abstoßung von verpflanztem Gewebe und Organen, Wundheilung, Anämie bei dialysierten Patienten, Allergien, Asthma, multiple Sklerose, Osteoporose, Psoriasis, rheumatoide Arthritis, Crohn'sche Krankheit, Autoimmun-Krankheiten und -Störungen, Störungen des Magen-Darm-Trakts oder auch Störungen, die mit einer Behandlung durch Chemotherapie in Zusammenhang stehen.

[0010] Die IFN α werden insbesondere für die Behandlung von bestimmten Leukämien, metastasierenden Nierenkarzinomen, sowie Tumoren verwendet, die als Folge einer Immunschwäche auftreten, wie zum Bei-

spiel dem Kaposi-Sarkom im Falle von AIDS. Die IFN α sind ebenso wirksam gegenüber anderen Arten von Tumoren und gegenüber bestimmten viralen Infektionen. Die IFN α werden auch von der FDA (Food and Drug Administration) zur Behandlung von Genitalwarzen oder Geschlechtskrankheiten anerkannt.

[0011] Jedoch weisen die IFN α , und insbesondere IFN α -17, zahlreiche Nebenwirkungen auf, wenn sie in pharmazeutischen Zusammensetzungen verwendet werden, wie zum Beispiel Reaktionen einer akuten Überempfindlichkeit (Urticaria, Bronchokonstriktion, anaphylaktischer Schock, etc.), Herzarrythmien, niedriger Blutdruck, epileptische Anfälle, Probleme mit der Schilddrüsenfunktion, fieberähnliche Syndrome (Fieber, Schweißausbrüche, Myalgien), und dergleichen.

[0012] Darüber hinaus können Patienten, die mit IFN α behandelt werden, Antikörper zur Neutralisation dieser Moleküle entwickeln, so dass ihre Wirksamkeit herabgesetzt wird.

[0013] Manche Dokumente, wie zum Beispiel US 4,780,530, Ullrich et al., "Nucleotide Sequence of a Portion of Human Chromosome 9 containing a Leukocyte Interferon Gene Cluster", J. Mol. Biol. 156: 467–486, 1982, WO 01/25438; Hussain et al., "Identification of Interferon α -7, α -14 and α -21 Variants in the Genome of a Large Human Population", Journal of Interferon and Cytokine Research 16: 853–859, 1996; und Sylvänen et al., "Identification of Individuals by Analysis of biallelic DNA Markers, using PCR and solid Phase", Journal of Interferon and Cytokine Research 16: 46–59, 1996, beschreiben Nukleotid- und Polypeptid-Sequenzen von verschiedenen α -Interferon-Varianten und verwandten Molekülen, welche als therapeutische Mittel dienen können, wenn sie unter geeigneten Bedingungen exprimiert werden.

[0014] Jedoch beschreiben diese Dokumente keine spezifischen natürlichen SNPs, welche mit einem Unterschied in der biologischen Aktivität des Interferon- α -17-Moleküls in Zusammenhang stehen.

[0015] Der Erfinder hat neue Polypeptid- und neue Polynukleotid-Analoga des IFN α -17-Gens gefunden, die imstande sind, eine unterschiedliche Funktionalität gegenüber dem natürlichen IFN α -17-Protein des Wildtyps aufzuweisen.

[0016] Diese neuen Polypeptide und Polynukleotide können in besonderem Maße verwendet werden, um die vorstehend erwähnten Störungen oder Krankheiten zu behandeln oder diesen vorzubeugen, und um alle oder einen Teil der Nachteile zu vermeiden, welche mit diesen einhergehen.

KURZE ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0017] Es ist eine erste Aufgabe der Erfindung, neue Polynukleotide bereitzustellen, welche sich von der Nukleotidsequenz des IFN α -17-Gens des als Referenz dienenden Wildtyps dadurch unterscheiden, dass sie einen oder mehrere SNPs (Polymorphismus, der die Veränderung eines einzelnen Nukleotids betrifft; Single Nucleotide Polymorphism) umfassen.

[0018] Die Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 des humanen IFN α -17-Gens des als Referenz dienenden Wildtyps ist aus 1873 Nukleotiden zusammengesetzt und umfasst eine codierende Sequenz von 570 Nukleotiden, vom Nukleotid 639 (Start-Codon) bis zum Nukleotid 1208 (Stopp-Codon).

[0019] Der Anmelder hat zwei SNPs in der Nukleotidsequenz des IFN α -17-Gens des als Referenz dienenden Wildtyps identifiziert.

[0020] Diese SNPs sind die folgenden: g771c und 808Ins(a).

[0021] Es soll im Sinne der vorliegenden Erfindung so verstanden werden, dass die Zählung, welche der Position der vorstehend definierten SNPs entspricht, relativ zur Zählung der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 ist.

[0022] Die Buchstaben a, t, c und g entsprechen jeweils den stickstoffhaltigen Basen Adenin, Thymin, Cytosin und Guanin.

[0023] Der erste Buchstabe entspricht dem Wildtyp-Nukleotid, während der letzte Buchstabe dem mutierten Nukleotid entspricht.

[0024] Somit entspricht der SNP g771c einer Mutation des Nukleotids Guanin (g) an der Position 771 der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 des IFN α -17-Gens des als Referenz dienenden Wildtyps zu dem Nukleotid Cy-

tosin (c).

[0025] Der SNP 808Ins(a) entspricht der Insertion des Nukleotids Adenin (a) an der Position 808 der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 des IFN α -17-Gens des als Referenz dienenden Wildtyps.

[0026] Diese SNPs wurden durch den Anmelder unter Verwendung eines Bestimmungsverfahrens identifiziert, das in der Patentanmeldung FR 00 22894 des Anmelders mit dem Titel „Verfahren zur Bestimmung von einem oder mehreren funktionellen Polymorphismus (Polymorphismen) in der Nukleotidsequenz eines prä-selektierten, funktionellen Kandidaten-Gens und dessen (deren) Anwendung(en)“ („Process for the determination of one or several functional polymorphism(s) in the nucleotide sequence of a preselected functional candidate gene and its applications“) beschrieben ist und am 6. Dezember 2000 eingereicht wurde, welches hier durch Bezugnahme aufgenommen wird.

[0027] Das in dieser Patentanmeldung beschriebene Verfahren gestattet die Identifizierung von einem (oder mehreren) vorher vorhandenen SNP(s) in mindestens einem Individuum aus einer zufälligen Population von Individuen.

[0028] Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wurde ein Fragment der Nukleotidsequenz des IFN α -17-Gens, welches zum Beispiel die codierende Sequenz umfasst, aus unterschiedlichen Individuen in einer Population von Individuen, die in einer zufälligen Weise ausgewählt wurden, isoliert.

[0029] Die Sequenzierung dieser Fragmente wurde anschließend in bestimmten Fällen dieser Proben mit einem Heteroduplex-Profil (das ist ein Profil, welches sich von jenem der IFN α -17-Gensequenz des als Referenz dienenden Wildtyps unterscheidet) nach einer Analyse durch DHPLC (denaturierende Hochleistungs-Flüssigchromatographie, Denaturing High Performance Liquid Chromatography) durchgeführt.

[0030] Das auf diese Weise sequenzierte Fragment wurde anschließend mit der Nukleotidsequenz des Fragments des IFN α -17-Gens des als Referenz dienenden Wildtyps verglichen, und die SNPs wurden in Übereinstimmung mit der Erfindung identifiziert.

[0031] Somit sind die SNPs natürlich und jeder von ihnen ist in bestimmten Individuen der Weltbevölkerung vorhanden.

[0032] Das IFN α -17-Gen des als Referenz dienenden Wildtyps codiert für ein unreifes Protein von 189 Aminosäuren, welche der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 entsprechen, die in ein reifes Protein von 166 Aminosäuren überführt wird, indem das Signalpeptid abgespalten wird, welches die ersten 23 Aminosäuren umfasst.

[0033] Die codierenden SNPs der Erfindung, nämlich g771c und 808Ins(a) verursachen Modifikationen auf der Stufe der Aminosäuresequenz des Proteins, welches durch die Nukleotidsequenz des IFN α -17-Gens codiert wird. Diese Modifikationen sind die folgenden:

- Der SNP g771c verursacht eine Mutation der Aminosäure Glycin (G) zu Arginin (R) bei der Position 45 des unreifen Proteins des IFN α -17-Gens, welches der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 entspricht, und bei der Position 22 des reifen Proteins. In der Beschreibung der vorliegenden Erfindung wird man ohne Unterschied die durch diesen SNP codierte Mutation als G22R und G45R bezeichnen, je nachdem, ob sich die Mutation auf das reife Protein bzw. auf das unreife Proteine bezieht.
- Der SNP 808Ins(a) verursacht eine Mutation der Aminosäure Histidin (H) zu Glutamin (Q) bei der Position 57 des unreifen Proteins des IFN α -17-Gens, welches der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 entspricht, und bei der Position 34 des reifen Proteins. Darüber hinaus verursacht die Insertion eines Adenins an Position 808 der Nukleotidsequenz eine Verschiebung in der Translation des Proteins, welche zum Auftreten eines Stopp-Codons an Position 58 der Aminosäuresequenz führt. Somit verursacht der SNP 808Ins(a) einen Einhalt der Translation unmittelbar nach dem Glutamin 57. Infolge dessen wird das erhaltene unreife Protein verkürzt und besteht lediglich aus 57 Aminosäuren. Dieser Polymorphismus wird auch H57Q Leseraster 57 genannt. In der Beschreibung der vorliegenden Erfindung werden die Bezeichnungen H34Q Leseraster 34 und H57Q Leseraster 57 ohne Unterschied für die durch diesen SNP codierte Mutation verwendet, je nachdem, ob sich die Mutation auf das reife Protein bzw. auf das unreife Protein bezieht.

[0034] Die Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 3 entspricht dem mutierten unreifen Protein (H57Q Leseraster 57), welches durch die Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 codiert wird und den SNP 808Ins(a) umfasst.

[0035] Jeder der SNPs der Erfindung verursacht Modifikationen der räumlichen Konformation der erfindungsgemäßen Polypeptide, verglichen mit dem Polypeptid, das durch die Nukleotidsequenz des IFN α -17-Gens des als Referenz dienenden Wildtyps codiert wird.

[0036] Diese Modifikationen können durch Molecular Modeling am Computer beobachtet werden, entsprechend den Verfahren, die einem Fachmann gut bekannt sind, indem zum Beispiel von den folgenden Modellierungs-Werkzeugen Gebrauch gemacht wird: de novo (zum Beispiel SEQFOLD/MSI), Homologie (zum Beispiel MODELER/MSI), Minimierung des Kraftfelds (zum Beispiel DISCOVER, DELPHI/MSI) und/oder Molekulardynamik (zum Beispiel CFF/MSI).

[0037] Ein Beispiel solcher Modelle ist nachfolgend in dem experimentellen Abschnitt gegeben.

[0038] Das Molecular Modeling am Computer zeigt, dass die Mutation G22R auf dem mutierten reifen Protein eine Modifikation und eine Verschiebung der Schleife AB um die Position 22 beinhaltet, welche das Verschwinden von Wasserstoffbrücken-Bindungen verursacht.

[0039] Die [Fig. 1A](#) und [Fig. 1B](#) zeigen, dass die Schleife AB entfaltet wird und hervorsteht.

[0040] Im natürlichen IFN α -17-Protein des Wildtyps ist der Rest G22 sehr nahe dem Rest R144. Dieser Rest R144 ist dafür bekannt, dass er an der Bindung des Interferons α -2 (IFN α -2) an seinen Rezeptor beteiligt ist. Die Struktur des IFN α -2 und des IFN α -17 sind sehr ähnlich; es ist wahrscheinlich, dass der Rest R144 in IFN α -17 an der Bindung an seinen Rezeptor beteiligt ist.

[0041] Somit besitzt das Protein mit der Mutation G22R eine dreidimensionale Konformation, die sich von der des natürlichen IFN α -17-Proteins des Wildtyps unterscheidet.

[0042] Das Molecular Modeling am Computer gestattet ebenso die Vorhersage, dass die Gegenwart der Aminosäure Arginin an Position 22 eine erhebliche Veränderung der Struktur und der Funktion des natürlichen IFN α -17-Proteins des Wildtyps beinhaltet, in besonderem Maße auf der Stufe der Bindung des IFN α -17 an seinen Rezeptor.

[0043] Die Bestimmung des Genotyps der erfindungsgemäßen Polynukleotide kann in einer solchen Weise durchgeführt werden, mit der die Allelfrequenz dieser Polynukleotide in einer Population bestimmt wird.

[0044] Die Bestimmung der Funktionalität der Polypeptide der Erfindung kann ebenso durch einen Test ihrer biologischen Aktivität durchgeführt werden.

[0045] In dieser Hinsicht ist es möglich, zum Beispiel die Wirkung der erfindungsgemäßen Polypeptide auf die Signaltransduktion, die Reifung dendritischer Zellen, die Freisetzung von Cytokinen durch T-Lymphocyten, die Freisetzung von Cytokinen durch Monocyten, die antivirale Wirkung in vitro oder in vivo, die zelluläre antiproliferative Wirkung auf eine Daudi-Burkitt-Zelllinie, und die zelluläre antiproliferative Wirkung auf eine TF-1-Zelllinie zu messen, und mit derjenigen des IFN α -17 des Wildtyps oder mit derjenigen des IFN α -2 des Wildtyps zu vergleichen, das als ein Beispiel eines im Handel erhältlichen Introns A Produkts ausgewählt wurde.

[0046] Es ist ebenso eine Aufgabe der Erfindung, die Verwendung von erfindungsgemäßen Polynukleotiden und Polypeptiden, sowie von therapeutischen Molekülen bereitzustellen, die ausgehend von diesen Polynukleotiden und Polypeptiden erhalten und/oder identifiziert wurden, in besonderem Maße für die Vorbeugung und die Behandlung bestimmter humaner Störungen und/oder Krankheiten.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0047] [Fig. 1A](#) stellt ein Modell des erfindungsgemäßen codierten Proteins dar, welches den SNP G45R und das IFN α -17-Protein des Wildtyps umfasst. [Fig. 1B](#) stellt eine Nahaufnahme des Modells des unteren Teils von einem jeden der Proteine dar, die in [Fig. 1A](#) dargestellt sind.

[0048] In den [Fig. 1A](#) und [Fig. 1B](#) stellt das schwarze Band die Struktur des IFN α -17-Proteins des Wildtyps dar, und das weiße Band stellt die Struktur des IFN α -17-Proteins mit der Mutation G22R dar.

[0049] [Fig. 2](#) stellt die Ergebnisse des Tests zur Messung zur antiproliferativen Wirkung des IFN α -17 mit der

Mutation G45R auf die Zelllinie TF-1 dar. In dieser Figur entspricht die Abszisse der Konzentration des IFN α (ng/ml), und die Ordinate entspricht der Hemmung der Zellproliferation (%). Die antiproliferative Wirkung des IFN α -17 mit der Mutation G45R (schwarze Diamanten) wird mit jener des IFN α -2 des Wildtyps (weiße Quadrate) verglichen.

[0050] **Fig. 3** stellt die Ergebnisse des Tests zur Messung der antiproliferativen Wirkung des IFN α -17 mit der Mutation G45R auf die Daudi-Burkitt-Zelllinie dar. In dieser Figur entspricht die Abszisse der Konzentration von IFN α (ng/ml), und die Ordinate entspricht der Hemmung der Zellproliferation (%). Die antiproliferative Wirkung des IFN α -17 mit der Mutation G45R (schwarze Diamanten) wird mit jener des IFN α -2 des Wildtyps (weiße Quadrate) verglichen.

[0051] **Fig. 4** stellt die Überlebensrate von Mäusen dar, die zuvor mit dem VSV-Virus infiziert und mit dem IFN α -17-Protein mit der Mutation G45R behandelt wurden, im Vergleich zu jenen, die mit dem IFN α -2 des Wildtyps behandelt wurden, oder solchen, die nicht behandelt wurden.

[0052] In dieser Figur entsprechen die Abszissen dem Zeitraum des Überlebens (Tage) und die Ordinaten entsprechen der relativen Überlebensrate der mit VSV infizierten Mäuse. Die schwarzen Diamanten stellen die Daten für die mit VSV infizierten Mäuse dar, die mit IFN α -17 mit der Mutation G45R behandelt wurden, die schwarzen Quadrate stellen die Daten für mit VSV infizierte Mäuse dar, die mit dem IFN α -2 des Wildtyps behandelt wurden, und die offenen Dreiecke stellen die Daten für mit VSV infizierte Mäuse dar, die nicht behandelt wurden.

GENAUE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

Definitionen

[0053] Unter dem Begriff „Nukleotidsequenz des Gens des als Referenz dienenden Wildtyps“ wird die Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 des humanen IFN α -17-Gens verstanden.

[0054] Diese Sequenz ist in der GenBank unter der Zugangsnummer V00532 zugänglich und ist beschrieben in:

- Olopade et al., "Mapping of the shortest region of overlap of deletions of the short arm of chromosome 9 associated with human neoplasia", *Genomics* 14: 437–443, 1992
- Lawn R. M. et al., "DNA sequence of two closely linked human leukocyte interferon genes", *Science* 212 (4499): 1159–1162, 1981

[0055] Unter den Begriffen "natürliches IFN α -17-Protein des Wildtyps" oder "IFN α -17-Protein des Wildtyps" wird das reife Protein verstanden, welches durch die Nukleotidsequenz des IFN α -17-Gens des als Referenz dienenden Wildtyps codiert wird. Dieses natürliche unreife Protein IFN α -17 des Wildtyps entspricht der in der SEQ ID Nr. 2 gezeigten Peptidsequenz.

[0056] Der Begriff „Polynukleotid“ wird für ein Polyribonukleotid oder ein Polydesoxyribonukleotid verwendet, die eine modifizierte oder nicht modifizierte DNA oder eine RNA darstellen können.

[0057] Der Ausdruck „Polynukleotid“ umfasst zum Beispiel eine einzelsträngige oder doppelsträngige DNA, eine DNA, die aus einer Mischung von einem einzelsträngigen Bereich oder mehreren einzelsträngigen Bereichen und von einem doppelsträngigen Bereich oder mehreren doppelsträngigen Bereichen zusammengesetzt ist, eine einzelsträngige oder doppelsträngige RNA, und eine RNA, die aus einer Mischung von einem einzelsträngigen Bereich oder mehreren einzelsträngigen Bereichen und von einem doppelsträngigen Bereich oder mehreren doppelsträngigen Bereichen zusammengesetzt ist. Der Ausdruck „Polynukleotid“ kann ebenso eine RNA und/oder eine DNA umfassen, einschließlich einer oder mehrerer dreifachsträngiger Bereiche. Unter dem Begriff „Polynukleotid“ werden ebenso DNAs und RNAs verstanden, die eine oder mehrere Basen enthalten, die in einer solchen Weise modifiziert sind, dass sie ein Skelett aufweisen, welches für Zwecke der Stabilität oder für andere Zwecke modifiziert ist. Unter dem Begriff „modifizierte Base“ werden zum Beispiel unübliche Basen, wie zum Beispiel Inosin, verstanden.

[0058] Unter dem Begriff „Polypeptid“ wird ein Peptid, ein Oligopeptid, ein Oligomer oder ein Protein verstanden, das mindestens zwei Aminosäuren umfasst, welche miteinander über eine normale oder eine modifizierte Peptidbindung verbunden sind, wie zum Beispiel in den Fällen isosterischer Peptide.

[0059] Ein Polypeptid kann aus Aminosäuren zusammengesetzt sein, die von den 20 Aminosäuren verschieden sind, welche durch den genetischen Code definiert werden. Ein Polypeptid kann ebenso aus Aminosäuren zusammengesetzt sein, welche durch natürliche Vorgänge modifiziert wurden, wie zum Beispiel durch post-translationale Reifungsprozesse oder durch chemische Prozesse, welche einem Fachmann gut bekannt sind. Solche Modifikationen werden in der Literatur im Detail erläutert. Diese Modifikationen können an beliebiger Stelle im Polypeptid auftreten: im Peptidskelett, in der Aminosäurekette oder auch an den carboxy- oder amino-terminalen Enden.

[0060] Ein Polypeptid kann in Folge einer Ubiquitinierung verzweigt sein, oder es kann cyclisch mit oder ohne Verzweigung vorliegen. Diese Art der Modifikation kann das Ergebnis von natürlichen oder synthetischen post-translationalen Prozessen sein, die dem Fachmann gut bekannt sind.

[0061] Zum Beispiel werden unter dem Begriff „Polypeptid-Modifikationen“ verstanden: eine Acetylierung, Acylierung, ADP-Ribosylierung, Amidierung, eine kovalente Fixierung des Flavins, eine kovalente Fixierung des Häm, eine kovalente Fixierung eines Nukleotids oder eines Nukleotid-Derivats, eine kovalente Fixierung eines Lipids oder eines Lipid-Derivats, die kovalente Fixierung von Phosphatidyl-Inosit, eine kovalente oder nicht kovalente Vernetzung, eine Cyclisierung, die Bildung einer Disulfid-Brücke, eine Demethylierung, Cysteinbildung, Pyroglutamat-Bildung, Formylierung, γ -Carboxylierung, Glycosylierung, einschließlich der Bindung von Polyethylenglykol („PEGylierung“), die Bildung eines GPI-Ankers, Hydroxylierung, Iodierung, Methylierung, Myristoylierung, Oxidation, proteolytische Prozesse, Phosphorylierung, Prenylierung, Racemisierung, Selenoylierung, Sulfatierung, die Addition einer Aminosäure, wie zum Beispiel die Arginylierung oder Ubiquitinierung. Solche Modifikationen werden in Einzelheiten in der Literatur beschrieben: „Protein-Structure and Molecular Properties“, 2. Ed., T. E. Creighton, New York, 1993; „Post-translational Covalent Modification of Proteins“, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York, 1983; Seifter et al., „Analysis for Protein Modifications and Non-Protein Cofactors“, Meth. Enzymol. 182: 626–646, 1990; und Rattan et al., „Protein synthesis: Post-translational Modifications and Aging“, Ann. N.Y. Acad. Sci. 663: 48–62, 1992.

[0062] Unter den Begriffen „isoliertes Polynukleotid“ oder „isoliertes Polypeptid“ werden ein Polynukleotid bzw. ein Polypeptid verstanden, wie zum Beispiel ein vorstehend definiertes, welches aus dem menschlichen Körper isoliert wurde oder anderweitig durch ein technisches Verfahren hergestellt wurde.

[0063] Unter dem Begriff „Identität“ wird die Messung der Sequenzidentität des Nukleotids oder Polypeptids verstanden.

[0064] Der Ausdruck „Identität“ ist ein Begriff, der dem Fachmann gut bekannt ist, und der in der Literatur gut beschrieben ist: siehe „Computational Molecular Biology“, Lesk, A. M., Ed., Oxford University Press, New York, 1998; „Biocomputing Informatics and Genome Project“, Smith, D. W., Ed., Academic Press, New York, 1993; „Computer Analysis of Sequence Data“, Part 1, Griffin, A. M. und Griffin H. G., Eds., Humana Press, New Jersey, 1994; und „Sequence Analysis in Molecular Biology“, Heinje G., Academic Press, 1987.

[0065] Die gewöhnlich verwendeten Verfahren, um die Identität und die Ähnlichkeit zwischen zwei Sequenzen zu bestimmen, sind ebenso gut in der Literatur beschrieben: siehe „Guide to Huge Computer“, Martin J. Bishop, Ed., Academic Press, San Diego, 1994; und Carillo H. und Lipton D., Siam J. Applied Math. 48: 1073, 1988.

[0066] Ein Polynukleotid, welches zum Beispiel eine Identität von mindestens 95 % mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist, ist ein Polynukleotid, das höchstens 5 Mutationspunkte pro 100 Nukleotide enthält, verglichen mit dieser Sequenz.

[0067] Diese Mutationspunkte können eine einfache Substitution (oder mehrfache Substitutionen), eine Insertion (Insertionen) und/oder eine Deletion (Deletionen) von einem Nukleotid (oder mehreren Nukleotiden) darstellen.

[0068] In derselben Weise ist ein Polypeptid, das zum Beispiel eine Identität von mindestens 95 % mit der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 aufweist, ein Polypeptid, das höchstens 5 Mutationspunkte pro 100 Aminosäuren aufweist, verglichen mit dieser Sequenz.

[0069] Diese Mutationspunkte können eine einfache Substitution (oder mehrfache Substitutionen), eine Insertion (Insertionen) und/oder eine Deletion (Deletionen) von einer Aminosäure (oder mehreren Aminosäuren) darstellen.

[0070] Die erfindungsgemäßen Polynukleotide und die Polypeptide, welche nicht vollständig mit den nachfolgend aufgeführten Sequenzen identisch sind, werden als Varianten dieser Sequenzen angesehen:

- die Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1, welche mindestens einen der folgenden SNPs: g771c und 808Ins(a) umfasst,
- die Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2, welche den SNP G45R umfasst,
- die Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 3, welche möglicherweise den SNP G45R umfasst.

[0071] Üblicherweise besitzt ein erfindungsgemäßes Polynukleotid die gleiche oder praktisch die gleiche biologische Aktivität wie die Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1, welche mindestens einen der SNPs: g771c und 808Ins(a) umfasst.

[0072] In ähnlicher Weise besitzt üblicherweise ein erfindungsgemäßes Polypeptid die gleiche oder praktisch die gleiche biologische Aktivität wie:

- die Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2, welche den SNP G45R umfasst, und/oder
- die Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 3, welche möglicherweise den SNP G45R umfasst.

[0073] Eine erfindungsgemäße Variante kann dadurch erhalten werden, dass zum Beispiel eine ortsspezifische Mutagenese durchgeführt wird, oder durch direkte Synthese.

[0074] Unter dem Begriff „SNP“ wird eine beliebige natürliche Veränderung einer Base in einer Nukleotidsequenz verstanden. Ein SNP in einer Nukleotidsequenz kann codierend, still oder nicht codierend sein.

[0075] Ein codierender SNP ist ein Polymorphismus, der in der codierenden Sequenz einer Nukleotidsequenz enthalten ist, welche eine Modifikation einer Aminosäure in der Sequenz der Aminosäuren beinhaltet, die durch diese Nukleotidsequenz codiert wird. In diesem Fall wird der Ausdruck „SNP“ ebenso in erweitertem Sinne auf eine Mutation in einer Aminosäuresequenz angewendet.

[0076] Ein stiller SNP ist ein Polymorphismus, welcher in der codierenden Sequenz einer Nukleotidsequenz enthalten ist, welche keine Modifikation einer Aminosäure in der Aminosäuresequenz beinhaltet, die durch diese Nukleotidsequenz codiert wird.

[0077] Ein nicht codierender SNP ist ein Polymorphismus, der in der nicht codierenden Sequenz der Nukleotidsequenz enthalten ist. Dieser Polymorphismus kann in besonderem Maße in einem Intron, einer Spleißzone, einem Transkriptions-Promotor oder einer Nukleotidsequenz, welche zu einer Steigerung der Ablesefrequenz einer bestimmten Nukleotidsequenz führt (site enhancer sequence), gefunden werden.

[0078] Unter dem Ausdruck „funktioneller SNP“ wird ein SNP verstanden, wie zum Beispiel ein vorstehend definierter, der in einer Nukleotidsequenz oder einer Aminosäuresequenz mit einer Funktionalität enthalten ist.

[0079] Unter dem Begriff „Funktionalität“ wird die biologische Aktivität eines Polypeptids oder eines Polynukleotids verstanden.

[0080] Die Funktionalität eines erfindungsgemäßen Polypeptids oder Polynukleotids kann in einer Erhaltung, einer Steigerung, einer Verminderung oder einer Unterdrückung der biologischen Aktivität des Polypeptids bestehen, welches durch die Nukleotidsequenz des Gens des als Referenz dienenden Wildtyps oder durch diese letztere Nukleotidsequenz codiert wird.

[0081] Die Funktionalität eines erfindungsgemäßen Polypeptids oder Polynukleotids kann ebenso in einer Veränderung in der Natur der biologischen Aktivität des Polypeptids bestehen, welches durch die Nukleotidsequenz des Gens des als Referenz dienenden Wildtyps oder durch diese letztere Nukleotidsequenz codiert wird.

[0082] Die biologische Aktivität kann in besonderem Maße mit der Affinität oder mit dem Fehlen der Affinität des Polypeptids gemäß der Erfindung gegenüber einem Rezeptor verbunden sein.

Polynukleotid

[0083] Es ist eine erste Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein isoliertes Polynukleotid bereitzustellen, welches umfasst:

- a) eine Nukleotidsequenz, die mindestens 95 % Identität, und stärker bevorzugt mindestens 99 % Identität

mit der Sequenz SEQ ID Nr. 1 oder mit ihrer codierenden Sequenz (vom Nukleotid 639 bis zum Nukleotid 1208) aufweist, wobei die Nukleotidsequenz so zu verstehen ist, dass sie mindestens einen der folgenden codierenden SNPs aufweist: g771c oder 808Ins(a), oder
b) eine Nukleotidsequenz, die zu der Nukleotidsequenz von Punkt a) komplementär ist.

[0084] In Übereinstimmung mit der vorliegenden Erfindung kann die Nukleotidsequenz von Punkt a) den SNP g771c oder den SNP 808Ins(a) oder beide SNPs g771c und 808Ins(a) umfassen.

[0085] Es ist im Sinne der vorliegenden Erfindung so zu verstehen, dass die Zählung der Position der SNPs in der Nukleotidsequenz der SEQ ID Nr. 1 entspricht.

[0086] Die vorliegende Erfindung betrifft ebenso ein isoliertes Polynukleotid, welches umfasst:
a) eine Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 oder ihre codierende Sequenz, wobei jede dieser Sequenzen so zu verstehen ist, dass sie mindestens einen der folgenden codierenden SNPs: g771c oder 808Ins(a) umfasst, oder
b) eine Nukleotidsequenz, die zu der Nukleotidsequenz von Punkt a) komplementär ist.

[0087] Vorzugsweise besteht das Polynukleotid der Erfindung aus der Sequenz der SEQ ID Nr. 1 oder ihrer codierenden Sequenz, wobei jede dieser Sequenzen so zu verstehen ist, dass sie mindestens einen der folgenden codierenden SNPs umfasst: g771c oder 808Ins(a).

[0088] Erfindungsgemäß umfasst das vorstehend definierte Polynukleotid einen einzelnen codierenden SNP, der aus der Gruppe ausgewählt wird, welche aus g771c und 808Ins(a) besteht.

[0089] Die vorliegende Erfindung betrifft ebenso ein isoliertes Polynukleotid, das besteht aus einem Teil von:
a) einer Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 oder ihrer codierenden Sequenz, wobei jede dieser Sequenzen so zu verstehen ist, dass sie mindestens einen der folgenden SNPs: g771c und 808Ins(a) umfasst, oder
b) einer Nukleotidsequenz, die zu der Nukleotidsequenz von Punkt a) komplementär ist,

wobei das isolierte Polynukleotid aus mindestens 10 Nukleotiden zusammengesetzt ist.

[0090] Vorzugsweise ist das isolierte Polynukleotid wie vorstehend definiert aus 10 bis 40 Nukleotiden zusammengesetzt.

[0091] Es ist ebenso eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein isoliertes Polynukleotid bereitzustellen, das für ein Polypeptid codiert, welches umfasst:
a) die Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2, oder
b) die Aminosäuresequenz, welche die Aminosäuren umfasst, die zwischen den Positionen 24 und 189 der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 enthalten sind,

wobei jede der Aminosäuresequenzen von Punkt a) und b) so zu verstehen ist, dass sie den folgenden codierenden SNP G45R umfasst.

[0092] Es ist im Sinne der vorliegenden Erfindung so zu verstehen, dass die Zählung, welche der Position des SNP G45R entspricht, relativ zur Zählung der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 ist.

[0093] Es ist ebenso eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein isoliertes Polynukleotid bereitzustellen, das für ein Polypeptid codiert, welches umfasst:
a) die Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 3, oder
b) die Aminosäuresequenz, welche die Aminosäuren umfasst, die zwischen den Positionen 24 und 57 der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 3 enthalten sind,

wobei jede der Aminosäuresequenzen der vorstehend unter Punkt a) und b) definierten Polypeptide so zu verstehen ist, dass sie ebenso den SNP G45R umfassen kann.

[0094] Gemäß einer bevorzugten Aufgabe der Erfindung umfasst das vorstehend definierte Polypeptid einen einzelnen codierenden SNP, wie zum Beispiel den vorstehend definierten.

[0095] In stärker bevorzugter Weise codiert ein erfindungsgemäßes isoliertes Polynukleotid für ein Polypeptid, das die gesamte oder einen Teil der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 umfasst und den codierenden SNP

G45R aufweist.

[0096] In besonders bevorzugter Weise codiert ein erfindungsgemäßes isoliertes Polynukleotid für ein Polypeptid, das die gesamte oder einen Teil der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 3 umfasst und möglicherweise ebenso den codierenden SNP G45R aufweist.

[0097] In bevorzugter Weise ist ein erfindungsgemäßes Polynukleotid aus einem DNA- oder RNA-Molekül zusammengesetzt.

[0098] Ein erfindungsgemäßes Polynukleotid kann durch standardmäßige synthetische Verfahren für DNA oder RNA erhalten werden.

[0099] Ein erfindungsgemäßes Polynukleotid, welches den SNP g771c umfasst, kann ebenso durch ortsspezifische Mutagenese erhalten werden, die von der Nukleotidsequenz des IFN α -17-Gens ausgeht, indem das Nukleotid Guanin (g) des Wildtyps durch das mutierte Nukleotid Cytosin (c) an Position 771 der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 modifiziert wird.

[0100] Ein erfindungsgemäßes Polynukleotid, welches den SNP 808Ins(a) umfasst, kann ebenso durch ortsspezifische Mutagenese erhalten werden, die von der Nukleotidsequenz des IFN α -17-Gens ausgeht, indem das Nukleotid Adenin (a) an Position 808 der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 hinzugefügt wird.

[0101] Die Verfahren zur ortsspezifischen Mutagenese, die auf diese Weise verwirklicht werden können, sind dem Fachmann gut bekannt. Die Veröffentlichung von T. A. Kunkel aus dem Jahr 1985 in Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 488 kann in besonderer Weise erwähnt werden.

[0102] Ein isoliertes Polynukleotid kann ebenso zum Beispiel Nukleotidsequenzen umfassen, die für Prä-, Pro-, oder Prä-Pro-Protein-Aminosäuresequenzen oder Marker-Aminosäuresequenzen, wie zum Beispiel ein Hexahistidin-Peptid, codieren.

[0103] Ein erfindungsgemäßes Polynukleotid kann ebenso mit Nukleotidsequenzen in Zusammenhang stehen, die für andere Proteine oder Proteinfragmente codieren, um Fusionsproteine oder andere Produkte zur Reinigung zu erhalten.

[0104] Ein erfindungsgemäßes Polynukleotid kann ebenso Nukleotidsequenzen umfassen, wie zum Beispiel nicht codierende Sequenzen am 5'- und/oder 3'-Ende, wie zum Beispiel transkribierte oder nicht transkribierte Sequenzen, translatierte oder nicht translatierte Sequenzen, spleißende Signalsequenzen, polyadenylierte Sequenzen, Ribosom-Bindesequenzen oder auch Sequenzen, welche mRNA stabilisieren.

[0105] Eine Nukleotidsequenz, die zu der Nukleotid- oder Polynukleotid-Sequenz komplementär ist, wird als eine Sequenz definiert, die mit dieser Nukleotidsequenz unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann.

[0106] Unter dem Ausdruck „stringente Hybridisierungs-Bedingungen“ werden im Allgemeinen, jedoch nicht notwendigerweise, chemische Bedingungen verstanden, die eine Hybridisierung ermöglichen, wenn die Nukleotidsequenzen eine Identität von mindestens 80 %, bevorzugt von größer oder gleich 90 %, noch stärker bevorzugt von größer oder gleich 95 % und am meisten bevorzugt von größer oder gleich 97 % aufweisen.

[0107] Die stringenten Bedingungen können entsprechend den Verfahren erhalten werden, die dem Fachmann gut bekannt sind, und zum Beispiel dargestellt werden durch: Inkubation der Polynukleotide bei 42°C in einer Lösung, die 50 % Formamid, 5 \times SSC (150 mM NaCl, 15 mM Trinatriumcitrat), 50 mM Natriumphosphat (pH 7,6), 5 \times Denhardt-Lösung, 10 % Dextransulfat und 20 μ g DNA aus denaturiertem Lachssperma umfasst, gefolgt von einem Waschschriff der Filter bei 0,1 \times SSC bei 65°C.

[0108] Wenn die stringenten Hybridisierungsbedingungen eine Hybridisierung der Nukleotidsequenzen mit einer Identität von 100 % umfassen, wird die Nukleotidsequenz so betrachtet, als sei sie streng komplementär zu der unter Punkt a) beschriebenen Nukleotidsequenz, und liegt im Rahmen der Erfindung.

[0109] Es ist im Sinne der Lehre der vorliegenden Erfindung so zu verstehen, dass die zu einer Nukleotidsequenz komplementäre Nukleotidsequenz mindestens einen erfindungsgemäßen Antisens-SNP umfasst.

[0110] Wenn somit zum Beispiel die Nukleotidsequenz den SNP g771c umfasst, umfasst ihre komplementäre

Nukleotidsequenz das Nukleotid g an der äquivalenten Stelle von Position 771.

Identifikation, Hybridisierung und/oder Amplifikation des Polynukleotids, welches einen SNP umfasst

[0111] Es ist ebenso eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, die Verwendung folgender Gegenstände bereitzustellen:

- a) ein Polynukleotid mit mindestens 95 % Identität und insbesondere mit 100 % Identität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 oder einer Sequenz des Polynukleotids, das aus 10 bis 40 Nukleotiden zusammengesetzt ist, und/oder
- b) ein erfindungsgemäßes Polynukleotid, das mindestens einen SNP umfasst,

um ein Polynukleotid mit mindestens 90 % Identität, stärker bevorzugt mit 95 % Identität und besonders bevorzugt mit 100 % Identität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1, oder falls nötig, mit ihrer codierenden Sequenz (vom Nukleotid 639 bis zum Nukleotid 1208) zu identifizieren, zu hybridisieren und/oder zu amplifizieren, wobei jede dieser Sequenzen so zu verstehen ist, dass sie mindestens einen der folgenden SNPs: g771c oder 808Ins(a) umfasst.

Bestimmung des Genotyps und Bestimmung der Frequenz eines SNP

[0112] Es ist ebenso eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, die Verwendung folgender Gegenstände bereitzustellen:

- a) ein Polynukleotid mit mindestens 95 % Identität und insbesondere mit 100 % Identität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 oder einer Sequenz eines Polynukleotids, das aus 10 bis 40 Nukleotiden zusammengesetzt ist, und/oder
- b) ein erfindungsgemäßes Polynukleotid, das mindestens einen SNP umfasst,

für die Bestimmung des Genotyps eines Polynukleotids mit mindestens 90 % Identität, stärker bevorzugt mit 95 % Identität, und besonders bevorzugt mit 100 % Identität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1, oder falls nötig, mit ihrer codierenden Sequenz (vom Nukleotid 639 bis zum Nukleotid 1208), wobei jede dieser Sequenzen so zu verstehen ist, dass sie mindestens einen der folgenden SNPs: g771c oder 808Ins(a) umfasst.

[0113] Gemäß der Erfindung kann die Bestimmung des Genotyps mit einem Individuum oder einer Population von Individuen ausgeführt werden.

[0114] Innerhalb der technischen Lehre dieser Erfindung wird die Bestimmung des Genotyps als ein Verfahren zur Bestimmung eines Genotyps eines Individuums oder einer Population von Individuen definiert. Der Genotyp besteht aus den Allelen, die an einem oder mehreren spezifischen Loci vorhanden sind.

[0115] Unter dem Begriff „Population von Individuen“ wird eine Gruppe von Individuen verstanden, die in zufälliger Weise oder in nicht zufälliger Weise ausgewählt werden. Diese Individuen können Menschen, Tiere, Mikroorganismen oder Pflanzen sein.

[0116] Üblicherweise umfasst die Gruppe der Individuen mindestens 10 Personen, vorzugsweise 100 bis 300 Personen.

[0117] Die Individuen können entsprechend ihrer ethnischen Zugehörigkeit oder entsprechend ihrem Phänotyp ausgewählt werden; in besonderem Maße werden jene ausgewählt, die von den folgenden Störungen und/oder Krankheiten betroffen sind: Karzinome, Melanome, Lymphome, Leukämien und Leberkrebs, Krebs im Hals- und Kopf-Bereich, Nierenkrebs, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Stoffwechselkrankheiten, wie zum Beispiel solche, die nicht mit dem Immunsystem in Zusammenhang stehen, wie zum Beispiel Fettleibigkeit, Infektionskrankheiten, insbesondere virale Infektionen, wie zum Beispiel Hepatitis B und C und AIDS, Lungenentzündungen, eiternde Dickdarmentzündung, Krankheiten des zentralen Nervensystems, wie zum Beispiel Alzheimer'sche Krankheit, Schizophrenie und Depression, die Abstoßung von verpflanztem Gewebe und von Organen, Wundheilung, Anämie bei dialysierten Patienten, Allergien, Asthma, multiple Sklerose, Osteoporose, Psoriasis, rheumatoide Arthritis, Crohn'sche Krankheit, Autoimmun-Krankheiten und -Störungen, Störungen des Magen-Darm-Trakts oder auch Störungen, die mit einer Behandlung durch Chemotherapie in Zusammenhang stehen.

[0118] Ein erfindungsgemäßer funktioneller SNP wird vorzugsweise als Genotyp in einer Population von Individuen bestimmt.

[0119] Es existieren viele verschiedene Verfahren, welche eingeführt werden können, um die SNPs bezüglich des Genotyps zu bestimmen (siehe insbesondere Kwok, Pharmacogenomics 2000, Vol. 1, pp. 95–100, „High Throughput Genotyping Assay Approaches“). Diese Verfahren beruhen auf einem der vier folgenden Prinzipien: der Hybridisierung mit allel-spezifischen Oligonukleotiden, der Verlängerung von Oligonukleotiden mittels Didesoxynukleotiden, gegebenenfalls in Gegenwart von Desoxynukleotiden, der Ligation von allel-spezifischen Oligonukleotiden oder der Spaltung von allel-spezifischen Oligonukleotiden. Jedes einzelne dieser Verfahren kann zu einem Nachweissystem gekoppelt werden, wie zum Beispiel der Messung der direkten oder polarisierten Fluoreszenz, oder der Massenspektrometrie.

[0120] Die Bestimmung des Genotyps kann insbesondere durch Minisequenzierung mit „heißen“ ddNTPs (zwei unterschiedliche ddNTPs, welche mit verschiedenen Fluorophoren markiert sind) und „kalten“ ddNTPs (zwei verschiedene ddNTPs ohne eine Markierung), in Verbindung mit einem Scanner für polarisierte Fluoreszenz durchgeführt werden. Das Minisequenzierungsprotokoll durch Auswerten der polarisierten Fluoreszenz (Verfahren mittels Fluoreszenz-Polarisation, bei dem ein mit Farbstoff markiertes Didesoxynukleotid in das Templat eingebaut wird; Technology of Fluorescence Polarization Template-direct Dye-Terminator Incorporation; FP-TDI) ist dem Fachmann gut bekannt.

[0121] Es kann mit einem Produkt durchgeführt werden, das nach der Amplifikation durch Polymerase-Kettenreaktion (PCR) von einer DNA eines jeden Individuums erhalten wurde. Dieses PCR-Produkt wird so ausgewählt, dass es den Polynukleotid-Genbereich abdeckt, der den untersuchten SNP enthält. Nach dem letzten Schritt im PCR-Gerät (Thermocycler) wird die Platte in einen Scanner für polarisierte Fluoreszenz eingesetzt, um die markierten Basen mittels einer Anregung, die für das jeweilige Fluorophor spezifisch ist, und mittels Emissionsfiltern auszuwerten. Die Intensitätswerte der markierten Basen werden auf einen Graphen aufgezeichnet.

[0122] Für die PCR-Amplifikation können im Falle eines erfindungsgemäßen SNP die Sens- bzw. Antisens-Primer entsprechend der Position der SNPs der Erfindung leicht durch einen Fachmann ausgewählt werden.

[0123] Zum Beispiel können die Sens- und Antisens-Nukleotidsequenzen der Primer für die PCR-Amplifikation jeweils sein:

SEQ ID Nr. 4: Sens Primer: TTC AAG GTT ACC CAT CTC AA

SEQ ID Nr. 5: Antisens-Primer: TTA GTC AAT CAG GAT CAT TGC

[0124] Die Nukleotidsequenzen ermöglichen eine Amplifikation eines Fragments mit einer Länge von 655 Nukleotiden, vom Nukleotid 591 bis zum Nukleotid 1245 in der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1.

[0125] Eine statistische Analyse der Frequenz eines jeden Allels (Allel-Frequenz), welches Allel durch das Gen codiert wird, welches Gen den SNP in der Population von Individuen umfasst, wird dann erreicht, und welche Allel-Frequenz die Bestimmung der Bedeutung ihres Einflusses und ihrer Verteilung in den unterschiedlichen Untergruppen, und falls notwendig, in besonderem Maße in den verschiedenen ethnischen Gruppen, ermöglicht, welche diese Population von Individuen ausmachen.

[0126] Die genotypischen Daten werden analysiert, um die Verteilung der Frequenzen von unterschiedlichen Allelen abzuschätzen, die in den untersuchten Populationen beobachtet werden. Die Berechnungen der Allel-Frequenzen können mit Hilfe einer Software durchgeführt werden, wie zum Beispiel SAS-suite® (SAS) oder SPLUS® (MathSoft). Der Vergleich der Allel-Verteilungen eines SNP der Erfindung über verschiedene ethnische Gruppen der Population von Individuen kann mittels der Software ARLEQUIN® und SAS-suite® durchgeführt werden.

SNPs der Erfindung als genetische Marker

[0127] Während SNPs, die funktionelle Sequenzen von Genen (zum Beispiel Promotor, Spleißstellen, codierender Abschnitt) modifizieren, wahrscheinlich in einem unmittelbaren Zusammenhang zur Anfälligkeit für oder Resistenz gegen bestimmte Krankheiten stehen, können alle SNPs (funktionell oder nicht) wertvolle Marker für die Identifikation von einem oder mehreren Genen bereitstellen, die an diesen Krankheiten beteiligt sind, und sie können infolgedessen in einem mittelbaren Zusammenhang zu diesen Krankheitszuständen stehen (siehe Cargill et al., Nature Genetics 22: 231–238, 1999; Riley et al., Pharmacogenomics 1: 39–47, 2000; Roberts L., Science 287: 1898–1899, 2000).

[0128] Somit betrifft die vorliegende Erfindung ebenso eine Datenbank, welche mindestens einen der folgenden SNPs: g771c oder 808Ins(a) in einem Polynukleotid des IFN α -17-Gens umfasst.

[0129] Es ist durchaus so zu verstehen, dass die SNPs in Übereinstimmung mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 gezählt werden.

[0130] Diese Datenbank kann zur Bestimmung der statistisch erheblichen Zusammenhänge analysiert werden, die zwischen folgenden Punkten bestehen:

- (i) mindestens einem der folgenden SNPs: g771c oder 808Ins(a) in einem Polynukleotid des IFN α -17-Gens, und
- (ii) einer Krankheit oder einer Resistenz gegen eine Krankheit.

[0131] In besonders bevorzugter Weise betrifft die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Bestimmung statistisch erheblicher Zusammenhänge zwischen mindestens einem SNP in dem IFN α -17-Gen, der aus der Gruppe ausgewählt wird, die aus g771c oder 808Ins(a) besteht, und einer Krankheit oder einer Resistenz gegen eine Krankheit, wobei das Verfahren umfasst:

- a) Bestimmung des Genotyps einer Gruppe von Individuen;
- b) Bestimmung der Verteilung der Krankheit oder der Resistenz gegen die Krankheit innerhalb dieser Gruppe von Individuen;
- c) Vergleich der genotypischen Daten mit der Verteilung dieser Krankheit oder der Resistenz gegen die Krankheit; und
- d) Analysieren des Vergleichs in Bezug auf statistisch erhebliche Zusammenhänge.

[0132] Die vorliegende Erfindung betrifft ebenso die Verwendung in vitro von mindestens einem der folgenden SNPs: g771c oder 808Ins(a) in einem Polynukleotid des IFN α -17-Gens zur Entwicklung diagnostischer bzw. prognostischer Kits bezüglich einer Krankheit oder einer Resistenz gegen eine Krankheit.

[0133] Ein SNP der Erfindung, wie vorstehend definiert, kann in unmittelbarem oder mittelbarem Zusammenhang mit einer Krankheit oder einer Resistenz gegen eine Krankheit stehen.

[0134] In bevorzugter Weise können diese Krankheiten jene sein, welche wie vorstehend erwähnt definiert wurden.

Expressionsvektor und Wirtszellen

[0135] Die vorliegende Erfindung umfasst ebenfalls einen rekombinanten Vektor, der mindestens ein erfindungsgemäßes Polynukleotid umfasst.

[0136] Zahlreiche Expressionssysteme können verwendet werden, einschließlich der Chromosomen, der Episomen und derivatisierter Viren. In besonderer Weise können die verwendeten rekombinanten Vektoren abstammen von: bakteriellen Plasmiden, Transposons, Hefe-Episomen, Insertions-Elementen, Elementen von Hefe-Chromosomen, Viren, wie zum Beispiel Baculovirus, Papillomaviren, wie zum Beispiel SV40, Vaccinia-Viren, Adenoviren, Fox-Pox-Viren, Pseudowut-Viren (pseudorabies viruses) und Retroviren.

[0137] Diese rekombinanten Vektoren können ebenso Cosmid- oder Phagemid-Derivate sein. Die Nukleotidsequenz kann in den rekombinanten Expressionsvektor durch Verfahren insertiert werden, die dem Fachmann gut bekannt sind, wie zum Beispiel jene, die beschrieben sind in: „Molecular Cloning, A Laboratory Manual“, Sambrook et al., 4. Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2001.

[0138] Der rekombinante Vektor kann Nukleotidsequenzen umfassen, welche die Regulation der Expression des Polynukleotids kontrollieren, sowie Nukleotidsequenzen, welche die Expression und die Transkription eines Polynukleotids der Erfindung und die Translation eines Polypeptids der Erfindung ermöglichen, wobei diese Sequenzen entsprechend den Wirtszellen ausgewählt werden, die eingesetzt werden.

[0139] Somit kann zum Beispiel ein geeignetes Sekretionssignal in den rekombinanten Vektor eingebaut werden, so dass das Polypeptid, welches durch das Polynukleotid der Erfindung codiert wird, in das Lumen des endoplasmatischen Retikulums, in den periplasmatischen Raum, auf die Membran oder in die extrazelluläre Umgebung geleitet wird.

[0140] Es ist ebenso eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine Wirtszelle bereitzustellen, welche einen

erfindungsgemäßen rekombinanten Vektor umfasst.

[0141] Die Einführung des rekombinanten Vektors in eine Wirtszelle kann entsprechend den Verfahren durchgeführt werden, die dem Fachmann gut bekannt sind, wie zum Beispiel durch jene, die beschrieben sind in: „Basic Methods in Molecular Biology“, Davis et al., 2. Ed., McGraw-Hill Professional Publishing, 1995; und „Molecular Cloning: A Laboratory Manual“, siehe oberhalb; wie zum Beispiel durch eine Transfektion mittels Calciumphosphat, eine Transfektion mittels DEAE-Dextran, Transfektion, Mikroinjektion, Transfektion durch kationische Lipide, Elektroporation, Transduktion oder Infektion.

[0142] Die Wirtszellen können zum Beispiel Bakterienzellen sein, wie zum Beispiel Zellen der Streptokokken, Staphylokokken, Escherichia coli oder Bacillus subtilis, Zellen von Pilzen, wie zum Beispiel Hefezellen und Zellen von Aspergillus, Streptomyces, Insektenzellen, wie zum Beispiel von Drosophila S2 und von Spodoptera Sf9, tierische Zellen, wie zum Beispiel CHO, COS, HeLa, C127, BHK, HEK 293 Zellen und humane Zellen des zu behandelnden Probanden, oder auch Pflanzenzellen.

[0143] Die Wirtszellen können zum Beispiel verwendet werden, um ein Polypeptid der Erfindung zu exprimieren, oder sie können als ein wirksames Produkt in pharmazeutischen Zusammensetzungen verwendet werden, wie nachfolgend beschrieben wird.

Polypeptid

[0144] Es ist ebenso eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein isoliertes Polypeptid bereitzustellen, das eine Aminosäuresequenz umfasst mit mindestens 90 % Identität, stärker bevorzugt mit mindestens 95 % Identität und noch stärker bevorzugt mit mindestens 99 % Identität mit

- a) der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2, oder
- b) der Aminosäuresequenz, welche die Aminosäuren umfasst, die zwischen den Positionen 24 und 189 der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 enthalten sind,

wobei jede der Aminosäuresequenzen von Punkt a) und b) so zu verstehen ist, dass sie den folgenden codierenden SNP G45R enthält.

[0145] Das Polypeptid der Erfindung kann ebenso umfassen:

- a) die Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2, oder
- b) die Aminosäuresequenz, welche die Aminosäuren enthält, die zwischen den Positionen 24 und 189 der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 enthalten sind,

wobei jede der Aminosäuresequenzen von Punkt a) und b) so zu verstehen ist, dass sie den folgenden codierenden SNP G45R enthält.

[0146] Das Polypeptid der Erfindung kann in besonders bevorzugter Weise bestehen aus:

- a) der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2, oder
- b) der Aminosäuresequenz, welche die Aminosäuren enthält, die zwischen den Positionen 24 und 189 der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 enthalten sind,

wobei jede der Aminosäuresequenzen von Punkt a) und b) so zu verstehen ist, dass sie den folgenden codierenden SNP G45R enthält.

[0147] Es ist ebenso eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein isoliertes Polypeptid bereitzustellen, welches umfasst: eine Aminosäuresequenz mit mindestens 90 % Identität, stärker bevorzugt mit mindestens 95 % Identität und noch stärker bevorzugt mit mindestens 99 % Identität mit

- a) der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 3, oder
- b) der Aminosäuresequenz, welche die Aminosäuren umfasst, die zwischen den Positionen 24 und 57 der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 3 enthalten sind,

wobei jede der Aminosäuresequenzen von Punkt a) und b) so zu verstehen ist, dass sie den folgenden codierenden SNP H57Q Leseraster 57 enthält.

[0148] Das Polypeptid der Erfindung kann ebenso umfassen:

- a) die Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 3, oder
- b) die Aminosäuresequenz, welche die Aminosäuren umfasst, die zwischen den Positionen 24 und 57 der

Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 3 enthalten sind.

[0149] Das Polypeptid der Erfindung kann in besonders bevorzugter Weise bestehen aus:

- a) der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 3, oder
- b) der Aminosäuresequenz, welche die Aminosäuren umfasst, die zwischen den Positionen 24 und 57 der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 3 enthalten sind.

[0150] Jede der Aminosäuresequenzen von Punkt a) und b) dieses Polypeptids kann ebenso den SNP G45R umfassen.

[0151] In bevorzugter Weise enthält das erfindungsgemäße Polypeptid einen einzelnen codierenden SNP, der aus der Gruppe ausgewählt wird, die aus G45R und H57Q Leseraster 57 besteht.

[0152] In besonders bevorzugter Weise umfasst das erfindungsgemäße Polypeptid die Aminosäuren 24 bis 189 der Aminosäuresequenz der SEQ ID Nr. 2 und weist den codierenden SNP G45R auf.

[0153] In besonders bevorzugter Weise umfasst das erfindungsgemäße Polypeptid die Aminosäuren 24 bis 57 der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 3.

[0154] Es ist ebenso eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zur Herstellung des vorstehend beschriebenen Polypeptids bereitzustellen, bei dem eine vorstehend definierte Wirtszelle in einem Kulturmedium kultiviert wird, und das Polypeptid aus dem Kulturmedium isoliert wird.

[0155] Das Polypeptid kann ausgehend von dem Kulturmedium der Wirtszellen gereinigt werden, entsprechend den Verfahren, welche einem Fachmann gut bekannt sind, wie zum Beispiel der Präzipitation mit Hilfe von chaotropen Mitteln, wie zum Beispiel Salzen, insbesondere Ammoniumsulfat, Ethanol, Aceton oder Trichloressigsäure, Säureextraktion; Ionenaustausch-Chromatographie; Phosphatcellulose-Chromatographie; Chromatographie der hydrophoben Wechselwirkung; Affinitäts-Chromatographie; Chromatographie mit Hydroxylapatit oder Größenausschluss-Chromatographie.

[0156] Unter dem Begriff „Kulturmedium“ wird ein Medium verstanden, aus dem das Polypeptid der Erfindung isoliert oder gereinigt wird. Dieses Medium kann aus dem extrazellulären Medium und/oder dem zellulären Lysat zusammengesetzt sein. Diejenigen Verfahren, welche dem Fachmann gut bekannt sind, ermöglichen es ebenso, dass dem Polypeptid eine aktive Konformation zurückgegeben wird, falls die Konformation des Polypeptids während der Isolation oder der Reinigung verändert wurde.

Antikörper

[0157] Es ist ebenso eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zur Gewinnung eines immunspezifischen Antikörpers bereitzustellen.

[0158] Unter dem Begriff „Antikörper“ werden monoklonale Antikörper, polyklonale Antikörper, chimäre Antikörper, Antikörper mit einer einzelnen Kette, humanisierte Antikörper, sowie Fab-Fragmente, einschließlich Fab, oder Produkte einer Bibliothek zur Expression von Immunglobulinen verstanden.

[0159] Ein immunspezifischer Antikörper kann durch Immunisierung eines Tiers mit einem erfindungsgemäßen Polypeptid erhalten werden.

[0160] Die Erfindung betrifft ebenso einen immunspezifischen Antikörper für ein erfindungsgemäßes Polypeptid, wie zum Beispiel dem vorstehend definierten.

[0161] Ein erfindungsgemäßes Polypeptid, eines seiner Fragmente, ein Analoges, eines seiner Varianten oder eine Zelle, welche dieses Polypeptid exprimiert, können ebenso verwendet werden, um immunspezifische Antikörper herzustellen.

[0162] Der Ausdruck „immunspezifisch“ bedeutet, dass der Antikörper eine höhere Affinität für das Polypeptid der Erfindung als für andere Peptide, die im Stand der Technik bekannt sind, besitzt.

[0163] Die immunspezifischen Antikörper können durch Verabreichung eines Polypeptids der Erfindung, eines seiner Fragmente, eines Analogens oder eines epitopen Fragments oder einer Zelle, welche dieses Poly-

nukleotid exprimiert, an ein Tier, vorzugsweise nicht an einem Menschen, entsprechend den Verfahren erhalten werden, die dem Fachmann gut bekannt sind.

[0164] Zur Herstellung monoklonaler Antikörper können typische Verfahren zur Herstellung von Antikörpern verwendet werden, welche von Zelllinien ausgehen, wie zum Beispiel der Hybridom-Technologie (Köhler et al., Nature 256: 495–497, 1975), der Trioma-Technologie, der Hybridom-Technologie mit humanen B-Zellen (Kozbor et al., Immunology Today 4: 72, 1983) und der Hybridom-Technologie mittels EBV (Cole et al., „The EBV-Hybridoma Technique and its Application to Human Lung Cancer“, in: Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Vol. 27, UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology, New Series, R. A. Reisfeld und S. Sell, Eds., Alan R. Liss, Inc., N.Y., 1985, pp. 77–96).

[0165] Die Verfahren zur Herstellung von Antikörpern mit einer einzelnen Kette, wie sie zum Beispiel im US-Patent Nr. 4,946,778 beschrieben sind, können ebenso verwendet werden.

[0166] Transgene Tiere, wie zum Beispiel Mäuse, können ebenso verwendet werden, um humanisierte Antikörper herzustellen.

Mittel, welche mit dem Polypeptid der Erfindung wechselwirken

[0167] Es ist ebenso eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zur Identifikation eines Mittels bereitzustellen, welches ein erfindungsgemäßes Polypeptid aktiviert oder hemmt, wobei das Verfahren umfasst:

- a) die Herstellung eines rekombinanten Vektors, welcher ein erfindungsgemäßes Polynukleotid umfasst, das mindestens einen codierenden SNP enthält,
- b) die Herstellung von Wirtszellen, welche einen rekombinanten Vektor von Punkt a) umfassen,
- c) das In-Kontakt-Bringen der Wirtszellen von Punkt b) mit einem zu testenden Mittel und
- d) die Bestimmung der aktivierenden oder hemmenden Wirkung, welche durch das zu testende Mittel erzeugt wird.

[0168] Ein erfindungsgemäßes Polypeptid kann ebenso für ein Verfahren zum Screening von Verbindungen verwendet werden, welche mit diesem wechselwirken.

[0169] Diese Verbindungen können aktivierende (Agonisten) oder hemmende (Antagonisten) Mittel einer intrinsischen Aktivität eines erfindungsgemäßen Polypeptids sein. Diese Verbindungen können ebenso Liganden oder Substrate eines Polypeptids der Erfindung sein. Siehe Coligan et al., Current Protocols in Immunology 1 (2), Kapitel 5, 1991.

[0170] Um ein solches Verfahren aufzubauen, ist es im Allgemeinen zunächst wünschenswert, geeignete Wirtszellen herzustellen, welche ein erfindungsgemäßes Polypeptid exprimieren. Solche Zellen können zum Beispiel Zellen von Säugetieren, Hefen, Insekten, wie zum Beispiel Drosophila, oder von Bakterien, wie zum Beispiel E. coli, sein.

[0171] Diese Zellen oder Membranextrakte dieser Zellen werden anschließend den zu testenden Verbindungen ausgesetzt.

[0172] Die Bindungsfähigkeit der zu testenden Verbindungen gegenüber dem Polypeptid der Erfindung kann anschließend beobachtet werden, sowie die Hemmung oder die Aktivierung der funktionellen Reaktion.

[0173] Der Schritt d) des vorstehenden Verfahrens kann unter Verwendung eines zu testenden Mittels verwirklicht werden, welches unmittelbar oder mittelbar markiert ist. Er kann ebenso einen konkurrierenden Test umfassen, indem ein markiertes oder nicht markiertes Mittel und ein markiertes Mittel als konkurrierendes Molekül verwendet werden.

[0174] Die Bestimmung gemäß Schritt d) des vorstehenden Verfahrens kann ebenso erfolgen, falls ein zu testendes Mittel ein Aktivierungs- oder Hemmungs-Signal in Bezug auf diejenigen Zellen erzeugt, welche das Polypeptid der Erfindung exprimieren, indem Mittel zum Nachweis verwendet werden, die in geeigneter Weise entsprechend dem nachzuweisenden Signal ausgewählt werden.

[0175] Solche aktivierenden oder hemmenden Mittel können Polynukleotide sein, und in bestimmten Fällen können sie zum Beispiel Oligonukleotide oder Polypeptide sein, wie zum Beispiel Proteine oder Antikörper.

[0176] Es ist ebenso eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zur Identifikation eines Mittels bereitzustellen, welches durch das erfindungsgemäße Polypeptid aktiviert oder gehemmt wird, wobei das Verfahren umfasst:

- a) die Herstellung eines rekombinanten Vektors, der ein erfindungsgemäßes Polynukleotid umfasst, welches mindestens einen codierenden SNP enthält,
- b) die Herstellung von Wirtszellen, welche einen rekombinanten Vektor von Punkt a) umfassen,
- c) das Aussetzen der Wirtszellen von Punkt b) dem zu testenden Mittel, und
- d) die Bestimmung der aktivierenden oder hemmenden Wirkung, welche durch das Polypeptid auf das zu testende Mittel ausgeübt wird.

[0177] Ein Mittel, welches durch das Polypeptid der Erfindung aktiviert oder gehemmt wird, ist ein Mittel, das in Form einer Aktivierung bzw. einer Hemmung in Gegenwart dieses Polypeptids reagiert.

[0178] Die Mittel, welche unmittelbar oder mittelbar durch das Polypeptid der Erfindung aktiviert oder gehemmt werden, können aus Polypeptiden bestehen, wie zum Beispiel membranäre oder nukleäre Rezeptoren, Kinasen, und stärker bevorzugt Tyrosinkinasen, Transkriptionsfaktoren oder Polynukleotide.

Nachweis von Krankheiten

[0179] Es ist ebenso eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zur Analyse der biologischen Eigenschaften eines erfindungsgemäßen Polynukleotids und/oder eines erfindungsgemäßen Polypeptids in einem Probanden bereitzustellen, wobei das Verfahren mindestens einen der folgenden Schritte umfasst:

- a) Bestimmen des Vorliegens oder des Fehlens eines erfindungsgemäßen Polynukleotids im Genom eines Probanden;
- b) Bestimmen des Ausmaßes der Expression eines erfindungsgemäßen Polynukleotids in einem Probanden;
- c) Bestimmen des Vorliegens oder des Fehlens eines erfindungsgemäßen Polypeptids in einem Probanden;
- d) Bestimmen der Konzentration eines erfindungsgemäßen Polypeptids in einem Probanden; und/oder
- e) Bestimmen der Funktionalität eines erfindungsgemäßen Polypeptids in einem Probanden.

[0180] Diese biologischen Eigenschaften können in einem Probanden oder in einer Probe von dem Probanden analysiert werden.

[0181] Diese biologischen Eigenschaften können es ermöglichen, eine genetische Diagnose in vitro zu erstellen, und zu bestimmen, ob ein Proband betroffen ist oder ein Risiko besteht, betroffen zu sein, oder im Gegensatz dazu, ob eine teilweise Resistenz gegen die Entwicklung einer Krankheit, einer Unpässlichkeit oder einer Störung vorliegt, die mit dem Vorliegen eines erfindungsgemäßen Polynukleotids und/oder eines erfindungsgemäßen Polypeptids in Zusammenhang stehen.

[0182] Diese Krankheiten können Störungen und/oder humane Krankheiten sein, wie zum Beispiel verschiedene Arten von Krebs und Tumoren, Infektionskrankheiten, Geschlechtskrankheiten, Immun- und/oder Autoimmun-Krankheiten und -Störungen, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Stoffwechselkrankheiten, Krankheiten des zentralen Nervensystems und Störungen, die mit einer Behandlung durch Chemotherapie in Zusammenhang stehen.

[0183] Diese Arten von Krebs und Tumoren umfassen Karzinome, welche metastasierende Nierenkarzinome umfassen, Melanome, Lymphome, welche follikuläre Lymphome (Brill-Symmers-Syndrom) und das kutane T-Zell-Lymphom umfassen, Leukämien, welche Haarzell-Leukämie, chronische lymphocytische Leukämie und chronische myeloide Leukämie umfassen, Leberkrebs, Krebs im Hals- und Kopf-Bereich, sowie Nierenkrebs, multiple Myelome, karzinoide Tumoren und Tumoren, die infolge einer Immunschwäche auftreten und das Kaposi-Sarkom im Falle von AIDS umfassen.

[0184] Diese Infektionskrankheiten umfassen virale Infektionen, welche chronische Hepatitis B und C sowie HIV/AIDS, infektiöse Lungenentzündungen und Geschlechtskrankheiten, wie zum Beispiel Genitalwarzen, umfassen.

[0185] Diese Immun- und Autoimmun-Krankheiten können die Abstoßung von verpflanztem Gewebe oder Organen, Allergien, Asthma, Psoriasis, rheumatoide Arthritis, multiple Sklerose, Crohn'sche Krankheit und eine eiternde Dickdarmentzündung umfassen.

- [0186]** Diese Stoffwechselkrankheiten können solche Krankheiten, die nicht mit dem Immunsystem in Zusammenhang stehen, wie zum Beispiel Fettleibigkeit, umfassen.
- [0187]** Diese Krankheiten des zentralen Nervensystems können die Alzheimer'sche Krankheit, die Parkinson'sche Krankheit, Schizophrenie und Depression umfassen.
- [0188]** Diese Krankheiten und Störungen können ebenso die Wundheilung, Anämie bei dialysierten Patienten sowie Osteoporose umfassen.
- [0189]** Dieses Verfahren gestattet ebenso eine genetische Diagnose einer Krankheit oder der Resistenz gegen eine Krankheit, die mit dem Vorliegen eines mutierten Allels, das durch einen erfindungsgemäßen SNP codiert wird, in einem Probanden verbunden ist.
- [0190]** Vorzugsweise wird in Schritt a) das Vorliegen oder das Fehlen eines Polynukleotids nachgewiesen, welches mindestens einen codierenden SNP, wie zum Beispiel den vorstehend definierten, enthält.
- [0191]** Der Nachweis des Polynukleotids kann ausgehend von biologischen Proben aus dem zu untersuchenden Probanden durchgeführt werden, wie zum Beispiel mit Zellen, Blut, Urin, Speichel oder ausgehend von einer Biopsie oder einer Autopsie des zu untersuchenden Probanden. Die genomische DNA kann für den Nachweis unmittelbar oder zum Beispiel nach einer PCR-Amplifikation verwendet werden. Es können ebenso RNA oder cDNA in einer ähnlichen Weise verwendet werden.
- [0192]** Es ist dann möglich, die Nukleotidsequenz eines erfindungsgemäßen Polynukleotids mit der Nukleotidsequenz, die im Genom des Probanden nachgewiesen wurde, zu vergleichen.
- [0193]** Der Vergleich der Nukleotidsequenzen kann durch Sequenzierung, durch DNA-Hybridisierungsverfahren, durch Unterschiede in der Beweglichkeit der DNA-Fragmente auf einem Elektrophoresegel mit oder ohne denaturierende Mittel oder durch Unterschiede in der Schmelztemperatur durchgeführt werden (siehe Myers et al., Science 230: 1242, 1985). Solche Modifikationen in der Struktur der Nukleotidsequenz an einem genauen Punkt können ebenso durch Tests ermittelt werden, welche den Schutz vor Nukleaseabbau zum Gegenstand haben, wie zum Beispiel RNase oder die S1-Nuklease, durch enzymatischen Verdau und ebenso durch Mittel zur chemischen Spaltung (siehe Cotton et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 4397–4401, 1985). Oligonukleotid-Sonden, welche ein Polynukleotidfragment der Erfindung umfassen, können ebenso verwendet werden, um das Screening durchzuführen.
- [0194]** Es können viele Verfahren, die dem Fachmann gut bekannt sind, dazu verwendet werden, um die Expression eines Polynukleotids der Erfindung zu bestimmen und die genetische Variabilität dieses Polynukleotids zu identifizieren (siehe Chee et al., Science 274: 610–613, 1996).
- [0195]** In Schritt b) kann das Ausmaß der Expression des Polynukleotids durch quantitative Bestimmung der Konzentration der RNA, welche von diesem Polynukleotid codiert wird, (und welche für ein Polypeptid codiert), entsprechend den Verfahren gemessen werden, die einem Fachmann gut bekannt sind, wie zum Beispiel durch PCR, RT-PCR, RNase-Protektion, Northern-Blot und andere Hybridisierungsverfahren.
- [0196]** In Schritt c) und d) kann das Vorliegen oder das Fehlen, sowie die Konzentration eines erfindungsgemäßen Polypeptids in einem Probanden oder in einer Probe aus einem Probanden mittels gut bekannter Verfahren durchgeführt werden, wie zum Beispiel durch einen Radioimmunoassay, konkurrierende Bindungstests, Western-Blot und ELISA-Tests.
- [0197]** Im Anschluss an Schritt d) kann die bestimmte Konzentration des erfindungsgemäßen Polypeptids mit der Konzentration des natürlichen Proteins des Wildtyps, die üblicherweise in einem Probanden gefunden wird, verglichen werden.
- [0198]** Ein Fachmann kann den Schwellenwert, oberhalb bzw. unterhalb dessen eine Anfälligkeit, oder im Gegensatz dazu, eine Resistenz gegen eine Krankheit, eine Unpässlichkeit oder eine zuvor hervorgerufene Störung auftreten, mit der Hilfe von Veröffentlichungen im Stand der Technik oder durch herkömmliche Tests oder Assays identifizieren, wie zum Beispiel jene, die zuvor erwähnt wurden.
- [0199]** In Schritt e) kann die Bestimmung der Funktionalität eines erfindungsgemäßen Polypeptids durch Verfahren, welche dem Fachmann gut bekannt sind, durchgeführt werden, wie zum Beispiel durch solche in vitro

Tests, die zuvor erwähnt wurden, oder durch die Verwendung von Wirtszellen, welche dieses Polypeptid exprimieren.

Therapeutische Verbindungen und Behandlung von Krankheiten

[0200] Es ist ebenso eine Aufgabe der vorliegenden, eine therapeutische Verbindung bereitzustellen, welche ein erfindungsgemäßes Polypeptid in Form eines wirksamen Mittels enthält.

[0201] Die Erfindung betrifft ebenso die Verwendung eines erfindungsgemäßen Polypeptids für die Herstellung einer therapeutischen Verbindung, die für die Vorbeugung oder die Behandlung von unterschiedlichen humanen Störungen und/oder Krankheiten vorgesehen ist. Diese Krankheiten können Störungen und/oder humane Krankheiten sein, wie zum Beispiel verschiedene Arten von Krebs und Tumoren, Infektionskrankheiten, Geschlechtskrankheiten, Immun- und/oder Autoimmun-Krankheiten und -Störungen, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Stoffwechselkrankheiten, Krankheiten des zentralen Nervensystems, sowie Krankheiten, die mit der Behandlung durch Chemotherapie in Zusammenhang stehen.

[0202] Diese Arten von Krebs und Tumoren umfassen Karzinome, welche metastasierende Nierenkarzinome umfassen, Melanome, Lymphome, welche follikuläre Lymphome (Brill-Symmers-Syndrom) und das kutane T-Zell-Lymphom umfassen, Leukämien, welche Haarzell-Leukämie, chronische lymphocytische Leukämie und chronische myeloide Leukämie umfassen, Leberkrebs, Krebs im Hals- und Kopf-Bereich, sowie Nierenkrebs, multiple Myelome, karzinoide Tumoren und Tumoren, die infolge einer Immunschwäche auftreten und das Kaposi-Sarkom im Falle von AIDS umfassen.

[0203] Diese Infektionskrankheiten umfassen virale Infektionen, welche chronische Hepatitis B und C sowie HIV/AIDS, infektiöse Lungenentzündungen und Geschlechtskrankheiten, wie zum Beispiel Genitalwarzen, umfassen.

[0204] Diese Immun- und Autoimmun-Krankheiten können die Abstoßung von verpflanztem Gewebe oder Organen, Allergien, Asthma, Psoriasis, rheumatoide Arthritis, multiple Sklerose, Crohn'sche Krankheit und eine eiternde Dickdarmentzündung umfassen.

[0205] Diese Stoffwechselkrankheiten können solche Krankheiten, die nicht mit dem Immunsystem in Zusammenhang stehen, wie zum Beispiel Fettleibigkeit, umfassen.

[0206] Diese Krankheiten des zentralen Nervensystems können die Alzheimer'sche Krankheit, die Parkinson'sche Krankheit, Schizophrenie und Depression umfassen.

[0207] Diese Krankheiten und Störungen können ebenso die Wundheilung, Anämie bei dialysierten Patienten sowie Osteoporose umfassen.

[0208] In bevorzugter Weise kann ein erfindungsgemäßes Polypeptid ebenso für die Herstellung einer therapeutischen Verbindung verwendet werden, die für die Vorbeugung oder die Behandlung von verschiedenen humanen Störungen und/oder Krankheiten vorgesehen ist, wie zum Beispiel für bestimmte virale Infektionen, wie zum Beispiel chronische Hepatitis B und C, Leukämien, wie zum Beispiel Haarzell-Leukämie und chronische myeloide Leukämie, multiple Myelome, follikuläre Lymphome (Brill-Symmers-Syndrom), karzinoide Tumore, maligne Melanome, metastasierende Nierenkarzinome, Alzheimer'sche Krankheit, Parkinson'sche Krankheit, sowie Tumore, die infolge einer Immunschwäche auftreten, wie zum Beispiel das Kaposi-Sarkom im Falle von AIDS, sowie Genitalwarzen oder Geschlechtskrankheiten.

[0209] Bestimmte Verbindungen, welche es gestatten, das Polypeptid entsprechend der Erfindung zu erhalten, sowie jene Verbindungen, welche durch dieses oder von diesem Polypeptid erhalten oder identifiziert wurden, können in ähnlicher Weise für die therapeutische Behandlung des menschlichen Körpers verwendet werden, das heißt, als eine therapeutische Verbindung.

[0210] Dies ist der Grund dafür, weshalb die vorliegende Erfindung ebenso zur Aufgabe hat, ein Medikament bereitzustellen, das ein erfindungsgemäßes Polynukleotid in Form eines wirksamen Mittels enthält, welches Polynukleotid mindestens einen zuvor definierten codierenden SNP, einen vorstehend definierten rekombinanten Vektor, eine vorstehend definierte Wirtszelle und/oder einen vorstehend definierten Antikörper enthält.

[0211] Die Erfindung betrifft ebenso die Verwendung eines erfindungsgemäßen Polynukleotids, welches min-

destens einen vorstehend definierten codierenden SNP, einen vorstehend definierten rekombinanten Vektor, eine vorstehend definierte Wirtszelle und/oder einen vorstehend definierten Antikörper für die Herstellung eines Medikaments enthält, das für die Vorbeugung oder die Behandlung verschiedener humaner Störungen und/oder Krankheiten vorgesehen ist. Diese Krankheiten können Störungen und/oder humane Krankheiten sein, wie zum Beispiel verschiedene Arten von Krebs und Tumoren, Infektionskrankheiten, Geschlechtskrankheiten, Immun- und/oder Autoimmun-Krankheiten und -Störungen, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Stoffwechselkrankheiten, Krankheiten des zentralen Nervensystems und Störungen, die mit der Behandlung durch Chemotherapie in Zusammenhang stehen.

[0212] Diese Arten von Krebs und Tumoren umfassen Karzinome, welche metastasierende Nierenkarzinome umfassen, Melanome, Lymphome, welche follikuläre Lymphome (Brill-Symmers-Syndrom) und das kutane T-Zell-Lymphom umfassen, Leukämien, welche Haarzell-Leukämie, chronische lymphocytische Leukämie und chronische myeloide Leukämie umfassen, Leberkrebs, Krebs im Hals- und Kopf-Bereich, sowie Nierenkrebs, multiple Myelome, karzinoide Tumoren und Tumoren, die infolge einer Immunschwäche auftreten und das Kaposi-Sarkom im Falle von AIDS umfassen.

[0213] Diese Infektionskrankheiten umfassen virale Infektionen, welche chronische Hepatitis B und C sowie HIV/AIDS, infektiöse Lungenentzündungen und Geschlechtskrankheiten, wie zum Beispiel Genitalwarzen, umfassen.

[0214] Diese Immun- und Autoimmun-Krankheiten können die Abstoßung von verpflanztem Gewebe oder Organen, Allergien, Asthma, Psoriasis, rheumatoide Arthritis, multiple Sklerose, Crohn'sche Krankheit und eine eiternde Dickdarmentzündung umfassen.

[0215] Diese Stoffwechselkrankheiten können solche Krankheiten, die nicht mit dem Immunsystem in Zusammenhang stehen, wie zum Beispiel Fettleibigkeit, umfassen.

[0216] Diese Krankheiten des zentralen Nervensystems können die Alzheimer'sche Krankheit, die Parkinson'sche Krankheit, Schizophrenie und Depression umfassen.

[0217] Diese Krankheiten und Störungen können ebenso die Wundheilung, Anämie bei dialysierten Patienten sowie Osteoporose umfassen.

[0218] Vorzugsweise betrifft die Erfindung die Verwendung eines erfindungsgemäßen Polynukleotids, das mindestens einen vorstehend definierten SNP, einen vorstehend definierten rekombinanten Vektor, eine vorstehend definierte Wirtszelle und/oder einen vorstehend definierten Antikörper für die Herstellung eines Medikaments enthält, das für die Vorbeugung oder die Behandlung verschiedener humaner Störungen und/oder Krankheiten vorgesehen ist, wie zum Beispiel für bestimmte virale Infektionen, wie zum Beispiel chronische Hepatitis B und C, Leukämien, wie zum Beispiel Haarzell-Leukämie und chronische myeloide Leukämie, multiple Myelome, follikuläre Lymphome (Brill-Symmers-Syndrom), karzinoide Tumore, maligne Melanome, metastasierende Nierenkarzinome, Alzheimer'sche Krankheit, Parkinson'sche Krankheit, sowie Tumore, die infolge einer Immunschwäche auftreten, wie zum Beispiel das Kaposi-Sarkom im Falle von AIDS, sowie Genitalwarzen oder Geschlechtskrankheiten.

[0219] Die Dosierung eines Polypeptids und der anderen Verbindungen der Erfindung, die als ein wirksames Mittel nützlich sind, hängt von der Wahl der Verbindung, der therapeutischen Indikation, der Art der Verabreichung, des Wesens der Formulierung, des Wesens des Probanden und der Beurteilung durch den behandelnden Arzt ab.

[0220] Wenn ein erfindungsgemäßes Polypeptid als ein aktives Mittel verwendet wird, wird es im Allgemeinen bei einer Dosis verabreicht, die im Bereich zwischen 1 und 15 M IU (International Unit; internationale Einheit) liegt. Die empfohlene Dosis kann entweder auf subkutanem Weg oder auf intramuskulärem Weg zwischen 1- bis 5-mal pro Woche, für 1 bis 12 Monate, verabreicht werden.

[0221] Es ist ebenso eine Aufgabe der Erfindung, eine pharmazeutische Zusammensetzung bereitzustellen, welche mindestens eine vorstehend erwähnte Verbindung als ein wirksames Mittel enthält, wie zum Beispiel ein erfindungsgemäßes Polypeptid, ein erfindungsgemäßes Polynukleotid, das mindestens einen vorstehend definierten SNP enthält, einen vorstehend definierten rekombinanten Vektor, eine vorstehend definierte Wirtszelle und/oder einen vorstehend definierten Antikörper sowie einen pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoff enthält.

[0222] In diesen pharmazeutischen Zusammensetzungen liegt das wirksame Mittel in vorteilhafter Weise in einer physiologisch wirksamen Dosis vor.

[0223] Diese pharmazeutischen Zusammensetzungen können zum Beispiel Feststoffe oder Flüssigkeiten sein, und sie können in pharmazeutischen Arzneimittelformen vorliegen, die derzeit in der Humanmedizin verwendet werden, wie zum Beispiel einfache oder beschichtete Tabletten, Gelkapseln, Granulate, Karamelbons, Zäpfchen und vorzugsweise injizierbare Zubereitungen sowie Pulver für injizierbare Arzneimittelformen.

[0224] Diese pharmazeutischen Formen können entsprechend den üblichen Verfahren hergestellt werden.

[0225] Das wirksame Mittel kann (die wirksamen Mittel können) in Hilfsmittel eingebracht werden, die üblicherweise in pharmazeutischen Zusammensetzungen verwendet werden, wie zum Beispiel Talkum, arabisches Gummi, Laktose, Stärke, Dextrose, Glycerin, Ethanol, Magnesiumstearat, Kakaobutter, wässrige und nicht wässrige Vehikel, fettartige Substanzen von tierischem oder pflanzlichem Ursprung, paraffinartige Derivate, Glycole, verschiedene Feuchthaltemittel, Dispersionsmittel oder Emulgatoren und Konservierungsmittel.

[0226] Das erfindungsgemäße wirksame Mittel (die erfindungsgemäßen wirksamen Mittel) kann (können) allein oder in Kombination mit anderen Verbindungen verwendet werden, wie zum Beispiel therapeutischen Verbindungen, wie zum Beispiel anderen Cytokinen, wie zum Beispiel Interleukinen oder Interferonen.

[0227] Die unterschiedlichen Formulierungen der pharmazeutischen Zusammensetzungen werden entsprechend der Art der Verabreichung eingestellt.

[0228] Die pharmazeutischen Formulierungen können durch unterschiedliche Wege der Verabreichung, welche dem Fachmann bekannt sind, verabreicht werden.

[0229] Es ist ebenso eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine diagnostische Zusammensetzung bereitzustellen, welche mindestens eine vorstehend erwähnte Verbindung als ein wirksames Mittel enthält, wie zum Beispiel eine erfindungsgemäße Polypeptid, ein erfindungsgemäßes Polynukleotid, einen vorstehend definierten rekombinanten Vektor, eine vorstehend definierte Wirtszelle und/oder einen vorstehend definierten Antikörper, sowie einen geeigneten pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoff.

[0230] Diese diagnostische Zusammensetzung kann zum Beispiel einen geeigneten Hilfsstoff enthalten, wie zum Beispiel jene, die im Allgemeinen in der diagnostischen Zusammensetzung verwendet werden, wie zum Beispiel Puffer und Konservierungsmittel.

[0231] Es ist ebenso eine Aufgabe der Erfindung, die Verwendung von folgenden Stoffen bereitzustellen:

- a) eine therapeutisch wirksame Menge eines erfindungsgemäßen Polypeptids, und/oder
- b) ein erfindungsgemäßes Polynukleotid, und/oder
- c) eine Wirtszelle aus dem vorstehend definierten, zu behandelnden Probanden,

um eine therapeutische Verbindung herzustellen, die dafür vorgesehen ist, die Expression oder die Aktivität eines erfindungsgemäßen Polypeptids in einem Probanden zu steigern.

[0232] Somit sind verschiedene Verfahren möglich, einen Probanden zu behandeln, der einen Anstieg bezüglich der Expression oder der Aktivität eines erfindungsgemäßen Polypeptids benötigt.

[0233] Es ist möglich, einem Probanden eine therapeutisch wirksame Menge eines Polypeptids der Erfindung, zusammen mit einem pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoff zu verabreichen.

[0234] Es ist ebenso möglich, die endogene Produktion eines Polypeptids der Erfindung durch Verabreichung eines erfindungsgemäßen Polynukleotids an den Probanden zu erhöhen. Zum Beispiel kann dieses Polynukleotid in einem retroviralen Expressionsvektor inseriert sein. Ein solcher Vektor kann ausgehend von Zellen isoliert werden, die mit einem retroviralen Plasmidvektor infiziert wurden, der RNA enthält, welche für das Polypeptid der Erfindung codiert, in solch einer Weise, dass die transduzierten Zellen infektiöse virale Partikel produzieren, welche das betreffende Gen enthalten (siehe "Gene therapy and other Molecular Genetic based Therapeutic Approaches", Kapitel 20, in Human Molecular Genetics, Strachan und Read, BIOS Scientifics Publishers Ltd., 1996).

[0235] In Übereinstimmung mit der Erfindung wird ein Polynukleotid bevorzugt verwendet, das mindestens

einen codierenden SNP, wie zum Beispiel den vorstehend definierten, enthält.

[0236] Es ist ebenso möglich, Wirtszellen an den Probanden zu verabreichen, welche ihm gehören, wobei diese Wirtszellen zuvor dem Probanden entnommen und modifiziert wurden, so dass sie das Polypeptid der Erfindung, wie vorstehend definiert, exprimieren.

[0237] Die vorliegende Erfindung betrifft ebenso die Verwendung von:

- a) einer therapeutisch wirksamen Menge eines vorstehend definierten immunspezifischen Antikörpers, und/oder
- b) eines Polynukleotids, welches die Hemmung der Expression eines erfindungsgemäßen Polynukleotids ermöglicht,

um eine therapeutische Verbindung herzustellen, die dafür vorgesehen ist, die Expression oder die Aktivität eines erfindungsgemäßen Polypeptids in einem Probanden herabzusetzen.

[0238] Somit ist es möglich, einem Probanden eine therapeutisch wirksame Menge eines hemmenden Mittels und/oder eines Antikörpers, wie zum Beispiel des vorstehend definierten, zu verabreichen, möglicherweise in Kombination mit einem pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoff.

[0239] Es ist ebenso möglich, die endogene Produktion eines Polypeptids der Erfindung durch Verabreichung eines komplementären erfindungsgemäßen Polynukleotids an den Probanden herabzusetzen, welches die Hemmung der Expression eines Polynukleotids der Erfindung ermöglicht.

[0240] Vorzugsweise kann ein komplementäres Polynukleotid, das mindestens einen codierenden SNP enthält, wie zum Beispiel den vorstehend definierten, verwendet werden.

[0241] Die vorliegende Erfindung betrifft ebenso die Verwendung eines IFN α -17-Proteins für die Herstellung eines Medikaments zur Vorbeugung oder zur Behandlung eines Patienten mit einer Störung und einer Krankheit, die durch eine Variante von IFN α -17 verursacht wurde, welche mit dem Vorliegen einer Nukleotidsequenz mit mindestens 95 % Identität (vorzugsweise von 97 % Identität, stärker bevorzugt von 99 % Identität und besonders bevorzugt von 100 % Identität) mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 im Genom dieses Patienten verbunden ist, mit der Maßgabe, dass diese Nukleotidsequenz mindestens einen der folgenden SNPs: g771c oder 808Ins(a) umfasst.

[0242] Vorzugsweise wird dieses Medikament für die Vorbeugung oder die Behandlung von einer der Krankheiten verwendet, die aus der Gruppe ausgewählt werden, welche aus verschiedenen Arten von Krebs und Tumoren, Infektionskrankheiten, Geschlechtskrankheiten, Immun- und/oder Autoimmun-Krankheiten und -Störungen, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Stoffwechselkrankheiten, Krankheiten des zentralen Nervensystems und Störungen, die mit der Behandlung durch Chemotherapie in Zusammenhang stehen, besteht.

[0243] Diese Arten von Krebs und Tumoren umfassen Karzinome, welche metastasierende Nierenkarzinome umfassen, Melanome, Lymphome, welche follikuläre Lymphome (Brill-Symmers-Syndrom) und das kutane T-Zell-Lymphom umfassen, Leukämien, welche Haarzell-Leukämie, chronische lymphocytische Leukämie und chronische myeloide Leukämie umfassen, Leberkrebs, Krebs im Hals- und Kopf-Bereich, sowie Nierenkrebs, multiple Myelome, karzinoide Tumoren und Tumoren, die infolge einer Immunschwäche auftreten und das Kaposi-Sarkom im Falle von AIDS umfassen.

[0244] Diese Infektionskrankheiten umfassen virale Infektionen, welche chronische Hepatitis B und C sowie HIV/AIDS, infektiöse Lungenentzündungen und Geschlechtskrankheiten, wie zum Beispiel Genitalwarzen, umfassen.

[0245] Diese Immun- und Autoimmun-Krankheiten können die Abstoßung von verpflanztem Gewebe oder Organen, Allergien, Asthma, Psoriasis, rheumatoide Arthritis, multiple Sklerose, Crohn'sche Krankheit und eine eiternde Dickdarmentzündung umfassen.

[0246] Diese Stoffwechselkrankheiten können solche Krankheiten, die nicht mit dem Immunsystem in Zusammenhang stehen, wie zum Beispiel Fettleibigkeit, umfassen.

[0247] Diese Krankheiten des zentralen Nervensystems können die Alzheimer'sche Krankheit, die Parkinson'sche Krankheit, Schizophrenie und Depression umfassen.

[0248] Diese Krankheiten und Störungen können ebenso die Wundheilung, Anämie bei dialysierten Patienten sowie Osteoporose umfassen.

Mimetische Verbindungen eines IFN α -17 Polypeptids, welches den SNP g771c der Erfindung umfasst

[0249] Die vorliegende Erfindung betrifft ebenso eine neue Verbindung mit einer biologischen Aktivität, die im Wesentlichen ähnlich ist zu jener des Polypeptids von:

- a) der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2, oder
- b) der Aminosäuresequenz, welche die Aminosäuren umfasst, die zwischen den Positionen 24 und 189 der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 enthalten sind;

mit der Maßgabe, dass diese Aminosäuresequenzen von Punkt a) und b) den SNP G45R umfassen.

[0250] Diese biologische Aktivität kann zum Beispiel durch Messung der Reifung dendritischer Zellen, der Freisetzung von Cytokinen durch CD4+ und CD8+ T-Lymphocyten, der Freisetzung von Cytokinen durch Monocyten, der antiviralen Aktivität in vitro oder in vivo, der zellulären antiproliferativen Wirkung auf die TF-1-Zelllinie, oder der zellulären antiproliferativen Wirkung auf die Daudi-Burkitt-Zelllinie gemessen werden, wie im experimentellen Teil beschrieben.

[0251] Wie im experimentellen Teil erwähnt, besitzt IFN α -17 mit der Mutation G45R im Vergleich zu IFN α -2 des Wildtyps:

- eine höhere Fähigkeit, die Freisetzung von IFN- γ durch CD4+ T-Lymphocyten zu stimulieren,
- eine höhere Fähigkeit, die Freisetzung von IFN- γ und IL-10 durch CD8+ T-Lymphocyten zu stimulieren,
- eine geringere Fähigkeit, die Freisetzung von IL-10 und IL-12 durch Monocyten zu stimulieren,
- eine ähnliche antiproliferative Wirkung auf TF-1-Zellen,
- eine höhere antiproliferative Wirkung auf Zellen der Daudi-Burkitt-Zelllinie,
- eine höhere antivirale Wirkung in vitro in einer Zellkultur, die mit VS infiziert ist,
- eine höhere antivirale Aktivität in vivo im EMCV-Mausmodell.

[0252] Wie auch im experimentellen Teil erwähnt, besitzt das IFN α -17 mit der Mutation G45R eine geringere zelluläre antiproliferative Wirkung auf eine Daudi-Burkitt-Zelllinie im Vergleich zu jenem IFN α -17 des Wildtyps.

[0253] Eine neue Verbindung der Erfindung, wie zum Beispiel die vorstehend definierte, kann eine biologische Aktivität aufweisen, die im Wesentlichen zu jener des IFN α -17 mit der Mutation G45R ähnlich ist.

[0254] Diese Verbindung kann ebenso eine biologische Aktivität aufweisen, wie zum Beispiel die Freisetzung von IFN- γ durch CD4+ oder CD8+ T-Lymphocyten, die Freisetzung von IL-10 durch CD8+ T-Lymphocyten, eine antivirale Aktivität in vitro oder eine antivirale Aktivität in vivo, welche sogar höher ist als jene des IFN α -17 mit der Mutation G45R.

[0255] Diese Verbindung kann ebenso eine biologische Aktivität aufweisen, wie zum Beispiel die Freisetzung von IL-10 und IL-12 durch Monocyten, welche sogar geringer ist als jene des IFN α -17 mit der Mutation G45R.

[0256] Diese Verbindung kann eine biochemische Verbindung sein, wie zum Beispiel ein Polypeptid oder zum Beispiel ein Peptid, oder eine organische chemische Verbindung, wie zum Beispiel ein synthetisches Peptid-Mimetikum.

[0257] Die vorliegende Erfindung betrifft ebenso die Verwendung eines Polypeptids der Erfindung, welches den SNP G45R enthält, für die Identifizierung einer Verbindung, wie zum Beispiel der vorstehend definierten.

[0258] Die vorliegende Erfindung betrifft ebenso ein Verfahren zur Identifikation einer Verbindung der Erfindung, welches die folgenden Schritte umfasst:

- a) Bestimmen der biologischen Aktivität der zu testenden Verbindung, wie zum Beispiel der Reifung dendritischer Zellen, der Freisetzung eines Cytokins durch CD4+ oder CD8+ T-Lymphocyten, der Freisetzung von Cytokinen durch Monocyten, der zellulären antiproliferativen Wirkung auf die TF-1-Zelllinie, der zellulären antiproliferativen Wirkung auf die Daudi-Burkitt-Zelllinie, der antiviralen Aktivität in vitro oder in vivo,
- b) Vergleichen
 - i) der in Schritt a) bestimmten Aktivität der zu testenden Verbindung mit
 - ii) der Aktivität des Polypeptids der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2, oder der Aminosäuresequenz, welche die Aminosäuren umfasst, die zwischen den Positionen 24 und 189 der Aminosäuresequenz SEQ ID

Nr. 2 enthalten sind; mit der Maßgabe, dass diese Aminosäuresequenzen den SNP G45R enthalten; und c) Bestimmen auf der Grundlage des in Schritt b) durchgeführten Vergleichs, ob die zu testende Verbindung eine im Wesentlichen ähnliche, oder geringere oder höhere Aktivität aufweist, im Vergleich mit jener des Polypeptids der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2, oder der Aminosäuresequenz, welche die Aminosäuren umfasst, die zwischen den Positionen 24 und 189 der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 enthalten sind; mit der Maßgabe, dass diese Aminosäuresequenzen den SNP G45R umfassen.

[0259] Vorzugsweise kann die zu testende Verbindung zuvor aus kombinatorischen Bibliotheken synthetischer Peptide und durch Screening mit hohem Durchsatz identifiziert werden, oder sie kann durch Computer-unterstütztes Arzneimittel-Design konzipiert werden, so dass sie dieselbe dreidimensionale Struktur wie jene des Polypeptids der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2, oder der Aminosäuresequenz aufweist, welche die Aminosäuren umfasst, die zwischen den Positionen 24 und 189 der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 enthalten sind, mit der Maßgabe, dass diese Aminosäuresequenzen den SNP G45R umfassen.

[0260] Die Verfahren zur Identifikation und zur Konzeption von Verbindungen sind dem Fachmann gut bekannt.

[0261] Veröffentlichungen, welche auf diese Verfahren Bezug nehmen, können zum Beispiel sein:

- Silvermann R. B., "Organic chemistry of drug design and drug action", Academic Press, 1. Ed., 15. Jan. 1992
- Anderson S. und Chiplin J., "Structural genomics; shaping the future of drug design", Drug Discov. Today 7(2): 105–107, 2002
- Selick H. E., Beresford A. P., Tarbit M. H., "The emerging importance of predictive ADME simulation in drug discovery", Drug Discov. Today 7(2): 109–116, 2002
- Burbidge R., Trotter M., Buxton B., Holden S., "Drug design by machine learning: support vector machines for pharmaceutical data analysis", Comput. Chem. 26(1): 5–14, 2001
- Kauvar L. M., "Peptide mimetic drugs: a comment on progress and prospects" Nature Biotechnology 14(6): 709, June 1996

[0262] Die Verbindungen der Erfindung können für die Herstellung eines Medikaments verwendet werden, das für die Vorbeugung oder zur Behandlung einer der Krankheiten vorgesehen ist, welche aus der Gruppe ausgewählt werden, die aus verschiedenen Arten von Krebs und Tumoren, Infektionskrankheiten, Geschlechtskrankheiten, Immun- und/oder Autoimmun-Krankheiten und -Störungen, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Stoffwechselkrankheiten, Krankheiten des zentralen Nervensystems und Störungen, die mit der Behandlung durch Chemotherapie in Zusammenhang stehen, besteht.

[0263] Diese Arten von Krebs und Tumoren umfassen Karzinome, welche metastasierende Nierenkarzinome umfassen, Melanome, Lymphome, welche follikuläre Lymphome (Brill-Symmers-Syndrom) und das kutane T-Zell-Lymphom umfassen, Leukämien, welche Haarzell-Leukämie, chronische lymphocytische Leukämie und chronische myeloide Leukämie umfassen, Leberkrebs, Krebs im Hals- und Kopf-Bereich, sowie Nierenkrebs, multiple Myelome, karzinoide Tumoren und Tumoren, die infolge einer Immunschwäche auftreten und das Kaposi-Sarkom im Falle von AIDS umfassen.

[0264] Diese Infektionskrankheiten umfassen virale Infektionen, welche chronische Hepatitis B und C sowie HIV/AIDS, infektiöse Lungenentzündungen und Geschlechtskrankheiten, wie zum Beispiel Genitalwarzen, umfassen.

[0265] Diese Immun- und Autoimmun-Krankheiten können die Abstoßung von verpflanztem Gewebe oder Organen, Allergien, Asthma, Psoriasis, rheumatoide Arthritis, multiple Sklerose, Crohn'sche Krankheit und eine eiternde Dickdarmentzündung umfassen.

[0266] Diese Stoffwechselkrankheiten können solche Krankheiten, die nicht mit dem Immunsystem in Zusammenhang stehen, wie zum Beispiel Fettleibigkeit, umfassen.

[0267] Diese Krankheiten des zentralen Nervensystems können die Alzheimer'sche Krankheit, die Parkinson'sche Krankheit, Schizophrenie und Depression umfassen.

[0268] Diese Krankheiten und Störungen können ebenso die Wundheilung, Anämie bei dialysierten Patienten sowie Osteoporose umfassen.

[0269] Die Verbindungen der Erfindung können vorzugsweise für die Herstellung eines Medikaments verwendet werden, das für die Vorbeugung oder die Behandlung einer der Krankheiten vorgesehen ist, die aus der Gruppe ausgewählt werden, welche aus bestimmten viralen Infektionen, wie zum Beispiel chronische Hepatitis B und C, Leukämien, wie zum Beispiel Haarzell-Leukämie und chronische myeloide Leukämie, multiple Myelome, follikuläre Lymphome (Brill-Symmers-Syndrom), karzinoide Tumore, maligne Melanome, metastasierende Nierenkarzinome, Alzheimer'sche Krankheit, Parkinson'sche Krankheit, sowie Tumore, die infolge einer Immunschwäche auftreten, wie zum Beispiel das Kaposi-Sarkom im Falle von AIDS, sowie Genitalwarzen oder Geschlechtskrankheiten, besteht.

EXPERIMENTELLER TEIL

Beispiel 1: Modellieren eines Proteins, welches durch ein Polynukleotid der Nukleotidsequenz codiert wird, welche den SNP G45R enthält, und eines Proteins, welches durch die Nukleotidsequenz des Gens des als Referenz dienenden Wildtyps codiert wird

[0270] In einem ersten Schritt wurde die dreidimensionale Struktur von IFN α -17 ausgehend von jener des IFN α -2 konstruiert, dessen Struktur in der PDB-Datenbank (Code 1ITF) und durch die Verwendung der Software Modeler (MSI, San Diego, CA) erhältlich ist.

[0271] Das reife Polypeptid-Fragment wurde anschließend in einer solchen Weise modifiziert, um die Mutation G45R zu reproduzieren.

[0272] Eintausend molekulare Minimierungsschritte wurden mit diesem mutierten Fragment durchgeführt, indem die Programme AMBER und DISCOVER (MSI: Molecular Simulations Inc.) verwendet wurden.

[0273] Zwei molekulardynamische Berechnungen wurden anschließend mit demselben Programm und denselben Kraftfeldern durchgeführt.

[0274] In jedem Fall wurden 50.000 Schritte bei 300°K berechnet, die durch 300 Gleichgewichtsschritte beendet wurden.

[0275] Das Ergebnis dieser Modellierung ist in den [Fig. 1A](#) und [Fig. 1B](#) zu sehen.

Beispiel 2: Expression des natürlichen IFN α -17 des Wildtyps und des IFN α -17 mit der Mutation G45R in Hefe

a) Klonierung des natürlichen IFN α -17 des Wildtyps und des mutierten IFN α -17 in dem eukaryotischen Expressionsvektor pPicZa-Topo

[0276] Die Nukleotidsequenzen, welche für den reifen Teil des natürlichen IFN α -17 des Wildtyps und des IFN α -17 mit der Mutation G45R codieren, werden durch PCR amplifiziert, wobei ein Templat mit genomischer DNA aus einem Individuum verwendet wird, das heterozygot bezüglich des SNPs ist.

[0277] Die PCR-Primer, welche eine solche Amplifikation ermöglichen, sind:

SEQ ID Nr. 6: Sens-Primer: TGT GAT CTG CCT CAG ACC CAC

SEQ ID Nr. 7: Antisens-Primer: TCA ATC CTT CCT CCT TAA TAT TTT TTG C

[0278] Die PCR-Produkte werden in den eukaryotischen Expressionsvektor pPicZa-Topo unter der Kontrolle des Hybridpromotors AOX1 inseriert, der durch Methanol induzierbar ist (TOPOTM-Cloning, Invitrogen Corp.).

[0279] Dieser Vektor ermöglicht die heterologe Expression eukaryotischer Proteine in der Hefe *Pichia pastoris*.

[0280] Nach der Überprüfung der Nukleotidsequenz in dem Bereich des Vektors, der für die rekombinanten Proteine codiert, wird der Vektor durch das Restriktionsenzym Pme1 linearisiert, und der Hefestamm *P. pastoris* (Invitrogen) wird mit diesen rekombinanten Expressionsvektoren transformiert.

b) Heterologe Expression in *P. pastoris* und Reinigung des IFN α -17 des Wildtyps und des IFN α -17-Proteins mit der Mutation G45R

[0281] Zwei gesättigte Vorkulturen von 50 ml BMGY-Medium (2 % Pepton, 1 % Hefeextrakt, 1,34 % YNB, 1

% Glycerin, 100 mM Kaliumphosphat, 0,4 mg/l Biotin, pH 6,0), welche Kulturen einen Klon enthielten, der für das IFN α -17-Protein des Wildtyps codiert, oder der für das IFN α -17-Protein mit der Mutation G45R codiert, wurden für 24 bis 48 Stunden bei 30°C unter Rühren bei 200 Umdrehungen/Minute (UpM) durchgeführt.

[0282] Wenn die Kultur eine gesättigte Zelldichte (entsprechend einer optischen Dichte von 12, gemessen bei einer Wellenlänge von 600 nm) erreicht, wird sie dazu verwendet, 250 ml BMMY-Medium (2 % Pepton, 1 % Hefeextrakt, 1,34 % YNB, 0,5 % Methanol, 100 mM Kaliumphosphat, 0,4 mg/l Biotin, pH 6,0) bei 5 OD/ml zu beimpfen.

[0283] Die Expression des Proteins wird anschließend durch Methanol mit einer Endkonzentration von 1 % für 24 Stunden bei 30°C induziert, wobei das Kulturgefäß mit 180 UpM gerührt wird.

[0284] Aufgrund des Vorliegens einer Signalpeptid-Sequenz des „ α -Faktors“, stromaufwärts von der kodierenden Sequenz, werden die Proteine durch die Hefen in das Kulturmedium sezerniert. Der α -Faktor wird in natürlicher Weise während des Prozessierens abgespalten.

[0285] Die Suspension wird zentrifugiert und das Protein wird durch HPLC ausgehend von dem erhaltenen Überstand gereinigt.

[0286] In einem Schritt vor dem Start ermöglicht eine Ultrafiltration (Labscale, Ausschluss-Molekulargewicht 5.000 Da, Millipore), gefolgt von einer Dialyse eine Konzentrierung des Hefeüberstandes auf die zehnfache Konzentration in einem Puffer von 50 mM Tris-HCl, pH 9,0; 25 mM NaCl.

[0287] Der erste chromatographische Schritt ermöglicht eine Protein-Rückgewinnung durch Affinität auf einer blauen Sepharose-Säule (Sepharose Blue; Amersham Pharmacia). Das Vorliegen des Proteins in den gesammelten Fraktionen wird bestätigt, einerseits durch Elektrophorese vom SDS-PAGE-Typ und andererseits durch immunchemischen Nachweis mittels eines spezifischen Antikörpers, der gegen das IFN α -17-Protein gerichtet ist. Auf dieser Stufe beträgt die Reinheit des betreffenden Proteins mehr als 75 %.

[0288] In einem zweiten Reinigungsschritt ermöglicht eine Gelfiltration einen Pufferaustausch der gesammelten Fraktionen, welche den IFN α -17-Proteinen entsprechen, gegen 50 mM Tris-HCl, pH 9,0; 25 mM NaCl.

[0289] Der letzte Schritt der Reinigung besteht aus einer Trennung der Proteine auf einer Anionenaustausch-Chromatographiesäule.

[0290] Die Fraktionen, welche das rekombinante Protein enthalten, werden auf eine Anionenaustausch-Säule (Resource Q, 6,0 ml, Pharmacia) aufgegeben, die zuvor mit einem Puffer von 50 mM Tris-HCl, pH 9,0; 25 mM NaCl äquilibriert wurde. Die Elution der Proteine wird durch die Migration eines Gradienten zwischen 0,025 und 1 M NaCl in dem Puffer von 50 mM Tris-HCl, pH 9,0 durchgeführt.

[0291] Die Reinheit des betreffenden Proteins wird aus dem SDS-PAGE-Gel abgeschätzt, und die Proteinkonzentrationen werden durch Densitometrie (Quantity One, Biorad) und einem BCA-Assay (Bicinchoninsäure (= 2,2'-Bischinolin-4,4'-dicarbonsäure) und Kupfersulfat, Sigma) gemessen.

[0292] Das gereinigte IFN α -17-Protein des Wildtyps und das gereinigte IFN α -17-Protein mit der Mutation G45R, welche entsprechend diesem Protokoll erhalten wurden, und welche gegebenenfalls in größerem Maßstab hergestellt werden, um größere Mengen des Proteins zu erhalten, werden für die nachfolgend beschriebenen funktionellen Tests verwendet.

Beispiel 3: Bewertung der immunmodulierenden Wirkung des natürlichen IFN α -17 des Wildtyps und des IFN α -17 mit der Mutation G45R

[0293] IFNs vom Typ I (IFN- α und IFN- β) sind imstande, bestimmte Funktionen des Immunsystems zu modulieren. Es wurde gezeigt, dass sie die Reifung dendritischer Zellen (DC) erhöhen: ein Anstieg der Expression der MHC-Moleküle der Klasse I (NLA-ABC) und der Klasse II (HLA-DR), ein Anstieg der Expression der Moleküle, die an der Costimulation der T-Lymphocyten, der CD80-, der CD86- und der CD83-Moleküle beteiligt sind, sowie ein Anstieg der stimulierenden Funktion der T-Lymphocyten.

a) Wirkung des IFN α -17 mit der Mutation G45R auf die Reifung dendritischer Zellen

[0294] Die immunmodulierende Wirkung des IFN α -17 mit der Mutation G45R wurde zuerst bezüglich der Reifung dendritischer Zellen erforscht und mit jener des IFN α -2 des Wildtyps verglichen, das als ein Vertreter eines im Handel erhältlichen Intron A Produkts ausgewählt wurde.

[0295] Um dieses Experiment auszuführen, wurden dendritische Zellen zunächst aus Monocyten aus peripherem Blut eines Erwachsenen erzeugt, welche Monocyten in Gegenwart der Cytokine GM-CSF und IL-4 kultiviert wurden. Nach der Reinigung unter Verwendung eines Reinigungskits mit CD14⁺ Zellen wurden diese dendritischen Zellen der Gegenwart von 100 ng/ml IFN α -2 des Wildtyps oder von IFN α -17 mit der Mutation G45R ausgesetzt, und ihr Phänotyp wurde durch FACS-Analyse bestimmt, welche den Zweck hatte, nach der Expression der MHC-Moleküle der Klasse I und der Klasse II sowie nach den Markern CD40, CD80, CD86, CD83 und CD1a zu suchen. Der Reifungszustand dieser dendritischen Zellen wurde ebenso mit jenem Zustand verglichen, der ohne eine Behandlung mit IFN α erhalten wurde, um eine Kontrolle mit nicht stimulierten dendritischen Zellen bereitzustellen.

[0296] Der Mittelwert der Messungen der Fluoreszenzintensität für jeden Marker und für die drei experimentellen Bedingungen, dargestellt als willkürliche Einheiten, ist in der folgenden Tabelle dargestellt:

	HLA-ABC	HLA-DR	CD40	CD80	CD86	CD83	CD1a
Kein IFN α	142	155	246	40	24	21	65
IFN α -17 mit der Mutation G45R	165	189	316	50	32	19	49
IFN α -2 des Wildtyps	179	276	491	87	57	26	51

[0297] Die Ergebnisse dieses Tests zeigen, dass das IFN α -17-Protein mit der Mutation G45R imstande ist, die Reifung dendritischer Zellen zu stimulieren.

b) Wirkung des IFN α -17 mit der Mutation G45R auf die Freisetzung von Cytokinen durch T-Lymphocyten

[0298] Die immunmodulierende Wirkung von IFN α -17 mit der Mutation G45R wurde ebenso untersucht, indem die Freisetzung von Cytokinen durch T-Lymphocyten gemessen wurde, welche der Gegenwart des mutierten IFN α -17-Proteins mit und ohne ein starkes Antigen (SEB) ausgesetzt wurden, um eine Immunantwort gegenüber einer Aggression nachzuahmen. Dieser Test wurde ebenso in Gegenwart des IFN α -2 des Wildtyps durchgeführt, welches als eine Kontrolle verwendet wurde, und als ein Vertreter eines im Handel erhältlichen Intron A Produkts ausgewählt wurde.

[0299] Um dieses Experiment durchzuführen, wurden mononukleäre Zellen aus peripherem Blut (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) aus gesunden Spendern isoliert und für 16 Stunden in einem geeigneten Medium stimuliert, das anti-CD3 und anti-CD28 Antikörper oder ein SEB enthielt. Zu jeder Kultur wurden 4 μ g/ml IFN α -2 des Wildtyps oder IFN α -17 mit der Mutation G45R gegeben. Nach der Stimulation wurden die T-Lymphocyten extrazellulär mit anti-CD3-, anti-CD4- und anti-CD69-Antikörpern oder anti-CD3-, anti-CD8- und anti-CD69-Antikörpern markiert, und intrazellulär mit spezifischen Antikörpern markiert, die gegen die Cytokine vom Typ Th1 (IFN- γ) oder die Cytokine vom Typ Th2 (IL-10) gerichtet sind. Fluoreszierende Zellen wurden unter Verwendung von FACS-Calibur und der Software CellQuest analysiert.

[0300] Die erhaltenen Ergebnisse weisen darauf hin, dass das IFN α -17 mit der Mutation G45R und das IFN α -2 des Wildtyps die Freisetzung von IL-10 und IFN- γ nicht stimulieren und somit die T-Lymphocyten in Abwesenheit von SEB nicht aktivieren.

[0301] Im Gegensatz dazu stimulieren IFN α -17 mit der Mutation G45R und das IFN α -2 des Wildtyps die Freisetzung von Cytokinen (IL-10 und IFN- γ) durch SEB-aktivierte T-Lymphocyten, wie in der Tabelle nachstehend gezeigt. Diese Tabelle stellt die Freisetzung der Cytokine durch T-Lymphocyten in Gegenwart von SEB dar, ausgedrückt als Prozentsatz der CD4⁺ CD69⁺ Zellen oder der CD8⁺ CD69⁺ Zellen für die CD4⁺ T-Lymphocyten bzw. CD8⁺ T-Lymphocyten, und den Prozentsatz der CD69⁺ Zellen in Bezug auf die gesamten Zellen.

T-Lympho- cyt		IFN-γ	IL-10	CD69+ Zellen / Gesamte Zellen
CD4+ CD69+	Negativkontrolle	11,9	7,5	1,26
	IFN α -17 mit der Mutation G45R	37,27	20,06	2,94
	IFN α -2 des Wildtyps	19,6	24,68	2,7
CD8+ CD69+	Negativkontrolle	8,73	0,65	4,69
	IFN α -17 mit der Mutation G45R	36,7	7,02	9,54
	IFN α -2 des Wildtyps	16,37	4,26	10,02

[0302] Diese Ergebnisse zeigen deutlich, dass das IFN α -17 mit der Mutation G45R die Freisetzung von Cytokinen (IFN- γ und IL-10) durch CD4+ T-Lymphocyten und CD8+ T-Lymphocyten stark stimuliert, welche zuvor durch ein SEB-Antigen aktiviert wurden. In diesem Test ist die Erzeugung von Interferon- γ durch CD4+ T-Lymphocyten höher in Gegenwart des IFN α -17 mit der Mutation G45R als in Gegenwart des IFN α -2 des Wildtyps, und die Erzeugung von Interferon- γ und von IL-10 durch CD8+ T-Lymphocyten ist höher in Gegenwart von IFN α -17 mit der Mutation G45R als in Gegenwart von IFN α -2 des Wildtyps.

c) Wirkung des IFN α -17 mit der Mutation G45R auf die Freisetzung von Cytokinen durch Monocyten

[0303] Schließlich wurde die immunmodulierende Wirkung von IFN α -17 mit der Mutation G45R durch Messung der Freisetzung der Cytokine durch Monocyten in Abwesenheit oder in Gegenwart eines bakteriellen toxischen Mittels (LPS) untersucht. Dieser Test wurde auch in Gegenwart von IFN α -2 des Wildtyps durchgeführt, welches als Kontrolle verwendet wurde, und als ein Vertreter eines im Handel erhältlichen Intron A Produktes ausgewählt wurde.

[0304] Um dieses Experiment durchzuführen, wurden mononukleäre Zellen aus humanem peripherem Blut (PBMC) aus gesunden Spendern isoliert, und ihr Phänotyp wurde analysiert, um die relative Menge von CD64+ CD4dim Zellen zu bestimmen (CD64 und CD4dim sind Marker für Blut-Monocyten). Nach einer Kultur über Nacht wurden PBMC ausschließlich in dem Kulturmedium (nicht stimulierte Zellen) oder in Gegenwart von LPS (stimulierte Zellen) inkubiert. Zu jeder Kultur wurden 4 μ g/ml IFN α -2 des Wildtyps oder IFN α -17 mit der Mutation G45R gegeben. Nach der Kultur wurden die Zellen extrazellulär mit anti-CD64- und anti-CD4dim-Antikörpern markiert, und intrazellulär mit spezifischen Antikörpern markiert, die gegen Cytokine vom Typ Th1 (TNF- α), IL-12 und IL-10 gerichtet sind.

[0305] Fluoreszierende Zellen wurden unter Verwendung von FACS-Calibur und der Software CellQuest analysiert.

[0306] Die erhaltenen Ergebnisse weisen darauf hin, dass IFN α -17 mit der Mutation G45R und IFN α -2 des Wildtyps die Freisetzung von Cytokinen (IL-10, IL-12 und TNF- α) in Abwesenheit von LPS nicht stimulieren.

[0307] Im Gegensatz dazu setzen Monocyten in Gegenwart von LPS Cytokine frei. Die Freisetzung von IL-10 und IL-12 durch Monocyten in Gegenwart von LPS wird darüber hinaus durch die Gegenwart von IFN α -2 des Wildtyps erhöht, jedoch nicht durch die Gegenwart von IFN α -17 mit der Mutation G45R, wie in der nachstehenden Tabelle gezeigt ist. Diese Tabelle stellt die Freisetzung von Cytokinen durch Monocyten in Gegenwart von LPS dar, ausgedrückt als Prozentsatz der CD64+ CD4dim Zellen, sowie den Prozentsatz der CD4dim CD64+ Zellen in Bezug auf die gesamten Zellen.

	IL-10	IL-12	TNF-α	CD4dim CD64+ Zellen / Gesamte Zellen
Kein IFN α	16,21	8,52	13,88	3,1
IFN α -17 mit der Mutation G45R	17,47	8,3	40,92	2,86
IFN α -2 des Wildtyps	49,34	34,48	50,87	2,71

[0308] Somit legt das Fehlen einer synergistischen Wirkung, die in Gegenwart von IFN α -17 mit der Mutation G45R und LPS beobachtet wurde, den Schluss nahe, dass IFN α -17 mit der Mutation G45R eine immunsupprimierende Wirkung aufweisen kann.

Beispiel 4: Bewertung der antiproliferativen Wirkung von IFN α -17 mit der Mutation G45R in vitro auf die Erythroleukämie-Zelllinie TF-1

[0309] Die Wirkung von IFN α -17 mit der Mutation G45R wurde ebenso in Bezug auf die Erythroleukämie-Zelllinie TF-1 bewertet. Dieser Test wurde ebenso in Gegenwart des IFN α -2 des Wildtyps durchgeführt, das als Kontrolle verwendet wurde und als ein Vertreter eines im Handel erhältlichen Intron A Produkts ausgewählt wurde.

[0310] Um dieses Experiment durchzuführen, wurden die Zellen mit steigenden Konzentrationen von mutiertem IFN α -17 oder IFN α -2 des Wildtyps (0,001 bis 1000 ng/ml) in Kontakt gebracht, und die Zellproliferation wurde gemessen.

[0311] Die in [Fig. 2](#) dargestellten Ergebnisse weisen darauf hin, dass das IFN α -17 mit der Mutation G45R eine schwache antiproliferative Wirkung auf TF-1 Zellen aufweist, und diese Wirkung ist ähnlich zu jener Wirkung des IFN α -2 des Wildtyps, so dass der Schluss nahegelegt wird, dass die hämatologische Toxizität des IFN α -17 mit der Mutation G45R nicht oberhalb von jener des IFN α -2 des Wildtyps liegt.

Beispiel 5: Bewertung der Fähigkeit des IFN α -17 mit der Mutation G45R, die antiproliferative Wirkung auf die humane Daudi-Burkitt-Lymphom-Zelllinie zu induzieren

[0312] Diese Tests wurden bezüglich zweier unterschiedlicher IFN α -17-Proteine, nämlich mit IFN α -17 mit der Mutation G45R und mit natürlichem IFN α -17 des Wildtyps, durchgeführt. Zellen (humane Daudi-Burkitt-Lymphom-Zelllinie, nachfolgend „Daudi-Zellen“ genannt), die zuvor in einem RPMI-1640-Medium (das mit 10 % fötalem Kälberserum und 2 mM L-Glutamin ergänzt wurde) kultiviert wurden, wurden in Platten mit 96 Vertiefungen bei einer Zelldichte von 4×10^4 Zellen/Vertiefung überimpft.

[0313] In jede Vertiefung wurden Daudi-Zellen mit steigenden Konzentrationen der folgenden Verbindungen in Kontakt gebracht: entweder natürliches IFN α -17 des Wildtyps oder IFN α -17-Protein mit der Mutation G45R.

[0314] Die Konzentrationen der untersuchten IFN α -17-Proteine (natürliches Protein des Wildtyps oder mutiertes Protein) umfassen einen Bereich zwischen 0,003 pM und 600 nM (Endkonzentration in den Vertiefungen).

[0315] Die Daudi-Zellen wurden anschließend für 66 Stunden bei 37°C unter 5 % CO₂ inkubiert, und anschließend wurde das Uptibluereagenz (Uptima) zu den Kulturen gegeben. Die Geschwindigkeit der Zellproliferation wird durch Messung der Fluoreszenz, welche bei 590 nm (Anregung 560 nm) nach einem weiteren Zeitraum der Inkubation für 4 Stunden emittiert wurde, quantitativ bestimmt.

[0316] Die antiproliferative Wirkung des natürlichen IFN α -17 des Wildtyps oder des IFN α -17 mit der Mutation G45R beruht auf den Messungen der IC₅₀-Werte und entsprechen der Konzentration des IFN α -17-Proteins, ausgedrückt in picomolar (pM), bei der das Zellwachstum zu 50 % gehemmt ist.

[0317] Vier ähnliche Experimente wurden durchgeführt, wobei sie jeweils viermal wiederholt wurden. Für jedes Experiment sind die IC₅₀-Werte in der folgenden Tabelle erwähnt.

Experiment	IC ₅₀ -Wert (pM)		Verhältnis
	IFN α -17 des Wildtyps	IFN α -17 mit der Mutation G45R	
1	0,32	1,51	5
2	0,60	7,20	12
3	0,22	1,53	7
4	0,81	10,99	14

[0318] Der durchschnittliche IC₅₀-Wert, der für das IFN α -17 des Wildtyps gemessen wurde, beträgt 0,49 pM, während der durchschnittliche IC₅₀-Wert, der für das IFN α -17 mit der Mutation G45R gemessen wurde, 5,31 pM beträgt. Somit erreicht das durchschnittliche Verhältnis, welches dem IC₅₀-Wert für das mutierte IFN α -17, dividiert durch den Wert für das natürliche IFN α -17 des Wildtyps entspricht, 10,80 (mit einer Standardabweichung von 3,46).

[0319] Dieser Test zeigt, dass die zelluläre antiproliferative Wirkung im Falle des IFN α -17 mit der Mutation G45R stark gehemmt wird (annähernd in einem Bereich, der zwischen 5- bis 15-mal geringer ist) im Vergleich zu IFN α -17 des Wildtyps.

[0320] Ähnliche unabhängige Experimente wurden ebenso mit dem IFN α -2 des Wildtyps durchgeführt, um die antiproliferative Wirkung des IFN α -17 mit der Mutation G45R auf die Proliferation der Daudi-Zellen mit der Wirkung des IFN α -2 des Wildtyps zu vergleichen. Um dieses Experiment durchzuführen, wurden die Daudi-Zellen in Gegenwart der Konzentrationen des IFN α -17 mit der Mutation G45R oder des IFN α -2 des Wildtyps im Bereich von 0,001 bis 10 ng/ml kultiviert.

[0321] Drei ähnliche Experimente wurden durchgeführt. Die Ergebnisse von einem repräsentativen Experiment sind in [Fig. 3](#) dargestellt.

[0322] Diese Ergebnisse zeigen, dass die zelluläre antiproliferative Wirkung des IFN α -17 mit der Mutation G45R auf eine Daudi-Burkitt-Zelllinie höher ist als jene des IFN α -2 des Wildtyps.

Beispiel 6: Bewertung der antiviralen Aktivität des IFN α -17 mit der Mutation G45R

[0323] Die IFNs spielen eine wichtige Rolle in der antiviralen Abwehr. Die antivirale Wirkung der IFNs ist zum Teil auf IFNs zurückzuführen, die durch enzymatische Systeme induziert werden, wie zum Beispiel:

- Die 2',5'-Oligoadenylat-Synthase, ein Enzym, welches die Adenosin-Oligomersynthese katalysiert. Diese Oligomere aktivieren die RNase I, eine Endoribonuklease, welche die virale RNA zerstört, sobald die RNase einmal aktiviert ist.
- Die Mx-Proteine (GTPasen), welche die Synthese und/oder die Reifung viraler Transkripte hemmen. Diese Aktivität wird hauptsächlich auf den Influenza-Virus ausgeübt.
- Das PKR-Protein (oder p68-Kinase), welche durch die doppelsträngige RNA aktiviert wird. Das aktivierte PKR-Protein hemmt die Proteinsynthese.

[0324] Die antivirale Aktivität der IFNs wird ebenso durch andere Mechanismen induziert, wie zum Beispiel im Falle der Retroviren: die Hemmung des Eindringens viraler Partikel in die Zellen, die Replikation, die Bindung, das Austreten der Partikel und die infektiöse Potenz der viralen Teilchen.

[0325] Schließlich üben die IFNs eine mittelbare antivirale Wirkung aus, indem sie bestimmte Funktionen des Immunsystems modulieren, insbesondere indem sie die Reaktion auf eine Zellvermittlung begünstigen (einschließlich eines Anstiegs der MHC-Moleküle der Klassen I und II, eines Anstiegs der Produktion von IL-12 und IFN- γ , eines Anstiegs der CTL-Aktivitäten, und dergleichen).

[0326] Die antivirale Aktivität des IFN α -17 mit der Mutation G45R wurde sowohl in einer Zellkultur in vitro als auch in einem Mausmodell in vivo bewertet. Beide Testverfahren wurden parallel mit IFN α -2 des Wildtyps durchgeführt, das als Kontrolle verwendet wurde und als ein repräsentatives Beispiel eines im Handel erhältlichen Intron A Produkts ausgewählt wurde.

a) Antivirale Aktivität in einer Zellkultur in vitro

[0327] Dieser Assay gestattet die Bewertung der antiviralen Aktivität des IFN α -17 mit der Mutation G45R und des IFN α -2 des Wildtyps in einer Zellkultur, wobei der vesikuläre Stomatitis-Virus (VSV) verwendet wurde.

[0328] Um dieses Experiment durchzuführen, werden humane epitheliale WISH-Zellen für 24 Stunden in Gegenwart absteigender Konzentrationen von IFN α -17 mit der Mutation G45R oder von IFN α -2 des Wildtyps kultiviert. Anschließend werden die Zellen mit dem Virus der vesikulären Stomatitis (VSV) während 24 bis 48 weiteren Stunden infiziert, und die Zelllyse wird gemessen.

[0329] Die antivirale Wirkung der unterschiedlichen getesteten IFN α wird durch Vergleich des IC₅₀-Werts bestimmt, welcher der IFN-Konzentration entspricht, bei welcher die durch VSV induzierte Zelllyse zu 50 % gehemmt wird.

[0330] Ein ähnliches Experiment wurde zweimal durchgeführt und die in einem repräsentativen Experiment gemessenen IC₅₀-Werte sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

	IFNα-2 des Wildtyps	IFNα-17 mit der Mutation G45R
IC ₅₀ (ng/ml)	4	2

[0331] Somit zeigt das IFN α -17 mit der Mutation G45R in einer mit VSV infizierten Zellkultur eine antivirale Aktivität, wobei diese antivirale Aktivität höher als jene des IFN α -2 des Wildtyps ist.

b) Antivirale Aktivität im Mausmodell in vitro

[0332] Dieser Test in vitro wird im EMCV-Mausmodell (Encephalo-Myocarditis-Virus) durchgeführt.

[0333] Humane IFNs zeigen eine dosisabhängige antivirale Aktivität in der Maus, welche im Allgemeinen 100- bis 1.000-fach geringer als jene ist, die durch die gleiche Menge eines Maus-IFN gezeigt wird (Meister et al., J. Gen. Virol. 67: 1633–1644, 1986).

[0334] Die intraperitoneale Injektion der Mäuse mit dem Encephalo-Myocarditis-Virus (EMCV) gibt Anlass zu einer rasch fortschreitenden tödlichen Krankheit, die durch die Beteiligung des zentralen Nervensystems sowie durch Encephalitis (Finter N. B., Front Biol. 2: 295–360, 1973) gekennzeichnet ist. Es wurde gezeigt, dass Interferon- α sowohl aus der Maus als auch aus dem Menschen wirksam ist beim Schutz der Mäuse gegenüber einer tödlichen EMCV-Infektion (Tovey und Maury, J. IFN Cytokine Res. 19: 145–155, 1999).

[0335] Gruppen von 20, sechs Wochen alten, schweizerischen Mäusen wurden intraperitoneal (ip) mit $100 \times \text{LD}_{50}$ EMCV infiziert und eine Stunde später behandelt, und anschließend einmal täglich für die 3 folgenden Tage mit 2 μg IFN α -17 mit der Mutation G45R oder mit IFN α -2 Zubereitungen des Wildtyps behandelt. Eine Kontrolle wurde mit einer Gruppe von Tieren durchgeführt, die lediglich mit dem Hilfsstoff behandelt wurden. Den Tieren wurden die Stoffe täglich für 21 Tage verabreicht, bzw. solange sie lebten.

[0336] Die Ergebnisse sind in [Fig. 4](#) dargestellt und weisen darauf hin, dass die relative Überlebensrate der Mäuse, welche mit IFN α -17 mit der Mutation G45R behandelt wurden, viel höher als die Überlebensrate der nicht behandelten Mäuse ist, und auch höher als jene Rate, die für die Mäuse beobachtet wurde, welche mit dem IFN α -2 des Wildtyps behandelt wurden. Diese Daten zeigen die starke antivirale Aktivität des IFN α -17 mit der Mutation G45R im Mausmodell in vivo.

[0337] Alle diese Ergebnisse zeigen, dass IFN α -17 mit der Mutation G45R einzigartige biologische Eigenschaften besitzt.

Sequenzliste

<110> Genodyssee

<120> Neue Polynukleotide und Polypeptide des IFN α -17-Gens<130> IFN α -17

<160> 5

<170> PatentIn Version 2.1

<210> 1

<211> 1873

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

```

agcttcatac actaagagaa aaattttaaa aaattattga ttcttatttt caggagtttt 60
gaatgatcag gtatgtaatt atattcatat tattaatgtg tatttatata gatttttatt 120
ttgcacaggt actttgatac aaaatttaca tgaacaaatt acactaaaag ttatttcaca 180
aatatactta tcaagttaag ttaaattgaa tagctttaaa cttagatttt aatttaactt 240
tttctatcat cattctttac attaaataaa aaaagcaaac tttatagttt ttatctataa 300
agtagaggta tacatagtat acataaatac atatgccaaa tctgtgttat taaaacttca 360
tgaagatttc gattacaaaa aaataccgta aaagactttg agtgcagaag aaaaatgggc 420
aatgatgaaa aacaatgaaa aacattctta aacacatgta gagagtgcaa aaagaaagca 480
aaaacagaca tagaaagtaa aactagggca tttagaaaat ggaaattagt atgttcaacta 540
tttaaggcct atgcacagag caaagtcttc agaaaaaccta gaggccaaag ttcaaggtta 600
cccattctca gtagcctagc aacatttgca acatcccaat ggccctgtcc ttttctttac 660
tgatggccgt gctgggtgctc agctacaaat ccattctgtt tctaggctgt gatctgcctc 720
agaccacacag cctgggtaat aggagggcct tgatactcct ggcacaaatg ggaagaatct 780
ctcctttctc ctgcctgaag gacagacatg actttggact tccccaggag gaggttgatg 840
gcaaccaggt ccagaagact caagccatct ctgtcctcca tgagatgatc cagcagacct 900
tcaactctct cagcacagag gactcatctg ctgcttggga acagagcctc ctagaaaaat 960
tttccactga actttaccag caactgaata acctggaagc atgtgtgata caggagggtt 1020
ggatggaaga gactcccctg atgaatgagg actccatcct ggctgtgagg aaatacttcc 1080
aaagaatcac tctttatcta acagagaaga aatacagccc ttgtgcctgg gaggttgtca 1140
gagcagaaat catgagatct ctctcttttt caacaaactt gcaaaaaata ttaaggagga 1200
aggattgaaa actggttcaa catggcaatg atcctgattg actaatatcat tatctcacac 1260
tttcatgagt tctccattt caaagactca cttctataac caccacgagt tgaatcaaaa 1320
ttttcaaatg ttttcagcag tgtaaaagaag cgtcgtgtat acctgtgcag gcactagtag 1380
tttacagatg accatgctga tgtctctgtt catctattta tttaaatatt tattttaatta 1440
tttttaagat ttaaattatt tttttatgta atatcatgtg tacctttaca ttgtggtgaa 1500
tgtaacaata tatgttcttc atatttagcc aatatattaa tttccttttt cattaaattt 1560
ttactataca aaatttcttg tgtttgttta ttctttaaga taaaatgtcg aggctgactt 1620
tacaacctga cttaaaaata tatgatttaa ttaagttatc tatcataatt ttattcaagt 1680
tattaaaaaa acatttttct gttactgggt atatgttgcc ttcaagatat aaacgtgaac 1740
ataaaatata cagtccctgt tctcttgat ctttgatttt tgtcaggaaa gaaatctaaa 1800
aacaataata atgtgaatt aatatcagt atgctaactg ctataatgtg aggaagtaaa 1860
atacaatgaa ttc                                     1873

```


<210> 2
 <211> 189
 <212> Protein
 <213> Homo sapiens

<400> 2

```

Met Ala Leu Ser Phe Ser Leu Leu Met Ala Val Leu Val Leu Ser Tyr
 1           5           10           15

Lys Ser Ile Cys Ser Leu Gly Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu
          20           25           30

Gly Asn Arg Arg Ala Leu Ile Leu Leu Ala Gln Met Gly Arg Ile Ser
          35           40           45

Pro Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Leu Pro Gln Glu
 50           55           60

Glu Phe Asp Gly Asn Gln Phe Gln Lys Thr Gln Ala Ile Ser Val Leu
 65           70           75           80

His Glu Met Ile Gln Gln Thr Phe Asn Leu Phe Ser Thr Glu Asp Ser
          85           90           95

Ser Ala Ala Trp Glu Gln Ser Leu Leu Glu Lys Phe Ser Thr Glu Leu
          100          105          110

Tyr Gln Gln Leu Asn Asn Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Glu Val Gly
          115          120          125

Met Glu Glu Thr Pro Leu Met Asn Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg
          130          135          140

Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu Thr Glu Lys Lys Tyr Ser
          145          150          155          160

Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala Glu Ile Met Arg Ser Leu Ser
          165          170          175

Phe Ser Thr Asn Leu Gln Lys Ile Leu Arg Arg Lys Asp
          180          185

```

<210> 3
 <211> 57
 <212> Protein
 <213> Homo sapiens

<400> 3
 Met Ala Leu Ser Phe Ser Leu Leu Met Ala Val Leu Val Leu Ser Tyr
 1 5 10 15
 Lys Ser Ile Cys Ser Leu Gly Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu
 20 25 30
 Gly Asn Arg Arg Ala Leu Ile Leu Leu Ala Gln Met Gly Arg Ile Ser
 35 40 45
 Pro Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg Gln
 50 55

<210> 4
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 4
 ttcaagggtta cccatctcaa

<210> 5
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 5
 ttagtcaatc aggatcattg c

Patentansprüche

1. Isoliertes Polynukleotid, das folgendes umfaßt:
 a) Nukleotidsequenz, die mindestens 95% Identität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 oder ihrer Codiersequenz aufweist und mindestens einen SNP, der aus g771c und 808Ins(a) besteht, umfaßt; oder
 b) eine Nukleotidsequenz, die zu einer Nukleotidsequenz gemäß a) komplementär ist.
2. Isoliertes Polynukleotid nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Nukleotidsequenz gemäß a) mindestens 99% Identität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist.
3. Isoliertes Polynukleotid nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß es den SNP g771c umfaßt.
4. Isoliertes Polynukleotid nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß es für ein Polypeptid, das die Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2, die den Codier-SNP G45R aufweist, umfaßt, codiert.
5. Isoliertes Polynukleotid, dadurch gekennzeichnet, daß es für ein Polypeptid, das die Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 3 umfaßt, codiert.
6. Isoliertes Polynukleotid nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Aminosäuresequenz auch den Codier-SNP G45R enthält.
7. Verwendung eines isolierten Polynukleotids nach einem der Ansprüche 1 bis 6 oder einer Sequenz die-

ses isolierten Polynukleotids, die sich aus 10 bis 40 Nukleotiden zusammensetzt, für die Identifikation, Hybridisierung und/oder Amplifikation eines Polynukleotids, das 90 bis 100% Identität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 oder ihrer Codiersequenz aufweist, mit der Maßgabe, daß jede dieser Sequenzen mindestens einen der folgenden SNPs umfaßt: g771c, 808Ins(a).

8. Verwendung eines isolierten Polynukleotids nach einem der Ansprüche 1 bis 6 oder einer Sequenz dieses isolierten Polynukleotids, die sich aus 10 bis 40 Nukleotiden zusammensetzt, für das Genotyping eines Polynukleotids, das 90 bis 100% Identität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 oder ihrer Codiersequenz aufweist, mit der Maßgabe, daß jede dieser Sequenzen mindestens einen der folgenden SNPs umfaßt: g771c, 808Ins(a).

9. Rekombinanter Vektor, dadurch gekennzeichnet, daß er ein Polynukleotid nach einem der Ansprüche 1 bis 6 umfaßt.

10. Wirtszelle, dadurch gekennzeichnet, daß sie einen rekombinanten Vektor nach Anspruch 9 umfaßt.

11. Verfahren zur Abtrennung eines Polypeptids, bei dem man eine Wirtszelle nach Anspruch 10 in einem Kulturmedium kultiviert und das Polypeptid von dem Kulturmedium abtrennt.

12. Isoliertes Polypeptid, dadurch gekennzeichnet, daß es von dem isolierten Polynukleotid nach einem der Ansprüche 1 bis 6 codiert wird.

13. Isoliertes Polypeptid, das eine Aminosäuresequenz, die mindestens 90% Identität mit
a) der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 oder
b) der Aminosäuresequenz, die die Aminosäuren zwischen Position 24 und Position 189 der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 umfaßt,
aufweist, umfaßt, mit der Maßgabe, daß die Aminosäuresequenz gemäß a) oder b) den SNP G45R enthält.

14. Isoliertes Polypeptid, das eine Aminosäuresequenz, die mindestens 95% Identität mit
a) der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 oder
b) der Aminosäuresequenz, die die Aminosäuren zwischen Position 24 und Position 189 der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 umfaßt,
aufweist, umfaßt, mit der Maßgabe, daß die Aminosäuresequenz gemäß a) oder b) den SNP G45R enthält.

15. Isoliertes Polypeptid, das eine Aminosäuresequenz, die mindestens 99% Identität mit
a) der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 oder
b) der Aminosäuresequenz, die die Aminosäuren zwischen Position 24 und Position 189 der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 umfaßt,
aufweist, umfaßt, mit der Maßgabe, daß die Aminosäuresequenz gemäß a) oder b) den SNP G45R enthält.

16. Isoliertes Polypeptid, das die Aminosäuren 24 bis 189 der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 umfaßt und den SNP G45R aufweist.

17. Isoliertes Polypeptid, das die Aminosäuren 24 bis 57 der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 3 umfaßt.

18. Polypeptid nach Anspruch 17, das den Codier-SNP G45R aufweist.

19. Antikörper, der für ein Polypeptid nach einem der Ansprüche 12 bis 18 immunspezifisch ist.

20. Verfahren zum Identifizieren eines Agens unter einer oder mehreren Testverbindungen, das die Aktivität eines isolierten Polypeptids, das die gesamte bzw. einen Teil der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 2 umfaßt und den SNP G45R aufweist, aktiviert oder hemmt, wobei man bei diesem Verfahren
a) Wirtszellen, die den rekombinanten Vektor nach Anspruch 9 umfassen, bereitstellt,
b) diese Wirtszellen mit den Testverbindungen in Kontakt bringt,
c) die Aktivier- oder Hemmwirkung auf die Aktivität des Polypeptids bestimmt, wodurch das aktivierende oder hemmende Agens identifiziert wird.

21. Verfahren zum Identifizieren eines Agens unter einer oder mehreren Testverbindungen, das die Aktivität eines isolierten Polypeptids, das die gesamte bzw. einen Teil der Aminosäuresequenz SEQ ID Nr. 3 umfaßt und gegebenenfalls auch den Codier-SNP G45R aufweist, aktiviert oder hemmt, wobei man bei diesem Ver-

fahren

- a) Wirtszellen, die den rekombinanten Vektor nach Anspruch 9 umfassen, bereitstellt,
- b) diese Wirtszellen mit den Testverbindungen in Kontakt bringt,
- c) die Aktivier- oder Hemmwirkung auf die Aktivität des Polypeptids bestimmt, wodurch das aktivierende oder hemmende Agens identifiziert wird.

22. Verfahren zum Analysieren der biologischen Eigenschaften eines Probanden, das die Durchführung von mindestens einem der folgenden Schritte umfaßt:

- a) Bestimmen des Vorhandenseins oder Fehlens des Polynukleotids nach einem der Ansprüche 1 bis 6 in einem Probanden;
- b) Bestimmen des Expressionsniveaus des Polynukleotids nach einem der Ansprüche 1 bis 6 in einem Probanden;
- c) Bestimmen des Vorhandenseins oder Fehlens des Polynukleotids nach einem der Ansprüche 12 bis 18 in einem Probanden;
- d) Bestimmen der Konzentration des Polypeptids nach einem der Ansprüche 12 bis 18 in einem Probanden; oder
- e) Bestimmen der Funktionsfähigkeit des Polypeptids nach einem der Ansprüche 12 bis 18 in einem Probanden.

23. Therapeutikum, das eine oder mehrere Verbindungen aus der folgenden Gruppe umfaßt: isoliertes Polynukleotid nach einem der Ansprüche 1 bis 6; rekombinanter Vektor nach Anspruch 9; Wirtszelle nach Anspruch 10, die den rekombinanten Vektor umfaßt; isoliertes Polypeptid nach einem der Ansprüche 12 bis 18; Antikörper nach Anspruch 19.

24. Verwendung von einer oder mehreren Verbindungen aus der Gruppe: isoliertes Polynukleotid nach einem der Ansprüche 1 bis 6; rekombinanter Vektor nach Anspruch 9; Wirtszelle nach Anspruch 10, die den rekombinanten Vektor umfaßt; isoliertes Polypeptid nach einem der Ansprüche 12 bis 18; Antikörper nach Anspruch 19, für die Herstellung eines Arzneimittels für die Prävention oder Behandlung einer Krankheit aus der Gruppe Karzinome und Tumoren, Infektionskrankheiten, Immun- und Autoimmunkrankheiten, Herz-Kreislauf-Krankheiten, Stoffwechselkrankheiten, Krankheiten des Zentralnervensystems, pathologische Zustände, die mit Chemotherapiebehandlungen einhergehen, Wundheilung, Anämie bei Dialysepatienten und/oder Osteoporose.

25. Verwendung nach Anspruch 24, wobei die Infektionskrankheiten Virusinfektionen, darunter auch chronische Hepatitis B und C sowie HIV/AIDS, infektiöse Pneumonien sowie Geschlechtskrankheiten wie Genitalwarzen umfassen.

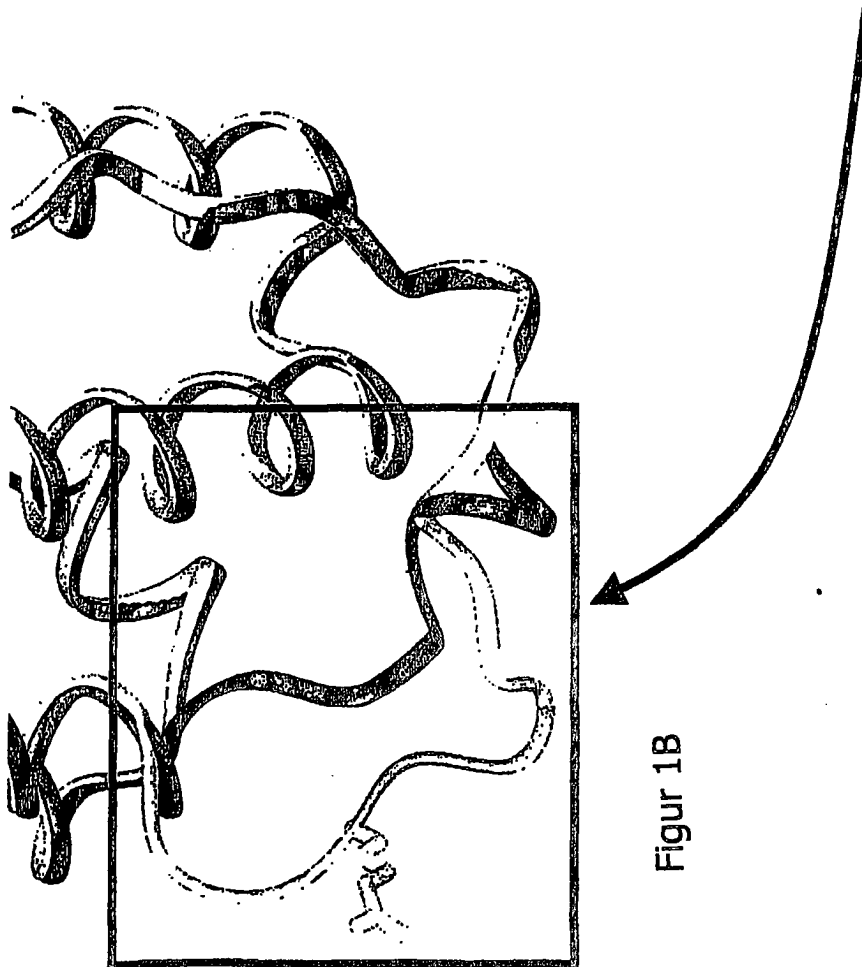
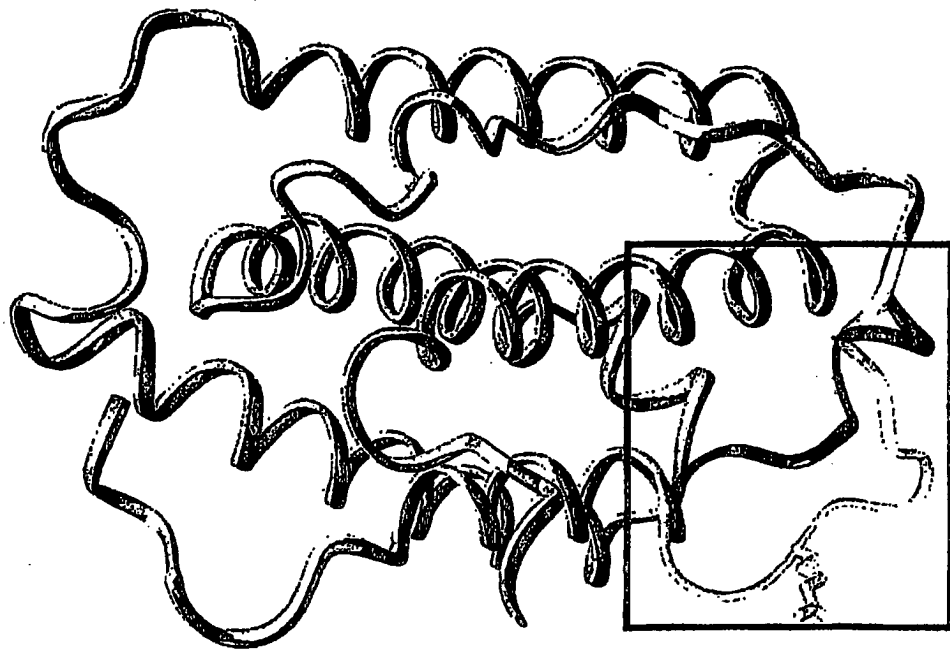
26. Verfahren zur Bestimmung von statistisch relevanten Zusammenhängen zwischen mindestens einem SNP aus der Gruppe g771c und 808Ins(a) in dem Gen IFN α -17 und einer Krankheit bzw. Resistenz gegenüber einer Krankheit, das folgendes umfaßt:

- a) das Genotyping einer Gruppe von Einzelpersonen;
- b) Bestimmen der Verteilung der Krankheit bzw. Resistenz zu der Krankheit innerhalb der Gruppe von Einzelpersonen;
- c) Vergleichen der Genotypwerte mit der Verteilung der Krankheit bzw. Resistenz zu der Krankheit; sowie
- d) Analysieren dieses Vergleichs für statistisch relevante Zusammenhänge.

27. Verfahren zur Diagnose oder zum Erstellen einer Prognose von einer Krankheit oder einer Resistenz gegen eine Krankheit, das den In-vitro-Nachweis von mindestens einem SNP aus der Gruppe g771c und 808Ins(a) in dem Gen IFN α -17 umfaßt.

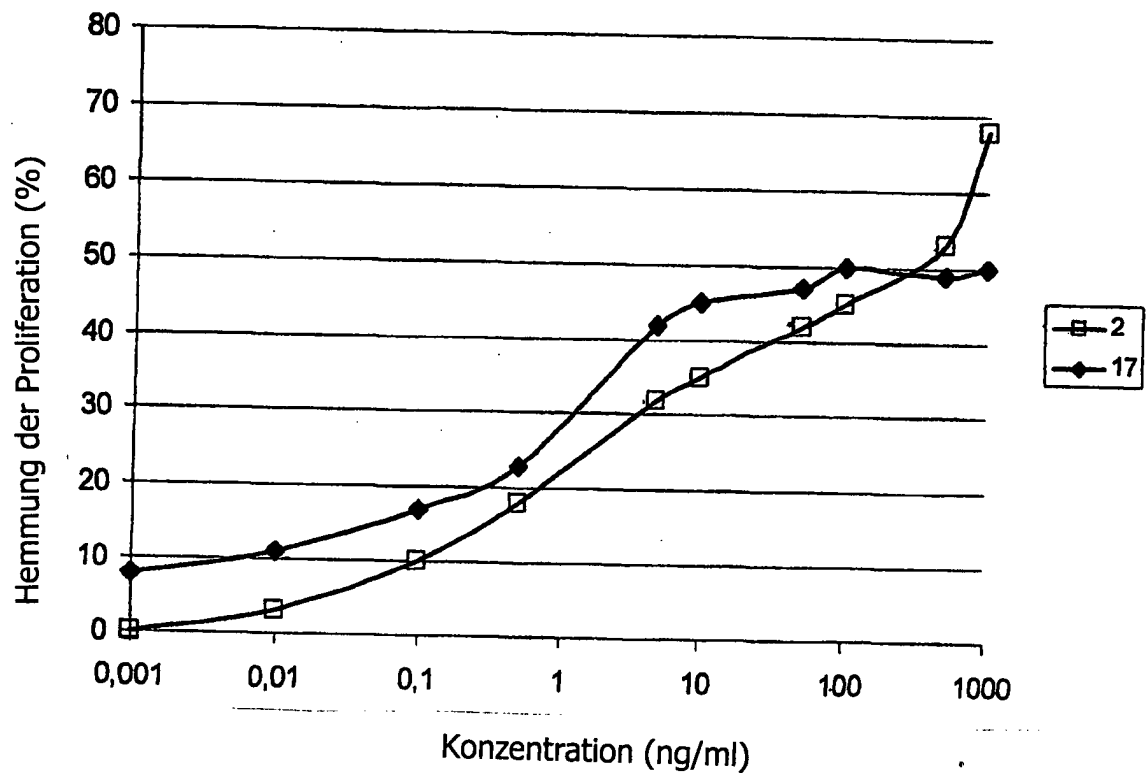
Es folgen 4 Blatt Zeichnungen

Figur 1A

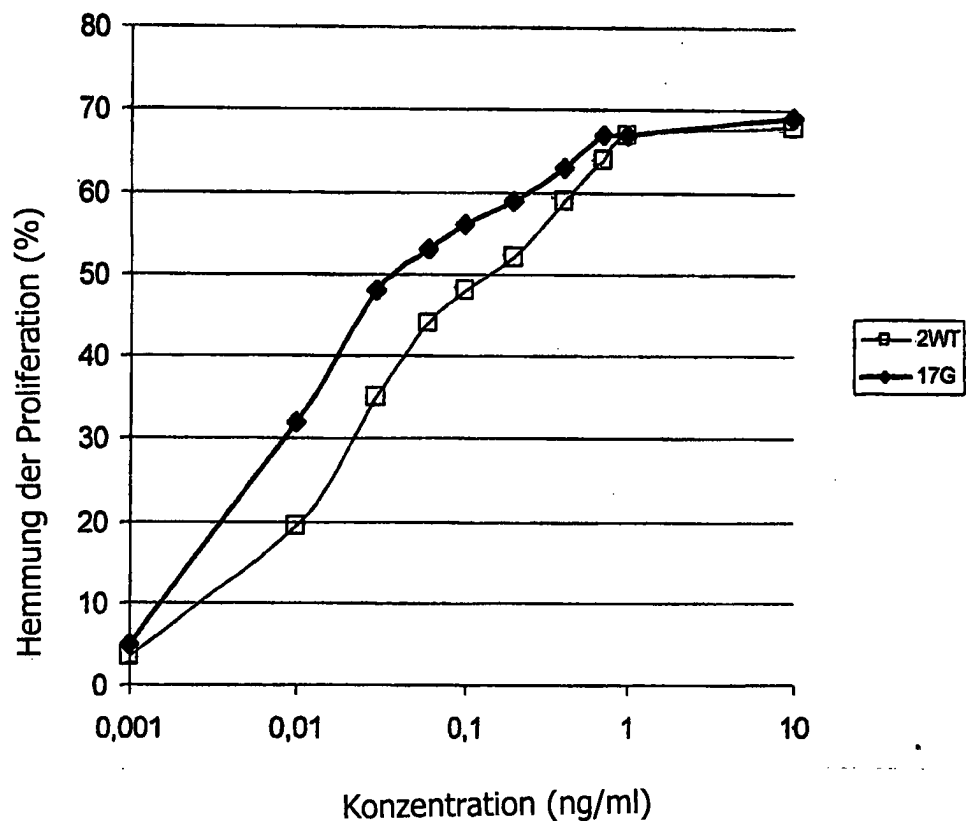


Figur 1B

Figur 2



Figur 3



Figur 4

