

(11) Número de Publicação: **PT 1601694 E**

(51) Classificação Internacional:

C07K 14/54 (2007.10) **A61K 39/395** (2007.10)
C07K 14/715 (2007.10) **C07K 16/24** (2007.10)
C12N 15/11 (2007.10)

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2004.03.09**

(30) Prioridade(s): **2003.03.10 US 453672 P**

(43) Data de publicação do pedido: **2005.12.07**

(45) Data e BPI da concessão: **2009.08.26**
234/2009

(73) Titular(es):

SCHERING CORPORATION
2000 GALLOPING HILL ROAD, KENILWORTH
NEW JERSEY 07033-0530 **US**

(72) Inventor(es):

MARTIN OFT **US**
TERRILL K. MCCLANAHAN **US**

(74) Mandatário:

ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA
RUA DAS FLORES, Nº 74, 4º AND 1249-235 LISBOA **PT**

(54) Epígrafe: **UTILIZAÇÕES DE AGONISTAS E ANTAGONISTAS DE IL-23; REAGENTES RELACIONADOS**

(57) Resumo:

DESCRIÇÃO

"Utilizações de agonistas e antagonistas de IL-23; reagentes relacionados"

CAMPO DO INVENTO

O presente invento refere-se a utilizações de moléculas de citocinas de mamífero e reagentes relacionados. Mais especificamente, o invento refere-se à identificação de proteínas do tipo citocina de mamífero e seus inibidores que podem ser utilizadas no tratamento de doenças proliferativas.

ANTECEDENTES DO INVENTO

Os cancros e tumores podem ser controlados ou erradicados pelo sistema imunitário. O sistema imunitário inclui vários tipos de células linfóides e mielóides, *e.g.*, monócitos, macrófagos, células dendríticas (DC), eosinófilos, células T, células B e neutrófilos. Estas células linfóides e mielóides produzem proteínas de sinalização excretadas conhecidas como citocinas. As citocinas incluem, *e.g.*, interleucina-10 (IL-10), interferão gama (IFNgama), IL-12 e IL-23. As respostas imunitárias incluem inflamação, *i.e.*, acumulação de células imunitárias sistemicamente ou numa localização específica do corpo. Em resposta a um agente infeccioso ou substância exógena, as células imunitárias excretam citocinas que por sua vez modulam a proliferação, desenvolvimento, diferenciação ou migração de células imunitárias. A resposta imunitária pode ter consequências patológicas, *e.g.*, quando envolve inflamação excessiva, tal como em doenças auto-imunes, ao passo que resposta imunitária enfraquecida pode resultar em cancro. A resposta antitumoral pelo sistema imunitário inclui imunidade inata, *e.g.*, tal como mediada por macrófagos, células NK e neutrófilos e imunidade adaptável, *e.g.*, tal como mediada por células apresentadoras de antígenos (APC), células T e células B (consultar, *e.g.*, Abbas, *et al.* (ed.) (2000) Cellular and Molecular Immunology, W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA; Oppenheim e Feldmann (ed.) (2001) Cytokine Reference, Academic Press, San Diego, CA; von Andrian e Mackay (2000) New Engl. J. Med. 343:1020-1034; Davidson e Diamond (2001) New Engl. J. Med. 345:340-350).

Têm sido utilizados métodos de modular resposta imunitária no tratamento de cancros, e.g., melanoma. Estes métodos incluem tratamento com citocinas ou anticorpos anti-citocina, tais como IL-2, IL-12, factor de necrose de tumor alfa (TNFalfa), IFNgama, factor estimulante de colónias de granulócitos macrófagos (GM-CSF) e factor de crescimento por transformação (TGF). No caso em que uma célula de cancro produz uma citocina que melhora o seu próprio crescimento ou a sua própria sobrevivência, um anticorpo anti-citocina pode ser um agente terapêutico apropriado (consultar, e.g., Ramirez-Montagut, et al. (2003) *Oncogene* 22:3180-3187; Braun, et al. (2000) *J. Immunol.* 164:4025-4031; Shaw, et al. (1998) *J. Immunol.* 161:2817-2824; Coussens e Werb (2002) *Nature* 420:860-867; Baxevanis, et al. (2000) *J. Immunol.* 164:3902-3912; Shimizu, et al. (1999) *J. Immunol.* 163:5211-5218; Belardelli e Ferrantini (2002) *TRENDS Immunol.* 23:201-208; Seki, et al. (2002) *J. Immunol.* 168:3484-3492; Casares, et al. (2003) *J. Immunol.* 171:5931-5939; Oft, et al. (2002) *Nature Cell Biol.* 4:487-494)

A interleucina-23 (IL-23) é uma citocina heterodimérica constituída por duas subunidades, i.e., p19 e p40. A subunidade p19 está estruturalmente relacionada com IL-6, factor estimulante de colónias de granulócitos (G-CSF) e a subunidade p35 de IL-12. A subunidade p40 de IL-23 é também parte de IL-12, uma citocina heterodimérica incluindo p35 e p40. IL-23 medeia sinalização por ligação a um receptor heterodimérico, incluindo IL-23R e IL-12beta1. A subunidade IL-12beta1 é partilhada pelo receptor IL-12, que é composto por IL-12beta e IL-12beta2. Vários estudos iniciais demonstraram que as consequências fisiológicas de uma deficiência genética em p40 (ratinho com inactivação do gene p40; ratinho p40KO; ratinho p40-/-) eram diferentes, e.g., mais graves ou menos graves, relativamente às de um ratinho p35KO. Alguns destes resultados foram eventualmente explicados pela descoberta de IL-23 e a revelação que p40KO evita expressão de IL-12 e de IL-23 (Oppmann, et al. (2000) *Immunity* 13:715-725; Wiekowski, et al. (2001) *J. Immunol.* 166:7563-7570; Parham, et al. (2002). *J Immunol* 168, 5699-708; Frucht (2002) *Sci STKE* 2002, E1-E3; Elkins, et al. (2002) *Infection Immunity* 70:1936-1948; Cua, et al. (2003) *Nature* 421:744-748).

Os métodos presentes para tratar cancro não são completamente eficazes e as citocinas, tal como IL-12 ou IFNgama produzem efeitos secundários tóxicos (consultar, e.g., Naylor e Hadden (2003) *Int. Immunopharmacol.* 3:1205-1215; Fernandez, et al. (1999) *J. Immunol.* 162:609-617). O presente invento trata destes problemas proporcionando métodos de utilizar antagonistas de IL-23.

RESUMO DO INVENTO

O presente invento baseia-se na revelação que um agonista ou antagonista de IL-23 pode modular crescimento tumoral.

O presente invento proporciona a utilização de um antagonista de IL-23 para o fabrico de um medicamento para o tratamento de tumores, tal como definido na reivindicação 1. Também se proporciona a utilização anterior, em que o antagonista de IL-23 inibe ou evita crescimento tumoral; assim como a utilização anterior em que a célula tumoral expressa IL-23. O presente invento proporciona o método anterior em que o antagonista de IL-23 inclui uma composição de ligação que liga especificamente um polipéptido ou ácido nucleico de p19 (SEQ ID NO:1, 2, 3 ou 4); ou a utilização anterior em que a composição de ligação inclui: um local de ligação ao antigénio de um anticorpo; um ácido nucleico anti-sentido ou ARN de interferência pequeno (ARNsi); e a utilização anterior em que a composição de ligação inclui: um anticorpo policlonal; um anticorpo monoclonal; um anticorpo humanizado ou um seu fragmento ou um fragmento Fab, Fv ou F(ab')₂.

Ainda outra concretização do presente invento proporciona a utilização anterior em que a célula de tumor é: uma célula de cancro de cólon; uma célula de cancro de ovário; uma célula de cancro de mama; ou uma célula de melanoma.

Noutro aspecto, o invento proporciona a utilização de um antagonista de IL-23 para o fabrico de um medicamento para o tratamento de um indivíduo que sofre de um cancro ou tumor incluindo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um antagonista de IL-23 tal como definido na reivindicação 10; e a utilização anterior em que o antagonista de IL-23 inibe:

crescimento do cancro ou tumor; caquexia; anorexia; ou angiogénese. Também se proporciona a utilização anterior em que o antagonista de IL-23 inclui uma composição de ligação que liga especificamente um polipéptido ou ácido nucleico de: p19 (SEQ ID NO:1, 2, 3 ou 4). O presente invento proporciona a utilização anterior em que a composição de ligação inclui: um local de ligação ao antigénio de um anticorpo; um ácido nucleico anti-sentido ou ARN de interferência pequeno (ARNsi); e a utilização anterior em que a composição de ligação inclui: um anticorpo policlonal; um anticorpo monoclonal; um anticorpo humanizado ou um seu fragmento; ou um fragmento Fab, Fv ou F(ab')₂.

Noutra concretização, o invento proporciona a utilização anterior em que o cancro ou tumor é de: tracto gastrointestinal; tracto respiratório; sistema reprodutor; ou sistema endócrino; assim como a utilização anterior em que o cancro ou tumor é: cancro do cólon; cancro dos ovários; um melanoma; ou cancro da mama.

Noutro aspecto do presente invento proporciona-se um método para determinar se células de tumor expressam IL-23 incluindo por em contacto uma amostra de um indivíduo com um antagonista tal como definido na reivindicação 19, assim como o método anterior, em que a composição de ligação inclui uma sonda ou iniciador de ácido nucleico que liga ou hibrida especificamente com o polinucleótido de SEQ ID NO:1.

Ainda outra concretização do presente invento proporciona um kit para determinar se células de tumor expressam IL-23 incluindo um antagonista de IL-23 tal como definido na reivindicação 21 e um compartimento ou instruções para utilização ou eliminação. Também se proporciona o kit anterior em que o antagonista inclui um anticorpo que se liga especificamente a p19 (SEQ ID NO:2).

DESCRIÇÃO DETALHADA

Tal como aqui utilizadas, incluindo as reivindicações anexas, as formas singulares de palavras tais como "um(a)" e "o/a" incluem as suas referências correspondentes no plural excepto se o contexto o contrariar claramente. Todas as

referências aqui citadas são incorporadas por referência na mesma extensão em que se indicou que cada publicação, pedido de patente ou patente individual fosse específica e individualmente incorporada por referência.

I. Definições.

“Activação”, “estímulo” e “tratamento”, no que se aplica a células ou a receptores, podem ter o mesmo significado que, e.g., activação, estímulo ou tratamento de uma célula ou receptor com um ligando, salvo indicação em contrário pelo contexto ou explicitamente. “Ligando” abrange ligandos naturais e sintéticos, e.g., citoquinas, variantes de citoquina, análogos, muteínas e composições de ligação derivadas de anticorpos. “Ligando” também abrange moléculas pequenas, e.g., miméticos de péptidos de citoquinas e miméticos de péptidos de anticorpos. “Activação” pode referir-se a activação de células tal como regulada por mecanismos internos assim como por factores externos ou ambientais. “Resposta”, e.g., de uma célula, tecido, órgão ou organismo, abrange uma alteração de comportamento bioquímico ou fisiológico, e.g., concentração, densidade, adesão ou migração no interior de um compartimento biológico, taxa de expressão génica ou estado de diferenciação, em que a alteração se correlaciona com activação, estímulo ou tratamento ou com mecanismos internos tais como programação genética.

“Actividade” de uma molécula pode descrever ou referir-se à ligação da molécula a um ligando ou a um receptor, a actividade catalítica; à capacidade de estimular expressão génica ou sinalização, diferenciação ou maturação celulares; a actividade antigénica, à modulação de actividades de outras moléculas e semelhantes. “Actividade” de uma molécula pode também referir-se a actividade na modulação ou manutenção de interacção célula-a-célula, e.g., adesão ou actividade de manutenção de uma estrutura de uma célula, e.g., membranas celulares ou citoesqueleto. “Actividade” pode também significar actividade específica, e.g., [actividade catalítica]/[mg de proteína] ou [actividade imunológica]/[mg de proteína], concentração num compartimento biológico ou semelhante. “Actividade proliferativa” abrange uma actividade

que promove, que é necessária para ou que está especificamente associada com, e.g., divisão celular normal, assim como cancro, tumores, displasia, transformação celular, metástase e angiogénese.

"Administração" e "tratamento", no aplicável a um animal, humano, indivíduo experimental, célula, tecido, órgão ou fluido biológico, refere-se ao contacto de um agente, composto ou composição farmacêutica, terapêutica ou de diagnóstico exógena a um animal, humano, indivíduo, célula, tecido, órgão ou fluido biológico. "Administração" e "tratamento" podem referir-se, e.g., a métodos terapêuticos, de placebo, farmacocinéticos, de diagnóstico, de investigação e experimentais. "Tratamento de uma célula" abrange contacto de um reagente com a célula, assim como contacto de um reagente com um fluido, em que o fluido está em contacto com a célula. "Administração" e "tratamento" também significam tratamentos *in vitro* e *ex vivo*, e.g., de uma célula, por uma reagente, agente de diagnóstico, composição de ligação ou por outra célula. "Tratamento" no aplicável a um indivíduo humano, veterinário ou de investigação, refere-se a tratamento terapêutico, medidas profiláticas ou preventivas, a aplicações de investigação e de diagnóstico. "Tratamento" no aplicável a um indivíduo humano, veterinário ou de investigação, ou a célula, tecido ou órgão, abrange o contacto de um agonista de IL-23 ou antagonista de IL-23 com um indivíduo humano ou animal, uma célula, tecido, compartimento fisiológico ou fluido fisiológico. "Tratamento de uma célula" também abrange situações em que o agonista de IL-23 ou o antagonista de IL-23 está em contacto com receptor de IL-23 (heterodímero de IL-23R e IL-12Rbeta1), e.g., na fase de fluido ou na fase coloidal, assim como situações em que o agonista ou antagonista está em contacto com um fluido, e.g., em que o fluido está em contacto com uma célula ou receptor, mas em que não se demonstrou que o agonista ou antagonista esteja em contacto com a célula ou receptor.

"Composição de ligação" refere-se a uma molécula, molécula pequena, macromolécula, anticorpo, um seu fragmento ou análogo ou receptor solúvel, capaz de se ligar a um alvo. "Composição de ligação" também se pode referir a um complexo de moléculas, e.g., um complexo não covalente, a uma molécula ionizada e a

uma molécula modificada de forma covalente ou não covalente, e.g., modificada por fosforilação, acilação, reticulação, ciclização ou clivagem limitada, que é capaz de se ligar a um alvo. “Composição de ligação” também se pode referir a uma molécula em combinação com um estabilizador, excipiente, sal, tampão, solvente ou aditivo. “Ligação” pode definir-se como uma associação da composição de ligação com um alvo em que a associação resulta em redução do movimento browniano normal da composição de ligação, em casos nos quais a composição de ligação pode ser dissolvida ou suspensa em solução.

“Caquexia” é uma síndrome debilitante que envolve perda de músculo (debilitação muscular) e de gordura, resultante de um distúrbio do metabolismo. A caquexia ocorre em vários cancros, doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC), insuficiência de órgãos avançada e SIDA. “Caquexia de cancro” é a caquexia que ocorre com cancro. A caquexia de cancro caracteriza-se por, e.g., perda de peso acentuada, anorexia, astenia e anemia. A anorexia é uma doença que resulta em perda de motivação pela comida, e.g., aversão à comida (consultar, e.g., MacDonald, et al. (2003) J. Am. Coll. Surg. 197:143-161; Rubin (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100:5384-5389; Tisdale (2002) Nature Reviews Cancer 2:862-871; Argiles, et al. (2003) Drug Discovery Today 8:838-844; Lelli, et al. (2003) J. Chemother. 15:220-225; Argiles, et al. (2003) Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care 6:401-406).

“Variantes modificados conservativamente” aplica-se tanto a sequência de aminoácidos como a sequências de ácidos nucleicos. Relativamente a sequências de ácidos nucleicos específicas, variantes modificados conservativamente refere-se aos ácidos nucleicos que codificam sequências de aminoácidos idênticas ou essencialmente idênticas ou, nos casos em que o ácido nucleico não codifica uma sequência de aminoácidos, a sequências de ácidos nucleicos essencialmente idênticas. Devido à degenerescência do código genético um grande número de ácidos nucleicos funcionalmente idênticos pode codificar qualquer proteína específica.

Relativamente às sequências de aminoácidos, o perito reconhecerá que uma substituição individual de um ácido nucleico, péptido, polipéptido ou sequência de proteína que

substitui um aminoácido conservado por um aminoácido ou uma pequena percentagem de aminoácidos na sequência codificada é um “variante com modificação conservativa”. As tabelas de substituição conservativa que proporcionam aminoácidos semelhantes funcionalmente são bem conhecidas na arte. Um exemplo de uma substituição conservativa é a troca de um aminoácido de um dos seguintes grupos por outro aminoácido do mesmo grupo (patente U.S. 5 767 063 concedida a Lee, *et al.*; Kyte e Doolittle (1982) J. Mol. Biol. 157: 105-132):

- (1) Hidrófobo: Norleucina, Ile, Val, Leu, Phe, Cys, ou Met;
- (2) Hidrófilo neutro: Cys, Ser, Thr;
- (3) Ácido: Asp, Glu;
- (4) Básico: Asn, Gln, His, Lys, Arg;
- (5) Resíduos que influenciam orientação de cadeia: Gly, Pro;
- (6) Aromático: Trp, Tyr, Phe;
- (7) Aminoácidos pequenos: Gly, Ala, Ser.

“Quantidade eficaz” abrange uma quantidade suficiente para melhorar ou evitar um sintoma ou sinal de uma condição médica. Quantidade eficaz também significa uma quantidade suficiente para permitir ou facilitar diagnóstico. Uma quantidade eficaz para um doente em particular ou indivíduo veterinário pode variar dependendo de factores tais como a condição a ser tratada, a saúde geral do doente, a via e dose de administração do método e a gravidade dos efeitos secundários (consultar, *e.g.*, patente U.S. 5 888 530 concedida a Netti, *et al.*). Uma quantidade eficaz pode ser a dose máxima ou protocolo de dosagem que evita efeitos secundários significativos ou efeitos tóxicos. O efeito resultará numa melhoria de uma medida de diagnóstico ou parâmetro em pelo menos 5%, habitualmente em pelo menos 10%, mais habitualmente pelo menos 20%, mais habitualmente pelo menos 30%, de preferência pelo menos 40%, com maior preferência pelo menos 50%, com a maior preferência pelo menos 60%, idealmente pelo menos 70%, mais idealmente pelo menos 80% e o mais idealmente pelo menos 90%, em que 100% é definido como o parâmetro de diagnóstico apresentado por um indivíduo normal (consultar, *e.g.*, Maynard, *et al.* (1996) *A Handbook of SOPs for Good Clinical Practice*, Interpharm Press, Boca Raton, FL; Dent (2001) *Good Laboratory and Good Clinical Practice*, Urch Publ., London, RU).

“Exógeno” refere-se a substâncias que são produzidas fora de um organismo, célula ou corpo humano, dependendo do contexto. “Endógeno” refere-se a substâncias que são produzidas no interior de uma célula, organismo ou corpo humano, dependendo do contexto.

“Condição imunitária” ou “doença imunitária” abrange, e.g., inflamação patológica, uma doença inflamatória e uma condição ou doença auto-imune. “Condição imunitária” também se refere a infecções, infecções persistentes e condições proliferativas, tais como cancro, tumores e angiogénese, incluindo infecções, tumores e cancros que resistem a erradicação pelo sistema imunitário. “Condição cancerosa” inclui, e.g., cancro, células de cancro, tumores, angiogénese e condições pré-cancerosas tais como displasia.

“Doença inflamatória” significa uma doença ou condição patológica em que a patologia resulta, global ou parcialmente, de, e.g., uma alteração de número, alteração de taxa de migração ou alteração de activação, de células de um sistema imunitário. As células do sistema imunitário incluem, e.g., células T, células B, monócitos ou macrófagos, células apresentadoras de antígenos (APC), células dendríticas, microgliais, células NK, células NKT, neutrófilos, eosinófilos, mastócitos ou qualquer outra célula especificamente associada com a imunologia, por exemplo, células endoteliais ou epiteliais produtoras de citocinas.

“Inibidores” e “antagonistas” ou “activadores” e “agonistas” refere-se a moléculas inibidoras ou activadoras, respectivamente, e.g., para a activação de, e.g., um ligando, receptor, cofactor, gene, célula, tecido ou órgão. Um modulador de, e.g., um gene, um receptor, um ligando ou uma célula, é uma molécula que altera uma actividade do gene, receptor, ligando ou célula, em que a actividade pode ser activada, inibida ou alterada nas suas propriedades de regulação. O modulador pode actuar sozinho ou pode utilizar um cofactor, e.g., uma proteína, ião metálico ou molécula pequena. Os inibidores são compostos que diminuem, bloqueiam, evitam, atrasam a activação, inactivam, dessensibilizam ou regulam negativamente, e.g., um gene, proteína, ligando,

receptor ou célula. Os activadores são compostos que aumentam, activam, facilitam, melhoram a activação, sensibilizam ou regulam positivamente, e.g., um gene, proteína, ligando, receptor ou célula. Um inibidor pode também ser definido como uma composição que reduz, bloqueia ou inactiva uma actividade constitutiva. Um "agonista" é um composto que interacciona com um alvo para provocar ou promover um aumento na activação do alvo. Um "antagonista" é um composto que se opõe às acções de um agonista. Um antagonista evita, reduz, inibe ou neutraliza a actividade de um agonista. Um antagonista pode também evitar, inibir ou reduzir actividade constitutiva de um alvo, e.g., um receptor de alvo, mesmo quando não existe agonista identificado.

Para analisar a extensão da inibição, por exemplo, amostras ou ensaios incluindo determinada, e.g., proteína, gene, célula ou organismo, são tratadas com um potencial activador ou inibidor e são comparadas com amostras de controlo sem o inibidor. Atribuem-se amostras de controlo, i.e., não tratadas com antagonista, ao valor de actividade relativa de 100%. Atinge-se inibição quando o valor da actividade relativamente ao controlo é de cerca de 90% ou menos, tipicamente 85% ou menos, mais tipicamente 80% ou menos, mais tipicamente 75% ou menos, geralmente 70% ou menos, mais geralmente 65% ou menos, mais geralmente 60% ou menos, tipicamente 55% ou menos, habitualmente 50% ou menos, mais habitualmente 45% ou menos, mais habitualmente 40% ou menos, de preferência 35% ou menos, com maior preferência 30% ou menos, ainda com maior preferência 25% ou menos e com a maior preferência menos de 25%. Obtém-se activação quando o valor da actividade relativamente ao controlo é de cerca de 110%, geralmente pelo menos 120%, mais geralmente pelo menos 140%, mais geralmente pelo menos 160%, muitas vezes pelo menos 180%, mais habitualmente pelo menos 2 vezes, na maioria das vezes pelo menos 2,5 vezes, habitualmente pelo menos 5 vezes, mais habitualmente pelo menos 10 vezes, de preferência pelo menos 20 vezes, com maior preferência pelo menos 40 vezes e com a maior preferência mais de 40 vezes superior.

Os pontos finais de activação ou inibição podem ser monitorizados como se segue. A activação, inibição e resposta ao tratamento, e.g., de uma célula, fluido fisiológico,

tecido, órgão e indivíduo animal ou humano, pode ser monitorizada por um ponto final. O ponto final pode incluir uma quantidade predeterminada ou percentagem de, e.g., um indício de inflamação, oncogenicidade ou desgranulação ou excreção celular, tal como a libertação de uma citoquina, oxigénio tóxico ou uma protease. O ponto final pode incluir, e.g., uma quantidade predeterminada de fluxo iónico ou transporte; migração celular; adesão celular; proliferação celular; potencial para metástase; diferenciação celular; e alteração de fenótipo, e.g., alteração de expressão de genes relacionados com inflamação, apoptose, transformação, ciclo celular ou metástase (consultar, e.g., Knight (2000) *Ann. Clin. Lab. Sci.* 30:145-158; Hood e Cheresch (2002) *Nature Rev. Cancer* 2:91-100; Timme, et al. (2003) *Curr. Drug Targets* 4:251-261; Robbins e Itzkowitz (2002) *Med. Clin. North Am.* 86:1467-1495; Grady e Markowitz (2002) *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 3:101-128; Bauer, et al. (2001) *Glia* 36:235-243; Stanimirovic e Satoh (2000) *Brain Pathol.* 10:113-126).

Um ponto final de inibição é geralmente 75% do controlo ou menos, de preferência 50% do controlo ou menos, com maior preferência 25% do controlo ou menos e com a maior preferência 10% do controlo ou menos. Geralmente, um ponto final de activação é pelo menos 150% do controlo, de preferência pelo menos duas vezes o controlo, com maior preferência pelo menos quatro vezes o controlo e com a maior preferência pelo menos 10 vezes o controlo.

Uma composição que é "marcada" é detectável, directa ou indirectamente, por métodos espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, imunoquímicos, isotópicos ou químicos. Por exemplo, marcadores úteis incluem ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^{14}C , ^3H , ^{125}I , isótopos estáveis, corantes fluorescentes, reagentes de elevada densidade electrónica, substratos, marcadores de epítipo ou enzimas, e.g., tal como utilizados em ensaios de imunoabsorção enzimática ou fluorettes (consultar, e.g., Rozinov e Nolan (1998) *Chem. Biol.* 5:713-728).

"Ligando" refere-se, e.g., a uma molécula pequena, péptido, polipéptido e molécula associada a membrana ou ligada a membrana ou seu complexo, que pode actuar como um agonista ou antagonista de um receptor. "Ligando" também abrange um

agente que não é um agonista ou antagonista, mas que se pode ligar ao receptor sem influenciar significativamente as suas propriedades biológicas, e.g., sinalização ou adesão. Além disso, “ligando” inclui ligando ligado a membrana que foi alterado, e.g., por métodos químicos ou recombinantes, a uma versão solúvel de um ligando ligado a membrana. Por convenção, quando o ligando está ligado a membrana numa primeira célula, o receptor ocorre habitualmente numa segunda célula. A segunda célula pode ter a mesma identidade ou uma identidade diferente da primeira célula. Um ligando ou receptor pode ser inteiramente intracelular, ou seja, pode residir no citosol, núcleo ou algum outro compartimento intracelular. O ligando ou receptor pode alterar a sua localização, e.g., de um compartimento intracelular para a face exterior da membrana plasmática. O complexo de um ligando e receptor denomina-se um “complexo ligando receptor”. Quando um ligando e receptor estão envolvidos numa via de sinalização, o ligando ocorre numa posição a montante e o receptor ocorre numa posição a jusante da via de sinalização.

Proporcionam-se “moléculas pequenas” para o tratamento de fisiologia e doenças de tumores e cancro. Define-se “molécula pequena” como uma molécula com um peso molecular que é inferior a 10 kD, tipicamente inferior a 2 kD e de preferência inferior a 1 kD. As moléculas pequenas incluem, entre outras, moléculas inorgânicas, moléculas orgânicas, moléculas orgânicas contendo uma componente inorgânica, moléculas incluindo um átomo radioactivo, moléculas sintéticas, miméticos de péptidos e miméticos de anticorpos. Como terapêutica, uma molécula pequena pode ser mais permeável a células, menos susceptível a degradação e menos apta para desencadear uma resposta imunitária do que moléculas grandes. Descrevem-se moléculas pequenas, tais como miméticos de péptidos de anticorpos e citoquinas, assim como toxinas de moléculas pequenas (consultar, e.g., Casset, et al. (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 307:198-205; Muyldermans (2001) *J. Biotechnol.* 74:277-302; Li (2000) *Nat. Biotechnol.* 18:1251-1256; Apostolopoulos, et al. (2002) *Curr. Med. Chem.* 9:411-420; Monfardini, et al. (2002) *Curr. Pharm. Des.* 8:2185-2199; Domingues, et al. (1999) *Nat. Struct. Biol.* 6:652-656; Sato e Sone (2003) *Biochem. J.* 371:603-608; patente U.S. 6 326 482 concedida a Stewart, et al.).

Ligar “especificamente” ou “selectivamente”, em referência a um ligando/receptor, anticorpo/antigénio ou outro par de ligação, indica uma reacção de ligação que é determinante da presença da proteína numa população heterogénea de proteínas e outros agentes biológicos. Assim, sob determinadas condições, um ligando específico liga-se a um receptor específico e não se liga em quantidade significativa a outras proteínas presentes na amostra. O anticorpo ou composição de ligação derivado do local de ligação ao antigénio de um anticorpo, do método considerado liga-se ao seu antigénio ou uma sua variante ou muteína, com uma afinidade que é pelo menos duas vezes superior, de preferência pelo menos dez vezes superior, com maior preferência pelo menos 20 vezes superior e com a maior preferência pelo menos 100 vezes superior que a afinidade para qualquer outro anticorpo ou composição de ligação dele derivada. Numa concretização preferida o anticorpo terá uma afinidade que é maior que cerca de 10^9 litros/mol, tal como determinada, e.g., por análise de Scatchard (Munsen, *et al.* (1980) *Analyt. Biochem.* 107:220-239).

II. Geral.

Descrevem-se métodos de utilizar polipéptidos, ácidos nucleicos, variantes, muteínas e miméticos do heterodímero IL-23, subunidade p19, subunidade p40, o heterodímero de receptor de IL-23, subunidade IL-23R ou subunidade IL-12Rbeta1. Também se proporcionam métodos para utilizar uma hiperquina, i.e., uma proteína de fusão incluindo, e.g., a subunidade p19 ligada à subunidade p40, assim como ácidos nucleicos que codificam a hiperquina (consultar, e.g., SEQ ID NO:10 ou 11) (Oppmann, *et al.*, supra; Fischer, *et al.* (1997) *Nature Biotechnol.* 15:142-145; Rakemann, *et al.* (1999) *J. Biol. Chem.* 274:1257-1266; e Peters, *et al.* (1998) *J. Immunol.* 161:3575-3581).

A interleucina-23 (IL-23; também denominada IL-B30) é uma citocina heterodimérica composta por uma nova subunidade p19 (SEQ ID NO:2 ou 4) e a subunidade p40 (SEQ ID NO:8 ou 9) de IL-12 (Oppmann, *et al.*, supra). Tal como p35, p19 necessita de co-expressão de p40 para actividade biológica (Wiekowski, *et*

al., *supra*). O receptor IL-23 inclui uma nova subunidade de receptor (IL-23R; SEQ ID NO:6) que liga p19 e IL-12Rbeta1 (SEQ ID NO:7) que liga p40 (consultar, *e.g.*, Parham, *et al.* (2002) J. Immunol. 168:5699-5708). Estas duas subunidades de receptor formam o complexo de sinalização funcional e são expressas em células T de memória CD4⁺CD45Rb^{lo} assim como em macrófagos de medula óssea activados por IFNgama (Parham, *et al.*, *supra*).

Podem desenvolver-se anticorpos para diferentes proteínas citocinas, incluindo variantes individuais, polimórficas, alélicas, de estirpe ou de espécie e seus fragmentos, tanto nas suas formas de ocorrência natural (comprimento total) como nas suas formas recombinantes (consultar, *e.g.*, SEQ ID NO:2, 4, 10 ou 11). Adicionalmente, podem desenvolver-se anticorpos para proteínas de receptor (consultar, *e.g.*, SEQ ID NO:6) tanto nas suas formas nativas (ou activas) como nas suas formas inactivas, *e.g.*, desnaturadas. Podem também utilizar-se anticorpos anti-idiotípicos.

A administração de um agonista de IL-23, *i.e.*, IL-23 ou hiperquina IL-23, pode induzir, *e.g.*, proliferação de células T de memória, blastos PHA, células T CD45RO, células T CD45RO; aumentar produção de interferão-gama (IFNgama) por blastos PHA ou células T CD45RO. Em contraste com IL-12, IL-23 estimula preferentemente populações de células T de memória contrariamente a populações de células T naives, tanto humanas como de ratinho. IL-23 activa várias moléculas intracelulares de sinalização celular, *e.g.*, Jak2, Tyk2, Stat1, Stat2, Stat3, e Stat4. IL-12 activa este mesmo grupo de moléculas mas a resposta de Stat4 a IL-23 é relativamente fraca, enquanto a resposta de Stat4 a IL-12 é forte (Oppmann, *et al.*, *supra*; Parham, *et al.* (2002) J. Immunol. 168:5699-5708).

IL-12 e IL-23 desencadeiam mecanismos de transdução de sinal semelhantes. IL-23, ao desencadear o seu complexo de receptor activa Jak2, Tyk2 e Stat-1, Stat-3, Stat-4 e Stat-5, tal como IL-12. Contudo a activação de Stat-4 tem uma resposta significativamente mais fraca a IL-23 do que a IL-12. Igualmente, contrariamente a IL-12, a Stat mais importante induzida por IL-23 é Stat-3 (consultar, *e.g.*, Parham, *et al.*, *supra*).

A administração da subunidade p19 de IL-23 pode resultar em, e.g., crescimento interrompido, infertilidade e morte de animais, assim como infiltrados inflamatórios, e.g., no tracto gastrointestinal, pulmões, pele e fígado e hiperplasia de células epiteliais, anemia microcítica, contagem de neutrófilos aumentada, TNF α sérica aumentada; e expressão aumentada de genes de fase aguda no fígado; (Wiekowski, et al., supra). Ocorreu expressão aumentada de IL-23 em linhas celulares epiteliais imortalizadas não transformadas. Assim, IL-23 pode proporcionar um sinal precoce de potencial tumoral *in vivo*.

Outros estudos demonstraram que IL-23 modula resposta imunitária à infecção (consultar, e.g., Pirhonen, et al. (2002) J. Immunol. 169:5673-5678; Broberg, et al. (2002) J. Interferon Cytokine Res. 22:641-651; Elkins, et al. (2002) Infection Immunity 70:1936-1948; Cooper, et al. (2002) J. Immunol. 168:1322-1327).

Relativamente a cancro, a presença de uma quantidade relativamente elevada de produto de transcrição em tecido de biopsia de um indivíduo indica uma predisposição para o desenvolvimento da doença ou pode proporcionar um meio de detectar a doença antes do aparecimento de sintomas clínicos reais. Os dados de expressão génica são uma ferramenta útil no diagnóstico e tratamento de doenças e condições patológicas (consultar, e.g., Li e Wong (2001) Genome Informatics 12:3-13; Lockhart, et al. (1996) Nature Biotechnol. 14:1675-1680; Homey, et al. (2000) J. Immunol. 164:3465-3470; Debets, et al. (2000) J. Immunol. 165:4950-4956).

III. Agonistas, antagonistas e composições de ligação.

Descrevem-se métodos de utilizar agonistas e antagonistas de IL-23. Um agonista de IL-23 abrange, e.g., IL-23, uma variante de IL-23, muteína, hiperquina ou mimético de péptido, anticorpos agonistas para IL-23R e ácidos nucleicos que codificam estes agonistas. Os antagonistas de IL-23 incluem, e.g., anticorpos para IL-23, anticorpos bloqueadores de IL-23R, um receptor solúvel baseado na região extracelular de uma subunidade do IL-23R, seus miméticos de péptido e ácidos nucleicos que codificam esses antagonistas.

Descrevem-se métodos de utilizar agonistas e antagonistas de p19, o complexo de p19 e p40, IL-23R e o complexo de IL-23R e IL-12Rbeta1, incluindo composições de ligação que se ligam especificamente a proteínas e complexos de proteína de p19, o complexo de p19 e p40, IL-23R e o complexo de IL-23R e IL-12Rbeta1.

Uma hiperquina IL-23 abrange, e.g., uma proteína de fusão incluindo a sequência de polipéptido de p19 e p40, em que p19 e p40 ocorrem numa cadeia de polipéptido contínua. As sequências de p19 e p40 podem estar em qualquer ordem. A proteína de fusão pode conter uma sequência de ligação, estabelecida entre as sequências de p19 e p40, numa cadeia de polipéptido contínua.

Podem utilizar-se regiões de antigenicidade aumentada para geração de anticorpos. Ocorrem regiões de antigenicidade aumentada de p19 humana, e.g., nos aminoácidos 16-28; 57-87; 110-114; 136-154; e 182-186 de GenBank AAQ89442 (gi:37183284). Ocorrem regiões de antigenicidade aumentada de IL-23R humana, e.g., nos aminoácidos 22-33; 57-63; 68-74; 101-112; 117-133; 164-177; 244-264; 294-302; 315-326; 347-354; 444-473; 510-530; e 554-558 de GenBank AAM44229 (gi: 21239252). A análise foi com um gráfico de Parker utilizando Vector NTI® Suite (Informax, Inc, Bethesda, MD). O presente invento também proporciona um antagonista de IL-23 que é um receptor solúvel, i.e., incluindo uma região extracelular de IL-23R, e.g., aminoácidos 1-353 de GenBank AAM44229 ou um seu fragmento, em que a região extracelular ou seu fragmento se liga especificamente a IL-23. IL-23R de ratinho é GenBank NP_653131 (gi:21362353). Abrangem-se muteínas e variantes, e.g., reacção com PEG ou mutagénese para remover ou substituir resíduos Asn que promovem desaminação.

Podem preparar-se anticorpos monoclonais, policlonais e humanizados (consultar, e.g., Sheperd e Dean (ed.) (2000) *Monoclonal Antibodies*, Oxford Univ. Press, New York, NY; Kontermann e Dubel (ed.) (2001) *Antibody Engineering*, Springer-Verlag, New York; Harlow e Lane (1988) *Antibodies A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, p. 139-243; Carpenter, et al. (2000) *J. Immunol.* 165:6205; He, et al. (1998) *J. Immunol.* 160:1029;

Tang, et al. (1999) J. Biol. Chem. 274:27371-27378; Baca, et al. (1997) J. Biol. Chem. 272:10678-10684; Chothia, et al. (1989) Nature 342:877-883; Foote e Winter (1992) J. Mol. Biol. 224:487-499; patente U.S. 6 329 511 concedida a Vasquez, et al.).

Não é necessária purificação de antígeno para a geração de anticorpos. A imunização pode ser efectuada por imunização com vector de ADN, consultar, e.g., Wang, et al. (1997) Virology 228:278-284. Alternativamente, os animais podem ser imunizados com células apresentando o antígeno de interesse. Podem então isolar-se esplenócitos a partir dos animais imunizados e podem fundir-se os esplenócitos com uma linha celular de mieloma para produzir um hibridoma (Meynard, et al. (1997) Immunity 7:283-290; Wright, et al. (2000) Immunity 13:233-242; Preston, et al. (1997) Eur. J. Immunol. 27:1911-1918). Os hibridomas resultantes podem ser rastreados para produção do anticorpo pretendido por ensaios funcionais ou ensaios biológicos, ou seja, ensaios não dependentes da posse do antígeno purificado. A imunização com células pode provar ser melhor para geração de anticorpo do que a imunização com antígeno purificado (Kaithamana, et al. (1999) J. Immunol. 163:5157-5164).

Podem medir-se as propriedades de ligação de anticorpo a antígeno e ligando a receptor, e.g., por ressonância plasmónica de superfície (Karlsson, et al. (1991) J. Immunol. Methods 145:229-240; Neri, et al. (1997) Nat. Biotechnol. 15:1271-1275; Jonsson, et al. (1991) Biotechniques 11:620-627) ou por ELISA de competição (Friguet, et al. (1985) J. Immunol. Methods 77:305-319; Hubble (1997) Immunol. Today 18:305-306). Podem utilizar-se anticorpos para purificação por afinidade para isolar os antígenos alvo do anticorpo e proteínas ligadas associadas, consultar, e.g., Wilchek, et al. (1984) Meth. Enzymol. 104:3-55.

Os anticorpos ligarão habitualmente com um K_D de pelo menos cerca de 10^{-3} M, mais habitualmente pelo menos 10^{-6} M, tipicamente pelo menos 10^{-7} M, mais tipicamente pelo menos 10^{-8} M, de preferência pelo menos cerca de 10^{-9} M e com maior preferência pelo menos 10^{-10} M e com a maior preferência pelo menos 10^{-11} M (consultar, e.g., Presta, et al. (2001) Thromb.

Haemost. 85:379-389; Yang, et al. (2001) Crit. Rev. Oncol. Hematol. 38:17-23; Carnahan, et al. (2003) Clin. Cancer Res. (Supl.) 9:3982s-3990s).

Proporcionam-se receptores solúveis incluindo os domínios extracelulares dos polipéptidos receptores de IL-23R ou de IL-12R β 1. Os receptores solúveis podem ser preparados e utilizados de acordo com métodos padrão (consultar, e.g., Jones, et al. (2002) Biochim. Biophys. Acta 1592:251-263; Prudhomme, et al. (2001) Expert Opinion Biol. Ther. 1:359-373; Fernandez-Botran (1999) Crit. Rev. Clin. Lab Sci. 36:165-224).

IV. Composições e métodos terapêuticos.

Descreve-se a utilização de IL-23 e anti-IL-23R, e.g., no tratamento de condições e doenças proliferativas, incluindo cancro, tumores, angiogénese, caquexia, caquexia de cancro, anorexia e doenças pré-cancerosas, e.g., displasia. Proporcionam-se também ácidos nucleicos para estas utilizações terapêuticas, e.g., ácido nucleicos que codificam IL-23 ou IL-23R ou um seu fragmento antigénico, os ácidos nucleicos anti-sentido correspondentes e os seus produtos de hibridação. O invento também proporciona composições para ARNsi de interferência (consultar, e.g., Arenz e Schepers (2003) Naturwissenschaften 90:345-359; Sazani e Kole (2003) J. Clin. Invest. 112:481-486; Pirollo, et al. (2003) Pharmacol. Therapeutics 99:55-77; Wang, et al. (2003) Antisense Nucl. Acid Drug Devel. 13:169-189).

Para preparar composições farmacêuticas ou estéreis incluindo um agonista ou antagonista de IL-23, mistura-se o análogo de citoquina ou muteína, anticorpo para este ou ácido nucleico correspondente, com um transportador ou excipiente farmacêuticamente aceitável, consultar, e.g., Remington's Pharmaceutical Sciences e U.S. Pharmacopeia: National Formulary, Mack Publishing Company, Easton, PA (1984). Podem preparar-se formulações de agentes terapêuticos e de diagnóstico por mistura com transportadores, excipientes ou estabilizantes farmacêuticamente aceitáveis sob a forma de, e.g., pós liofilizados, pastas, soluções aquosas ou suspensões (consultar, e.g., Hardman, et al. (2001) Goodman e Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New

York, NY; Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams e Wilkins, New York, NY; Avis, *et al.* (ed.) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Lieberman, *et al.* (ed.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; Lieberman, *et al.* (ed.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY; Weiner e Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, NY).

A via de administração é, *e.g.*, aplicação tópica ou cutânea, injeção subcutânea, injeção ou infusão pelas vias intravenosa, intraperitoneal, intracerebral, intramuscular, intra-ocular, intra-arterial, intracerebrospinal, intralesional, ou pulmonar ou por sistemas de libertação prolongada ou um implante. Descreveram-se vectores de transferência génica, *e.g.*, para o sistema nervoso central (consultar, *e.g.*, Cua, *et al.* (2001) *J. Immunol.* 166:602-608; Sidman *et al.* (1983) *Biopolymers* 22:547-556; Langer, *et al.* (1981) *J. Biomed. Mater. Res.* 15:167-277; Langer (1982) *Chem. Tench* 12:98-105; Epstein, *et al.* (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:3688-3692; Hwang, *et al.* (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4030-4034; patentes U.S. 6 350 466 e 6 316 024).

A selecção de um regime de administração para a terapêutica depende de vários factores, incluindo a taxa de conversão do soro ou tecido da entidade, o nível de sintomas, a imunogenicidade da entidade e a acessibilidade das células alvo na matriz biológica. Preferentemente, um regime de administração maximiza a quantidade de agente terapêutico entregue ao doente consistentemente com uma quantidade aceitável de efeitos secundários. Consequentemente, a quantidade de agente biológico depende parcialmente da entidade específica e da gravidade da doença a ser tratada. Estão disponíveis orientações para seleccionar as doses adequadas de anticorpos, citoquinas e moléculas pequenas (consultar, *e.g.*, Wawrzynczak (1996) *Antibody Therapy*, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina (ed.) (1991) *Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis*, Marcel Dekker, New York, NY; Bach (ed.) (1993) *Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases*, Marcel Dekker, New York, NY; Baert, *et al.* (2003) *New Engl. J. Med.* 348:601-608;

Milgrom, *et al.* (1999) *New Engl. J. Med.* 341:1966-1973; Slamon, *et al.* (2001) *New Engl. J. Med.* 344:783-792; Beniaminovitz, *et al.* (2000) *New Engl. J. Med.* 342:613-619; Ghosh, *et al.* (2003) *New Engl. J. Med.* 348:24-32; Lipsky, *et al.* (2000) *New Engl. J. Med.* 343:1594-1602).

Podem proporcionar-se anticorpos, fragmentos de anticorpo e citocinas por infusão contínua ou por doses a intervalos de, *e.g.*, um dia, uma semana ou 1-7 vezes por semana. As doses podem ser proporcionadas pelas vias intravenosa, subcutânea, tópica, oral, nasal, rectal, intramuscular, intracerebral, intra-espinhal ou por inalação. Um protocolo de dosagem preferido é aquele que envolve a dose ou frequência de dose máximas que evite efeitos secundários indesejáveis significativos. Uma dose semanal total é geralmente de pelo menos 0,05 µg/kg peso corporal, mais geralmente pelo menos 0,2 µg/kg, o mais geralmente pelo menos 0,5 µg/kg, tipicamente pelo menos 1 µg/kg, mais tipicamente pelo menos 10 µg/kg, o mais tipicamente pelo menos 100 µg/kg, de preferência pelo menos 0,2 mg/kg, com maior preferência pelo menos 1,0 mg/kg, com a maior preferência pelo menos 2,0 mg/kg, optimamente pelo menos 10 mg/kg, mais optimamente pelo menos 25 mg/kg e o mais optimamente pelo menos 50 mg/kg (consultar, *e.g.*, Yang, *et al.* (2003) *New Engl. J. Med.* 349:427-434; Herold, *et al.* (2002) *New Engl. J. Med.* 346:1692-1698; Liu, *et al.* (1999) *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 67:451-456; Portielji, *et al.* (2003) *Cancer Immunol. Immunother.* 52:133-144). A dose pretendida de uma molécula terapêutica pequena, *e.g.*, um mimético de péptido, produto natural ou produto químico orgânico, é praticamente a mesma que para um anticorpo ou polipéptido numa base de moles/kg.

Uma quantidade eficaz para um doente específico pode variar dependendo de factores tais como a doença a ser tratada, a saúde geral do doente, a via e dose de administração do método e a gravidade dos efeitos secundários (consultar, *e.g.*, Maynard, *et al.* (1996) *A Handbook of SOPs for Good Clinical Practice*, Interpharm Press, Boca Raton, FL; Dent (2001) *Good Laboratory and Good Clinical Practice*, Urch Publ., London, UK).

Indivíduos veterinários, experimentais ou de investigação típicos incluem macacos, cães, gatos, ratos, ratinhos, coelhos, porquinhos-da-índia, cavalos e humanos.

A determinação da dose adequada é efectuada por um clínico, e.g. utilizando parâmetros ou factores que se sabe ou se suspeita na arte que afectam o tratamento ou que é previsível que afectam o tratamento. Em geral, a dose tem início com uma quantidade ligeiramente inferior à dose óptima e é seguidamente aumentada em pequenos incrementos até se atingir o efeito óptimo relativamente a quaisquer efeitos secundários negativos. As medidas de diagnóstico importantes incluem as relativas aos sintomas e.g. de inflamação ou nível de citocinas inflamatórias produzidas. De preferência, um agente biológico que será utilizado é derivado da mesma espécie que o animal alvo para tratamento, minimizando assim uma resposta humoral ao reagente.

São bem conhecidos na arte métodos para co-administração ou tratamento com um segundo agente terapêutico, e.g. uma citocina, esteróide, agente quimioterapêutico, antibiótico ou radiação (consultar, e.g. Hardman, et al. (ed.) (2001) Goodman e Gilman The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10^a ed., McGraw-Hill, New York, NY; Poole e Peterson (ed.) (2001) Pharmacotherapeutics for Advanced Practice: A Practical Approach, Lippincott, Williams e Wilkins, Phila., PA; Chabner e Longo (ed.) (2001) Cancer Chemotherapy and Biotherapy, Lippincott, Williams e Wilkins, Phila., PA). Uma quantidade eficaz de agente terapêutico diminuirá os sintomas tipicamente em pelo menos 10%; usualmente em pelo menos 20%; de preferência pelo menos 30%; com maior preferência pelo menos 40% e com a maior preferência pelo menos 50%.

V. Kits e reagentes de diagnóstico.

Descrevem-se proteínas IL-23, seus fragmentos, ácidos nucleicos e seus fragmentos, num kit de diagnóstico. Também se proporcionam composições de ligação, incluindo anticorpos ou fragmentos de anticorpos, para a detecção de IL-23 ou de receptor de IL-23, e seus metabolitos e produtos de degradação. Tipicamente, o kit terá um compartimento contendo um polipéptido p19 ou um seu fragmento antigénico, uma

composição para ligação a este, ou um ácido nucleico, e.g., uma sonda de ácido nucleico ou iniciador. A sonda de ácido nucleico ou iniciador hibrida especificamente em condições rigorosas com um ácido nucleico que codifica p19 ou IL-23R.

O *kit* pode incluir, e.g. um reagente e um compartimento, um reagente e instruções para utilização, ou um reagente com um compartimento e instruções para utilização. O reagente pode incluir p19, o complexo de p19 e p40, IL-23R, o complexo de IL-23R e IL-12R β 1, ou um seu fragmento antigénico, uma composição de ligação, ou um ácido nucleico. Um *kit* para determinar a ligação de um composto de ensaio, e.g. adquirido a partir de uma amostra biológica ou a partir de uma biblioteca química, pode incluir um composto de controlo, um composto marcado e um método para separar composto marcado livre de composto marcado ligado.

Os ensaios de diagnóstico podem ser utilizados com matrizes biológicas tais como células vivas, extractos celulares, lisados celulares, células fixadas, culturas celulares, fluidos biológicos ou amostras forenses. Os anticorpos conjugados úteis para objectivos de diagnóstico ou *kit* incluem anticorpos acoplados com corantes, isótopos, enzimas e metais (consultar, e.g., Le Doussal, et al. (1991) New Engl. J. Med. 146:169-175; Gibellini, et al. (1998) J. Immunol. 160:3891-3898; Hsing e Bishop (1999) New Engl. J. Med. 162:2804-2811; Everts, et al. (2002) New Engl. J. Med. 168:883-889). Existem vários formatos de ensaio, tais como radioimunoensaios (RIA), ELISA e "lab on a chip" (Patentes U.S. 6 176 962 e 6 517 234).

Descrevem-se polipéptidos e ácidos nucleicos de IL-23 e IL-23R, seus fragmentos, num *kit* de diagnóstico, e.g. para o diagnóstico de doenças proliferativas, cancro, tumores e doenças pré-cancerosas, e.g., displasia.

Também se descrevem composições de ligação, incluindo anticorpos ou fragmentos de anticorpos, para a detecção de p19, o complexo de 19 e p40, IL-23R, o complexo de IL-23R e IL-12R β 1, e seus metabolitos e produtos de degradação. Tipicamente, o *kit* terá um compartimento contendo polipéptido IL-23 ou IL-23R, ou um seu fragmento antigénico, uma

composição de ligação a tal, ou um ácido nucleico, tal como uma sonda de ácido nucleico, iniciador, ou farol molecular (consultar, e.g. Rajendran, *et al.* (2003) *Nucleic Acids Res.* 31:5700-5713; Cockerill (2003) *Arch. Pathol. Lab. Med.* 127:1112-1120; Zammattéo, *et al.* (2002) *Biotech. Annu. Rev.* 8:85-101; Klein (2002) *Trends Mol. Med.* 8:257-260).

Um método de diagnóstico pode incluir pôr em contacto uma amostra de um indivíduo, e.g. um indivíduo de ensaio, com uma composição de ligação que liga especificamente um polipéptido ou ácido nucleico de p19, o complexo de p19 e p40, IL-23R e o complexo de IL-23R e IL-12Rbeta1. O método pode incluir adicionalmente pôr em contacto uma amostra de um indivíduo de controlo, de um indivíduo normal ou tecido ou fluido normal do indivíduo de ensaio, com a composição de ligação. Além disso, o método pode incluir adicionalmente a comparação da ligação específica da composição ao indivíduo de ensaio com a ligação específica da composição ao indivíduo normal, indivíduo de controlo ou tecido ou fluido normal do indivíduo de ensaio. Pode comparar-se a expressão ou actividade de uma amostra de ensaio ou de um indivíduo de ensaio com a de uma amostra de controlo ou indivíduo de controlo. Uma amostra de controlo pode incluir, e.g. uma amostra de um tecido não afectado ou não inflamado num doente que sofre de uma doença imunitária. A expressão ou actividade de um indivíduo de controlo ou amostra de controlo pode ser proporcionada como um valor predeterminado, e.g., adquirido a partir de um grupo apropriado estatisticamente de indivíduos de controlo.

VI. Utilizações.

Descrevem-se métodos para utilizar agonistas e antagonistas de IL-23 para o tratamento e diagnóstico de doenças e condições inflamatórias, e.g., doenças neoplásicas, cancros, tumores, angiogénese, condições pré-cancerosas tais como displasias, anorexia, caquexia e caquexia de cancro, por modulação da resposta imunitária.

Descrevem-se métodos de tratar ou diagnosticar uma condição ou doença proliferativa, e.g. cancro do útero, cérvix, mama, próstata, testículos, pénis, tracto gastrointestinal, e.g., esófago, orofaringe, estômago,

intestino delgado e grosso, cólon ou recto, rim, células renais, bexiga, ossos, medula óssea, pele, cabeça ou pescoço, pele, fígado, vesicular biliar, coração, pulmão, pâncreas, glândulas salivares, cápsula supra-renal, tiróide, cérebro, gânglios, sistema nervoso central (SNC) e sistema nervoso periférico (SNP) e sistema imunitário, e.g. baço ou timo. Descrevem-se métodos de tratamento de, e.g. tumores imunogénicos, tumores não imunogénicos, tumores dormentes, cancros induzidos por vírus, e.g. cancros das células epiteliais, cancros das células endoteliais, cancros das células escamosas, papilomavírus, adenocarcinomas, linfomas, carcinomas, melanomas, leucemias, mielomas, sarcomas, teratocarcinomas, cancros induzidos quimicamente, metástases e angiogénese. O invento também abrange a redução da tolerância a um antigénio de célula de tumor ou de célula de cancro, e.g. por modulação da actividade de uma célula T de regulação (Treg) (consultar, e.g., Ramirez-Montagut, et al. (2003) *Oncogene* 22:3180-3187; Sawaya, et al. (2003) *New Engl. J. Med.* 349:1501-1509; Farrar, et al. (1999) *J. Immunol.* 162:2842-2849; Le, et al. (2001) *J. Immunol.* 167:6765-6772; Cannistra e Niloff (1996) *New Engl. J. Med.* 334:1030-1038; Osborne (1998) *New Engl. J. Med.* 339:1609-1618; Lynch e Chapelle (2003) *New Engl. J. Med.* 348:919-932; Enzinger e Mayer (2003) *New Engl. J. Med.* 349:2241-2252; Forastiere, et al. (2001) *New Engl. J. Med.* 345:1890-1900; Izbicki, et al. (1997) *New Engl. J. Med.* 337:1188-1194; Holland, et al. (ed.) (1996) *Cancer Medicine Encyclopedia of Cancer*. 4ª ed., Academic Press, San Diego, CA).

Descrevem-se métodos para tratar uma condição proliferativa, cancro, tumor ou condição pré-cancerosa, tal como displasia, com um agonista ou antagonista de IL-23, com pelo menos um agente terapêutico ou de diagnóstico adicional. O agente terapêutico ou de diagnóstico (pelo menos um) pode ser, e.g. uma citoquina ou antagonista de citoquina, tal como IL-12, interferão-alfa ou anti-receptor de factor de crescimento epidérmico, doxorubicina, epirubicina, um anti-folato, e.g. metotrexato ou fluoruracilo, irinotecano, ciclofosfamida, radioterapia, terapia hormonal ou anti-hormonal, e.g. androgénio, estrogénio, anti-estrogénio, flutamida ou dietilestilbestrol, cirurgia, tamoxifeno, ifosfamida, mitolactol, um agente alquilante, e.g. melfalano

ou cisplatina, etoposido, vinorelbina, vinblastina, vindesina, um glucocorticóide, um antagonista de receptor de histamina, um inibidor de angiogénese, radiação, um sensibilizador a radiação, antraciclina, alcalóide de vinca, taxano, e.g. paclitaxel e docetaxel, um inibidor de ciclo celular, e.g. um inibidor de quinase dependente de ciclina, um anticorpo monoclonal, um complexo de anticorpo monoclonal e toxina, um adjuvante de células T, um transplante de medula óssea, ou células que apresentam antigénios, e.g. terapia de células dendríticas. Podem proporcionar-se vacinas, e.g. como uma proteína solúvel ou como um ácido nucleico que codifica a proteína (consultar, e.g., Le, *et al.*, supra; Greco e Zellefsky (ed.) (2000) *Radiotherapy of Prostate Cancer*, Harwood Academic, Amsterdam; Shapiro e Recht (2001) *New Engl. J. Med.* 344:1997-2008; Hortobagyi (1998) *New Engl. J. Med.* 339:974-984; Catalona (1994) *New Engl. J. Med.* 331:996-1004; Naylor e Hadden (2003) *Int. Immunopharmacol.* 3:1205-1215; The Int. Adjuvant Lung Cancer Trial Collaborative Group (2004) *New Engl. J. Med.* 350:351-360; Slamon, *et al.* (2001) *New Engl. J. Med.* 344:783-792; Kudelka, *et al.* (1998) *New Engl. J. Med.* 338:991-992; van Netten, *et al.* (1996) *New Engl. J. Med.* 334:920-921).

Descrevem-se métodos para o tratamento e diagnóstico de anorexia e caquexia, incluindo caquexia de cancro. A caquexia é um síndrome debilitante que ocorre em várias doenças, incluindo cancro, e.g. cancro do pulmão e do tracto gastrointestinal superior. A caquexia ocorre em cerca de metade de todos os doentes de cancro. O diagnóstico de caquexia é por uma história de perda de peso substancial, perda de apetite e fraqueza acentuada, no contexto de doença avançada, e perda de músculo (perda de massa corporal magra). As citocinas, e.g., IL-6, IL-1, TNF α e IFN γ , foram associadas a caquexia (consultar, e.g., MacDonald, *et al.*, supra; Rubin, supra; Tisdale, supra; Lelli, *et al.*, supra; Argiles, *et al.*, supra).

Também se proporcionam métodos de tratar hematopoiese extramedular (EMH) de cancro. Descreve-se EMH (consultar, e.g., Rao, *et al.* (2003) *Leuk. Lymphoma* 44:715-718; Lane, *et al.* (2002) *J. Cutan. Pathol.* 29:608-612).

O tracto gastrointestinal inclui, *e.g.*, os lábios, boca, esófago, estômago, intestino delgado, apêndice, intestino grosso, cólon, ânus e recto. O tracto respiratório inclui, *e.g.*, a traqueia, bronquíolos, brônquios, pulmões, alvéolos. O sistema reprodutor inclui, *e.g.* os testículos, pénis, ovários, útero, trompas de Falópio. O sistema endócrino inclui, *e.g.* a pituitária, hipotálamo, glândula pineal, glândula da tiróide, paratiróide, pâncreas endócrino, ilhéus, gónadas e cápsulas supra-renais.

O âmbito alargado deste invento é compreendido de melhor forma por referência aos seguintes exemplos, que não se pretende que limitem os inventos às concretizações específicas.

EXEMPLOS

I. Métodos gerais.

Descrevem-se métodos padrão em biologia molecular (Maniatis, *et al.* (1982) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Sambrook e Russell (2001) *Molecular Cloning*, 3^a ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Wu (1993) *Recombinant DNA*, Vol. 217, Academic Press, San Diego, CA). Aparecem também métodos padrão em Ausbel, *et al.* (2001) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol.1-4, John Wiley and Sons, Inc. New York, NY, que descreve clonagem em células bacterianas e mutagénese de ADN (Vol. 1), clonagem em células de mamífero e de levedura (Vol. 2), glicoconjugados e expressão de proteínas (Vol. 3) e bioinformática (Vol. 4).

Descrevem-se métodos para purificação de proteínas incluindo imunoprecipitação, cromatografia, electroforese, centrifugação e cristalização (Coligan, *et al.* (2000) *Current Protocols in Protein Science*, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York). Descreve-se análise química, modificação química, modificação pós-tradução, produção de proteínas de fusão, glicosilação de proteínas (consultar, *e.g.*, Coligan, *et al.* (2000) *Current Protocols in Protein Science*, Vol. 2, John Wiley and Sons, Inc., New York; Ausubel, *et al.* (2001) *Current Protocols in Molecular Biology*. Vol. 3, John Wiley and Sons, Inc., NY, NY, p. 16.0.5-16.22.17; Sigma-Aldrich, Co. (2001)

Products for Life Science Research, St. Louis, MO; p. 45-89; Amersham Pharmacia Biotech (2001) BioDirectory, Piscataway, N.J., p. 384-391). Descreve-se produção, purificação e fragmentação de anticorpos policlonais e monoclonais (Coligan, et al. (2001) Current Protocols in Immunology, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York; Harlow e Lane (1999) Using Antibodies, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Harlow e Lane, supra). Estão disponíveis técnicas padrão para caracterizar interações ligando/receptor (consultar, e.g. Coligan, et al. (2001) Current Protocols in Immunology, Vol. 4, John Wiley, Inc., New York).

Estão disponíveis métodos para citometria de fluxo, incluindo separação celular activada por fluorescência (FACS) (consultar, e.g., Owens, et al. (1994) Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ; Givan (2001) Flow Cytometry, 2^a ed.; Wiley-Liss, Hoboken, NJ; Shapiro (2003) Practical Flow Cytometry, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ). Encontram-se disponíveis reagentes fluorescentes adequados para modificar ácidos nucleicos, incluindo iniciadores e sondas de ácido nucleico, polipéptidos e anticorpos, para utilização como, e.g., reagentes de diagnóstico (Molecular Probes (2003) Catálogo, Molecular Probes, Inc., Eugene, OR; Sigma-Aldrich (2003) Catálogo, St. Louis, MO).

Descrevem-se métodos padrão de histologia do sistema imunitário (consultar, e.g., Muller-Harmelink (ed.) (1986) Human Thymus: Histopathology and Pathology, Springer Verlag, New York, NY; Hiatt, et al. (2000) Color Atlas of Histology, Lippincott, Williams e Wilkins, Phila, PA; Louis, et al. (2002) Basic Histology: Text and Atlas, McGraw-Hill, New York, NY).

Descrevem-se métodos para o tratamento e diagnóstico de cancro (consultar, e.g., Alison (ed.) (2001) The Cancer Handbook, Grove's Dictionaries, Inc., St. Louis, MO; Oldham (ed.) (1998) Principles of Cancer Biotherapy, 3^a ed., Kluwer Academic Publ., Hingham, MA; Thompson, et al. (ed.) (2001) Textbook of Melanoma, Martin Dunitz, Ltd., London, UK; Devita, et al. (ed.) (2001) Cancer: Principles and Practice of Oncology, 6^a ed., Lippincott, Phila, PA; Holland, et al. (ed.)

(2000) Holland-Frei Cancer Medicine, BC Decker, Phila., PA; Garrett e Sell (ed.) (1995) Cellular Cancer Markers, Humana Press, Totowa, NJ; MacKie (1996) Skin Cancer, 2ª ed., Mosby, St. Louis; Moertel (1994) New Engl. J. Med. 330:1136-1142; Engleman (2003) Semin. Oncol. 30 (3 Suppl. 8):23-29; Mohr, et al. (2003) Onkologie 26:227-233).

Encontram-se disponíveis pacotes de utilitários e bases de dados para computador para determinar, e.g., fragmentos antigénicos, sequências líder, enrolamento de proteínas, domínios funcionais, locais de glicosilação e alinhamentos de sequência (consultar, e.g., GenBank, Vector NTI® Suite (Informax, Inc, Bethesda, MD); GCG Wisconsin Package (Accelrys, Inc., San Diego, CA); DeCypher® (TimeLogic Corp., Crystal Bay, Nevada); Menne, et al. (2000) Bioinformatics 16: 741-742; Menne, et al. (2000) Bioinformatics Applications Note 16:741-742; Wren, et al. (2002) Comput. Methods Programs Biomed. 68:177-181; von Heijne (1983) Eur. J. Biochem. 133:17-21; von Heijne (1986) Nucleic Acids Res. 14:4683-4690).

II. Ratinhos e indução de tumor.

Geraram-se ratinhos deficientes em p19 de IL-23 tal como descrito em Cua, et al., supra. Os ratinhos especificamente isentos de IL-23 (ratinhos p19K0; ratinhos com deleção do gene p19; ratinhos p19^{-/-}), ratinhos p19^{+/-} e ratinhos de controlo de tipo selvagem p19^{+/+} tinham uma base B6/129 F2.

Induziram-se quimicamente tumores de pele nos ratinhos de tipo selvagem (wt) ou em ratinhos deficientes em IL-23 (ratinhos p19K0). Os tumores foram iniciados utilizando 50 microgramas de 7,12-dimetilbenz[a]antraceno (DMBA) seguido por etapas de promoção que consistiram de dois tratamentos de 30 microgramas cada de TPA por semana (consultar, e.g., Oft, et al. (2002) Nat. Cell. Biol. 4:487-494).

Nos estudos de tumor com ratinhos Ep2XB1-nu/nu os tumores formam metástases, embora não ocorra caquexia. O ratinho morre, e.g. de hematopoiese extramedular (EMH). Nos estudos de tumor com ratinhos Ep2XB1-Balb/c não ocorrem metástases de tumor, aparentemente devido ao sistema imunitário intacto nestes ratinhos.

III. Expressão de subunidades de p19 e IL-23R.

A expressão da subunidade p19 de IL-23 e da subunidade IL-23R do receptor de IL-23 foi elevada em vários cancros, tumores e linhas celulares, e.g., cancro do tracto gastrointestinal, tracto reprodutor, pele e mama (Tabela 1).

Tabela 1. Expressão de subunidades de p19 e IL-23R por análise Taqman®, relativamente a ubiquitina (1,0). Os valores são de tecidos doentes e tecidos normais adjacentes, quando indicado.

Expressão de p19 humano			
Cólon normal, adjacente	4,8	Adenocarcinoma de cólon estágio I	30,5
Cólon normal, adjacente	2,0	Adenocarcinoma de cólon estágio II	73,4
Cólon normal, adjacente	0,8	Adenocarcinoma de cólon estágio II	18,2
Cólon normal, adjacente	0,21	Adenocarcinoma de cólon estágio III	21,8
Pele normal adjacente	2,2	Melanoma da pele humano II	21,8
Pele normal adjacente	6,7	Melanoma nodular de pele humano II	16,4
Pele normal adjacente	8,4	Melanoma nodular de pele humano II	26,8
Pele normal adjacente	9,3	Melanoma de alastramento superficial de pele humano II	75,1
Útero adjacente	1,6	Cistadenocarcinoma seroso papilar de ovário	55,0
Ovário adjacente	1,9	Cistadenocarcinoma seroso papilar de ovário	17,7
Mama adjacente	8,2	Carcinoma IIB de mama, medular	32,0
Mama adjacente	0,6	Carcinoma IIA de mama, com ducto infiltrante	3,1
Mama adjacente	0,2	Carcinoma IIA de mama, com ducto infiltrante	3,9
Expressão de IL-23R humano			
Monócitos/PBMC em repouso	10,0		
Linha celular de leucócitos de leucemia SR	415,8		
Linha celular de leucócitos de leucemia K562	396,7		
Linha celular de leucócitos de leucemia MOLT-4	0,0		
Linha celular de leucócitos de leucemia HL60 TB	374,1		

Extraíu-se ARN de tecidos ou sedimentos celulares utilizando colunas RNeasy® (Qiagen, Valencia, CA) e tratou-se com ADNase I (Promega, Madison, WI). Preparou-se ADNc e

utilizou-se como moldes para PCR quantitativo em tempo real. Analisou-se ADNc (25 ng) para expressão de uma gama de genes utilizando o sistema de detecção de sequências GeneAmp® 5700 (Applied Biosystems, Foster City, CA). A análise de amostras de ADNc de tecido de cólon normal e de tumor e de ovário foi normalizada para expressão do gene de expressão basal, ubiquitina.

IV. Os antagonistas p19 evitam ou reduzem tumores.

Os tumores induzidos por células de tumor injectadas ou por carcinogénese química foram erradicados ou reduzidos em ratinhos tratados com antagonistas para IL-23, e.g., por tratamento com anticorpo anti-p19 ou por ablação genética da subunidade p19 (p19K0). p19 é uma subunidade de apenas IL-23, enquanto p40 é uma subunidade de IL-23 e de IL-12. Contrariamente, o tratamento com um IL-12, em algumas condições, exacerbou os tumores, i.e., resultou num aumento do volume de tumor relativamente aos ratinhos de controlo.

Os tumores em ratinhos resultaram em cancro, caquexia de cancro, hematopoiese extramedular e morte. O tratamento de ratinhos Balb/c portadores de tumor com anticorpo anti-p19 resultou numa paragem no aumento do volume de tumor, enquanto o tratamento com anticorpo anti-p40 provocou aumento de peso do animal, provavelmente devido a inversão de caquexia, mas um aumento do volume de tumor (Tabela 2).

Tabela 2. Crescimento tumoral em ratinhos Balb/c inoculados com células de cancro Ep2 (também denominadas células XTb) (células mamárias de ratinho transformadas com ras).

Tratamento com anticorpo	Tamanho do tumor (mm ³)		
	Dia 1	Dia 11	Dia 21
Anticorpo isotipo (8D5)	0 mm ³	225 mm ³	500 mm ³
Anticorpo anti-p19 (29A2)	0	200	250
Anticorpo anti-p40 (C17.8)	0	250	1150

Induziu-se morte por cancro e caquexia de cancro em ratinhos em que a morte e a perda de peso foi evitada por anticorpo anti-p40. Os ratinhos foram injectados com 1×10^6 células de tumor EpXT (s.c.). Os ratinhos nus portadores de tumor (Ep2XB1 nu/nu) morreram de metástase de pulmão letal,

em que as mortes ocorrem nos dias 22-42 após a injeção. Os ratinhos Exp2XB1 Balb/c portadores de tumor morreram cerca de 22-49 dias após a injeção, enquanto os ratinhos BalbC/c morreram na ausência de metástases de pulmão. A caquexia foi indicada pela ocorrência de diminuição do peso corporal (antes da morte). Ocorreu perda de peso progressiva, com início a cerca do dia 16. O peso inicial no dia 1 foi de 22-23 gramas, enquanto o peso à altura da morte foi na gama de 16-18 gramas.

O tratamento com anticorpo foi com anticorpo anti-p40 de rato C 17.8 (1 mg/semana). Com tratamento com anticorpo, os ratinhos Ep2XB1-Balb/C (ratinhos imunocompetentes) sobreviveram até cerca do dia 64, após o qual ocorreram mortes até ao dia 85. O tratamento com anticorpo anti-p40 também resultou numa manutenção do peso corporal (a cerca de 17 gramas) em metade dos ratinhos, com um aumento progressivo do peso corporal dos restantes ratinhos até um máximo, dentro do intervalo de tempo da experiência, de 22-23 gramas. Assim, o anticorpo anti-p40 resultou numa melhoria da saúde, de acordo com o tempo de sobrevivência e recuperação do peso corporal, embora anti-p40 pudesse também resultar numa pioria da saúde, tal como demonstrado por um aumento do tamanho de tumor (Tabela 2).

Induziu-se cancro por tratamento com DMBA (50 microgramas) e 2 x 30 microgramas de tetradecanoílfربول-13-acetato (TPA) por semana (Gschwendt, *et al.* (1991) Trends Biochem Sci. 16:167-169). Os tratamentos de carcinogénese química foram aplicados a ratinhos de tipo selvagem B6/129 e a ratinhos p19K0. Os ratinhos de tipo selvagem desenvolveram tumores rapidamente mas os ratinhos p19K0 não desenvolveram tumores (Tabela 3).

Tabela 3. Ratinhos p19KO resistem a carcinogénese química.

	Iniciação com DMBA (50 microgramas); Promoção com TPA (2 x 30 microgramas/semana durante 13 semanas)		Iniciação com DMBA (50 microgramas); Promoção com TPA (2 x 30 microgramas/semana durante 20 semanas)	
	Primeira ocorrência de tumor (após TPA)	Número de tumores por ratinho	Primeira ocorrência de tumor (após TPA)	Número de tumores por ratinho
Ratinhos de tipo selvagem B2/129	8 semanas	11	8 semanas	8
Ratinhos p19KO	Nenhum encontrado no intervalo de tempo analisado	0	Nenhum encontrado no intervalo de tempo analisado	0

Estudos independentes demonstraram que p19KO evitou a formação de tumor, enquanto p35KO exacerbou a formação de tumor (Tabela 4).

Tabela 4. Influência de p19KO relativamente a p35KO em carcinogénese química.

	Número médio de tumores por rato
C57/129 de tipo selvagem	10,0
P19KO (C57/129)	0,0
C57B/6 de tipo selvagem	4,5
P35KO (C57/129)	11,0

Determinou-se a expressão em tecidos e células das subunidades de IL-23 e das subunidades de IL-12, após tratamento com carcinogénico. DMBA sozinho, TPA sozinho e DMBA com TPA induziram expressão da subunidade p19 de IL-23 quando estes produtos químicos foram aplicados nas costas dos ratinhos. Por exemplo, dois dias após tratamento com DMBA ocorreu um aumento da expressão de p19 de 1,5 (não tratados) a 6,3 (a t = 2 dias). A expressão de p40 aumentou, mas foi relativamente baixa neste intervalo de tempo (0,1 não tratado; 0,4 a t = 2 dias). Cinco horas após tratamento com TPA ocorreu um aumento da expressão de p19 (2,5 controlo; 15,5 com tratamento com TPA), mas uma alteração relativamente pequena da expressão de p40 (2,0 controlo; 3,5 com tratamento com

TPA). Cinco horas após tratamento com DMBA juntamente com TPA ocorreram grandes aumentos da expressão de p19 (6,0 controlo; 32,0 DMBA + TPA), mas níveis moderados de expressão de p40 (2,0 controlo; 4,0 DMBA + TPA).

Determinou-se também a resposta de queratinócitos humanos a, e.g. DMBA, TPA e lipopolissacárido (LPS) (Tabela 5). TPA induziu especificamente p19, com pequena ou nenhuma indução de p40, a subunidade comum de IL-23 e IL-12. LPS induziu p19, indicando um papel de IL-23 na resposta inata. Receptores do tipo Toll que ligam LPS ocorrem em queratinócitos (consultar, e.g., Song, et al. (2002) J. Invest. Dermatol. 119:424-432). O etoposido é um agente anticanceroso que inibe topoisomerase II e induz apoptose (consultar, e.g., Robertson, et al. (2000) J. Biol. Chem. 275:32438-32443; Karpinich, et al. (2000) J. Biol. Chem. 277:16547-16552).

Tabela 5. Resposta de queratinócitos humanos a vários aditivos. N.D. significa não detectado.

Aditivo	p19	p40	p35	Subunidade EBI3 de IL-27 (p28+EBI3)
Controlo	1,1	N.D.	0,4	0,01
DMBA	1,0	N.D.	N.D.	N.D.
TPA	1,9	N.D.	0,2	1,25
LPS	4,45	0,05	0,35	0,25
Etoposido	2,5	0,4	1,75	0,6

Ensaaiaram-se anticorpos anti-p19 para o seu efeito no modelo celular de cancro de mama de ratinho 4T1. Os ratinhos foram tratados com anticorpo mIgG 1 (27F11) de controlo ou com anticorpo anti-p19 (29A2). Monitorizou-se o crescimento tumoral nos dias 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11. Os anticorpos (1 mg/dose) foram administrados nos dias 2, 5, 8 e 10. No dia 4, o tamanho do tumor do ratinho tratado com anticorpo de controlo era de cerca de 175 mm³, enquanto o tamanho de tumor do ratinho tratado com anticorpo anti-p19 era de cerca de 135 mm³. Assim, o anticorpo anti-p19 é eficaz no tratamento de um modelo de cancro da mama. Após o dia 4, os tumores em ambos os grupos cresceram aproximadamente à mesma

velocidade, indicando que a dose de anticorpo não foi suficiente para contrariar o IL-23 expresso pelo tumor nos períodos de tempo mais tardios.

A histologia do modelo de cancro de mama de ratinho Ep2 demonstrou co-localização de IL-23R e células NK, tal como determinado por coloração para p19, que permanece ligado a IL-23R, e por coloração para CD49B, um marcador para células NK. Esta co-localização ocorreu na parte central do tumor, *i.e.* na região necrótica. A histologia do cancro de mama de ratinho Ep2 também demonstrou co-localização de p19 e células T. A localização de células T foi determinada por coloração para CD3. Esta co-localização ocorreu na parte periférica do tumor.

V. Listagem de identificadores de sequência

SEQ ID NO:1 é a sequência de ácido nucleico de IL-23p19 humano.

SEQ ID NO:2 é a sequência de aminoácidos de IL-23p19 humano.

SEQ ID NO:3 é a sequência de ácido nucleico de IL-23p19 de ratinho.

SEQ ID NO:4 é a sequência de aminoácidos de IL-23p19 de ratinho.

SEQ ID NO:5 é a sequência de ácido nucleico de receptor de IL-23 humano.

SEQ ID NO:6 é a sequência de aminoácidos de receptor de IL-23 humano.

SEQ ID NO:7 é a sequência de aminoácidos de IL*12Rbeta1 humano.

SEQ ID NO:8 é a sequência de aminoácidos de p40 de IL-12 humano.

SEQ ID NO:9 é a sequência de aminoácidos de p40 de IL-12 de ratinho.

SEQ ID NO:10 é hiperquina IL-23 de ratinho

SEQ ID NO:11 é hiperquina IL-23 humana.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

<110> Schering Corporation
 Martin Oft,
 Terrill K McClanahan,
 <120> UTILIZAÇÕES DE AGONISTAS IL-23 E ANTAGONISTAS; REAGENTES
 RELACIONADOS
 <130> DX06022WO01
 <150> U.S. 60/453,672
 <151> 2003-03-10
 <160> 11
 <170> PatentIn version 3.1
 <210> 1
 <211> 570
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(567)
 <223>
 <220>
 <221> mat_peptide
 <222> (64)..(567)
 <223>
 <400> 1
 atg ctg ggg agc aga gct gta atg ctg ctg ttg ctg ctg ccc tgg aca 48
 Met Leu Gly Ser Arg Ala Val Met Leu Leu Leu Leu Leu Pro Trp Thr
 -20 -15 -10
 gct cag ggc aga gct gtg cct ggg ggc agc agc cct gcc tgg act cag 96
 Ala Gln Gly Arg Ala Val Pro Gly Gly Ser Ser Pro Ala Trp Thr Gln
 -5 -1 1 5 10
 tgc cag cag ctt tca cag aag ctc tgc aca ctg gcc tgg agt gca cat 144
 Cys Gln Gln Leu Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp Ser Ala His
 15 20 25
 cca cta gtg gga cac atg gat cta aga gaa gag gga gat gaa gag act 192
 Pro Leu Val Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr
 30 35 40
 aca aat gat gtt ccc cat atc cag tgt gga gat ggc tgt gac ccc caa 240
 Thr Asn Asp Val Pro His Ile Gln Cys Gly Asp Gly Cys Asp Pro Gln
 45 50 55
 gga ctc agg gac aac agt cag ttc tgc ttg caa agg atc cac cag ggt 288
 Gly Leu Arg Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile His Gln Gly
 60 65 70 75
 ctg att ttt tat gag aag ctg cta gga tgc gat att ttc aca ggg gag 336
 Leu Ile Phe Tyr Glu Lys Leu Leu Gly Ser Asp Ile Phe Thr Gly Glu
 80 85 90
 cct tct ctg ctc cct gat agc cct gtg gcg cag ctt cat gcc tcc cta 384
 Pro Ser Leu Leu Pro Asp Ser Pro Val Ala Gln Leu His Ala Ser Leu

95	100	105	
ctg ggc ctc agc caa ctc ctg cag cct gag ggt cac cac tgg gag act			432
Leu Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Gly His His Trp Glu Thr			
110	115	120	
cag cag att cca agc ctc agt ccc agc cag cca tgg cag cgt ctc ctt			480
Gln Gln Ile Pro Ser Leu Ser Pro Ser Gln Pro Trp Gln Arg Leu Leu			
125	130	135	
ctc cgc ttc aaa atc ctt cgc agc ctc cag gcc ttt gtg gct gta gcc			528
Leu Arg Phe Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val Ala			
140	145	150	155
gcc cgg gtc ttt gcc cat gga gca gca acc ctg agt gcc taa			570
Ala Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro			
160	165		

<210> 2

<211> 189

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 2

Met Leu Gly Ser Arg Ala Val Met Leu Leu Leu Leu Leu Pro Trp Thr
-20 -15 -10

Ala Gln Gly Arg Ala Val Pro Gly Gly Ser Ser Pro Ala Trp Thr Gln
-5 -1 1 5 10

Cys Gln Gln Leu Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp Ser Ala His
15 20 25

Pro Leu Val Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr
30 35 40

Thr Asn Asp Val Pro His Ile Gln Cys Gly Asp Gly Cys Asp Pro Gln
45 50 55

Gly Leu Arg Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile His Gln Gly
60 65 70 75

Leu Ile Phe Tyr Glu Lys Leu Leu Gly Ser Asp Ile Phe Thr Gly Glu
80 85 90

Pro Ser Leu Leu Pro Asp Ser Pro Val Ala Gln Leu His Ala Ser Leu
95 100 105

Leu Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Gly His His Trp Glu Thr
110 115 120

Gln Gln Ile Pro Ser Leu Ser Pro Ser Gln Pro Trp Gln Arg Leu Leu
125 130 135

Leu Arg Phe Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val Ala
 140 145 150 155

Ala Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro
 160 165

<210> 3
 <211> 1203
 <212> ADN
 <213> *Mus musculus*

<220>
 <221> CDS
 <222> (113)..(700)
 <223>

<220>
 <221> mat_peptide
 <222> (176)..(700)
 <223>

<400> 3
 cgcttagaag tcggactaca gagtttagact cagaacccaaa ggaggtggat aggggggtcca 60
 caggcctggt gcagatcaca gagccagcca gatctgagaa gcaggggaaca ag atg ctg 118
 Met Leu
 -20
 gat tgc aga gca gta ata atg cta tgg ctg ttg ccc tgg gtc act cag 166
 Asp Cys Arg Ala Val Ile Met Leu Trp Leu Leu Pro Trp Val Thr Gln
 -15 -10 -5
 ggc ctg gct gtg cct agg agt agc agt cct gac tgg gct cag tgc cag 214
 Gly Leu Ala Val Pro Arg Ser Ser Ser Pro Asp Trp Ala Gln Cys Gln
 -1 1 5 10
 cag ctc tct cgg aat ctc tgc atg cta gcc tgg aac gca cat gca cca 262
 Gln Leu Ser Arg Asn Leu Cys Met Leu Ala Trp Asn Ala His Ala Pro
 15 20 25
 gcg gga cat atg aat cta cta aga gaa gaa gag gat gaa gag act aaa 310
 Ala Gly His Met Asn Leu Leu Arg Glu Glu Glu Asp Glu Glu Thr Lys
 30 35 40 45
 aat aat gtg ccc cgt atc cag tgt gaa gat ggt tgt gac cca caa gga 358
 Asn Asn Val Pro Arg Ile Gln Cys Glu Asp Gly Cys Asp Pro Gln Gly
 50 55 60
 ctc aag gac aac agc cag ttc tgc ttg caa agg atc cgc caa ggt ctg 406
 Leu Lys Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile Arg Gln Gly Leu
 65 70 75
 gct ttt tat aag cac ctg ctt gac tct gac atc ttc aaa ggg gag cct 454
 Ala Phe Tyr Lys His Leu Leu Asp Ser Asp Ile Phe Lys Gly Glu Pro
 80 85 90
 gct cta ctc cct gat agc ccc atg gag caa ctt cac acc tcc cta cta 502
 Ala Leu Leu Pro Asp Ser Pro Met Glu Gln Leu His Thr Ser Leu Leu
 95 100 105

```

gga ctc agc caa ctc ctc cag cca gag gat cac ccc cgg gag acc caa      550
Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Asp His Pro Arg Glu Thr Gln
110                      115                      120                      125

cag atg ccc agc ctg agt tct agt cag cag tgg cag cgc ccc ctt ctc      598
Gln Met Pro Ser Leu Ser Ser Ser Gln Gln Trp Gln Arg Pro Leu Leu
                      130                      135                      140

cgt tcc aag atc ctt cga agc ctc cag gcc ttt ttg gcc ata gct gcc      646
Arg Ser Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Leu Ala Ile Ala Ala
                      145                      150                      155

cgg gtc ttt gcc cac gga gca gca act ctg act gag ccc tta gtg cca      694
Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Thr Glu Pro Leu Val Pro
                      160                      165                      170

aca gct taaggatgcc cagggtccca tggtaccat gataagacta atctatcagc      750
Thr Ala
175

ccagacatct accagttaat taaccatta ggacttggtc tgttcttggt tcgtttgttt      810

tgcgtagaagg gcaaggacac cattattaaa gagaaaagaa acaaacccca gagcaggcag      870

ctggctagag aaaggagctg gagaagaaga ataaagtctc gagcccttgg ccttggaagc      930

gggcaagcag ctgctgggcc tgaggggaag ggggcggtgg catcgagaaa ctgtgagaaa      990

accagagca tcagaaaaag tgagcccagg ctttggccat tatctgtaag aaaaacaaga      1050

aaaggggaac attatacttt cctgggtggc tcagggaaat gtgcagatgc acagtactcc      1110

agacagcagc tctgtacctg cctgctctgt ccctcagttc taacagaatc tagtcactaa      1170

gaactaacag gactaccaat acgaactgac aaa                                1203

```

<210> 4
 <211> 196
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 <400> 4

```

Met Leu Asp Cys Arg Ala Val Ile Met Leu Trp Leu Leu Pro Trp Val
-20                      -15                      -10

```

```

Thr Gln Gly Leu Ala Val Pro Arg Ser Ser Ser Pro Asp Trp Ala Gln
-5                      -1 1                      5                      10

```

```

Cys Gln Gln Leu Ser Arg Asn Leu Cys Met Leu Ala Trp Asn Ala His
15                      20                      25

```

```

Ala Pro Ala Gly His Met Asn Leu Leu Arg Glu Glu Glu Asp Glu Glu
30                      35                      40

```

```

Thr Lys Asn Asn Val Pro Arg Ile Gln Cys Glu Asp Gly Cys Asp Pro
45                      50                      55

```

```

Gln Gly Leu Lys Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile Arg Gln

```



```

60              65              70              75

Gly Leu Ala Phe Tyr Lys His Leu Leu Asp Ser Asp Ile Phe Lys Gly
              80              85              90

Glu Pro Ala Leu Leu Pro Asp Ser Pro Met Glu Gln Leu His Thr Ser
              95              100              105

Leu Leu Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Asp His Pro Arg Glu
              110              115              120

Thr Gln Gln Met Pro Ser Leu Ser Ser Ser Gln Gln Trp Gln Arg Pro
              125              130              135

Leu Leu Arg Ser Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Leu Ala Ile
              140              145              150              155

Ala Ala Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Thr Glu Pro Leu
              160              165              170

Val Pro Thr Ala
              175

```

```

<210> 5
<211> 2859
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (119)..(2005)
<223>

<220>
<221> mat_peptide
<222> (188)..(2005)
<223>

```

```

<400> 5
gtggtacggg aattccattg tgttgggcag ccaacaaggg tggcagcctg gctctgaagt      60
ggaattatgt gcttcaaaca gggtgaaaga gggaaacagt cttttcctgc ttccagac      118
atg aat cak gtc act att caa tgg gat gca gta ata gcc ctt tac ata      166
Met Asn Xaa Val Thr Ile Gln Trp Asp Ala Val Ile Ala Leu Tyr Ile
              -20              -15              -10

ctc ttc agc tgg tgt cat gga gga att aca aat ata aac tgc tct ggc      214
Leu Phe Ser Trp Cys His Gly Gly Ile Thr Asn Ile Asn Cys Ser Gly
              -5              -1 1              5

cac atc tgg gta gaa cca gcc aca att ttt aag atg ggt atg aat atc      262
His Ile Trp Val Glu Pro Ala Thr Ile Phe Lys Met Gly Met Asn Ile
              10              15              20              25

```

tct ata tat tgc caa gca gca att aag aac tgc caa cca agg aaa ctt Ser Ile Tyr Cys Gln Ala Ala Ile Lys Asn Cys Gln Pro Arg Lys Leu 30 35 40	310
cat ttt tat aaa aat ggc atc aaa gaa aga ttt caa atc aca agg att His Phe Tyr Lys Asn Gly Ile Lys Glu Arg Phe Gln Ile Thr Arg Ile 45 50 55	358
aat aaa aca aca gct cgg ctt tgg tat aaa aac ttt ctg gaa cca cat Asn Lys Thr Thr Ala Arg Leu Trp Tyr Lys Asn Phe Leu Glu Pro His 60 65 70	406
gct tct atg tac tgc act gct gaa tgt ccc aaa cat ttt caa gag aca Ala Ser Met Tyr Cys Thr Ala Glu Cys Pro Lys His Phe Gln Glu Thr 75 80 85	454
ctg ata tgt gga aaa gac att tct tct gga tat ccg cca gat att cct Leu Ile Cys Gly Lys Asp Ile Ser Ser Gly Tyr Pro Pro Asp Ile Pro 90 95 100 105	502
gat gaa gta acc tgt gtc att tat gaa tat tca ggc aac atg act tgc Asp Glu Val Thr Cys Val Ile Tyr Glu Tyr Ser Gly Asn Met Thr Cys 110 115 120	550
acc tgg aat gct rgg aag ctc acc tac ata gac aca aaa tac gtg gta Thr Trp Asn Ala Xaa Lys Leu Thr Tyr Ile Asp Thr Lys Tyr Val Val 125 130 135	598
cat gtg aag agt tta gag aca gaa gaa gag caa cag tat ctc acc tca His Val Lys Ser Leu Glu Thr Glu Glu Glu Gln Gln Tyr Leu Thr Ser 140 145 150	646
agc tat att aac atc tcc act gat tca tta caa ggt ggc aag aag tac Ser Tyr Ile Asn Ile Ser Thr Asp Ser Leu Gln Gly Gly Lys Lys Tyr 155 160 165	694
ttg gtt tgg gtc caa gca gca aac gca cta ggc atg gaa gag tca aaa Leu Val Trp Val Gln Ala Ala Asn Ala Leu Gly Met Glu Glu Ser Lys 170 175 180 185	742
caa ctg caa att cac ctg gat gat ata gtg ata cct tct gca gcc gtc Gln Leu Gln Ile His Leu Asp Asp Ile Val Ile Pro Ser Ala Ala Val 190 195 200	790
att tcc agg gct gag act ata aat gct aca gtg ccc aag acc ata att Ile Ser Arg Ala Glu Thr Ile Asn Ala Thr Val Pro Lys Thr Ile Ile 205 210 215	838
tat tgg gat agt caa aca aca att gaa aag gtt tcc tgt gaa atg aga Tyr Trp Asp Ser Gln Thr Thr Ile Glu Lys Val Ser Cys Glu Met Arg 220 225 230	886
tac aag gct aca aca aac caa act tgg aat gtt aaa gaa ttt gac acc Tyr Lys Ala Thr Thr Asn Gln Thr Trp Asn Val Lys Glu Phe Asp Thr 235 240 245	934
aat ttt aca tat gtg caa cag tca gaa ttc tac ttg gag cca aac att Asn Phe Thr Tyr Val Gln Gln Ser Glu Phe Tyr Leu Glu Pro Asn Ile 250 255 260 265	982
aag tac gta ttt caa gtg aga tgt caa gaa aca ggc aaa agg tac tgg Lys Tyr Val Phe Gln Val Arg Cys Gln Glu Thr Gly Lys Arg Tyr Trp 270 275 280	1030
cag cct tgg agt tca ccg ttt ttt cat aaa aca cct gaa aca gtt ccc	1078

Gln	Pro	Trp	Ser	Ser	Pro	Phe	Phe	His	Lys	Thr	Pro	Glu	Thr	Val	Pro	
			285					290					295			
cag	gtc	aca	tca	aaa	gca	ttc	caa	cat	gac	aca	tgg	aat	tct	ggg	cta	1126
Gln	Val	Thr	Ser	Lys	Ala	Phe	Gln	His	Asp	Thr	Trp	Asn	Ser	Gly	Leu	
		300					305					310				
aca	gtt	gct	tcc	atc	tct	aca	ggg	cac	ctt	act	tct	gac	aac	aga	gga	1174
Thr	Val	Ala	Ser	Ile	Ser	Thr	Gly	His	Leu	Thr	Ser	Asp	Asn	Arg	Gly	
		315				320					325					
gac	att	gga	ctt	tta	ttg	gga	atg	atc	gtc	ttt	gct	gtt	atg	ttg	tca	1222
Asp	Ile	Gly	Leu	Leu	Leu	Gly	Met	Ile	Val	Phe	Ala	Val	Met	Leu	Ser	
330					335				340					345		
att	ctt	tct	ttg	att	ggg	ata	ttt	aac	aga	tca	ttc	cga	act	ggg	att	1270
Ile	Leu	Ser	Leu	Ile	Gly	Ile	Phe	Asn	Arg	Ser	Phe	Arg	Thr	Gly	Ile	
			350					355						360		
aaa	aga	agg	atc	tta	ttg	tta	ata	cca	aag	tgg	ctt	tat	gaa	gat	att	1318
Lys	Arg	Arg		Leu	Leu	Leu	Ile	Pro	Lys	Trp	Leu	Tyr	Glu	Asp	Ile	
		365						370					375			
cct	aat	atg	aaa	aac	agc	aat	gtt	gtg	aaa	atg	cta	cag	gaa	aat	agt	1366
Pro	Asn	Met	Lys	Asn	Ser	Asn	Val	Val	Lys	Met	Leu	Gln	Glu	Asn	Ser	
		380				385						390				
gaa	ctt	atg	aat	aat	aat	tcc	agt	gag	cag	gtc	cta	tat	gtt	gat	ccc	1414
Glu	Leu	Met	Asn	Asn	Asn	Ser	Ser	Glu	Gln	Val	Leu	Tyr	Val	Asp	Pro	
		395				400					405					
atg	att	aca	gag	ata	aaa	gaa	atc	ttc	atc	cca	gaa	cac	aag	cct	aca	1462
Met	Ile	Thr	Glu	Ile	Lys	Glu	Ile	Phe	Ile	Pro	Glu	His	Lys	Pro	Thr	
410					415				420					425		
gac	tac	aag	aag	gag	aat	aca	gga	ccc	ctg	gag	aca	aga	gac	tac	ccg	1510
Asp	Tyr	Lys	Lys	Glu	Asn	Thr	Gly	Pro	Leu	Glu	Thr	Arg	Asp	Tyr	Pro	
			430					435					440			
caa	aac	tcg	cta	ttc	gac	aat	act	aca	gtt	gta	tat	att	cct	gat	ctc	1558
Gln	Asn	Ser	Leu	Phe	Asp	Asn	Thr	Thr	Val	Val	Tyr	Ile	Pro	Asp	Leu	
		445						450					455			
aac	act	gga	tat	aaa	ccc	caa	att	tca	aat	ttt	ctg	cct	gag	gga	agc	1606
Asn	Thr	Gly	Tyr	Lys	Pro	Gln	Ile	Ser	Asn	Phe	Leu	Pro	Glu	Gly	Ser	
		460				465					470					
cat	ctc	agc	aat	aat	aat	gaa	att	act	tcc	tta	aca	ctt	aaa	cca	cca	1654
His	Leu	Ser	Asn	Asn	Asn	Glu	Ile	Thr	Ser	Leu	Thr	Leu	Lys	Pro	Pro	
		475				480					485					
gtt	gat	tcc	tta	gac	tca	gga	aat	aat	ccc	agg	tta	caa	aag	cat	cct	1702
Val	Asp	Ser	Leu	Asp	Ser	Gly	Asn	Asn	Pro	Arg	Leu	Gln	Lys	His	Pro	
490					495				500					505		
aat	ttt	gct	ttt	tct	gtt	tca	agt	gtg	aat	tca	cta	agc	aac	aca	ata	1750
Asn	Phe	Ala	Phe	Ser	Val	Ser	Ser	Val	Asn	Ser	Leu	Ser	Asn	Thr	Ile	
			510					515						520		
ttt	ctt	gga	gaa	tta	agc	ctc	ata	tta	aat	caa	gga	gaa	tgc	agt	tct	1798
Phe	Leu	Gly	Glu	Leu	Ser	Leu	Ile	Leu	Asn	Gln	Gly	Glu	Cys	Ser	Ser	
		525						530					535			
cct	gac	ata	caa	aac	tca	gta	gag	gag	gaa	acc	acc	atg	ctt	ttg	gaa	1846
Pro	Asp	Ile	Gln	Asn	Ser	Val	Glu	Glu	Glu	Thr	Thr	Met	Leu	Leu	Glu	

540	545	550	
aat gat tca ccc agt gaa act att cca gaa cag acc ctg ctt cct gat			1894
Asn Asp Ser Pro Ser Glu Thr Ile Pro Glu Gln Thr Leu Leu Pro Asp			
555	560	565	
gaa ttt gtc tcc tgt ttg ggg atc gtg aat gag gag ttg cca tct att			1942
Glu Phe Val Ser Cys Leu Gly Ile Val Asn Glu Glu Leu Pro Ser Ile			
570	575	580	585
aat act tat ttt cca caa aat att ttg gaa agc cac ttc aat agg att			1990
Asn Thr Tyr Phe Pro Gln Asn Ile Leu Glu Ser His Phe Asn Arg Ile			
590	595	600	
tca ctc ttg gaa aag tagagctgtg tgggtcaaaat caatatgaga aagctgcctt			2045
Ser Leu Leu Glu Lys			
605			
gcaatctgaa cttgggtttt coctgcaata gaaattgaat tctgcctctt ttgaaaaaa			2105
atgtattcac atacaaatct tcacatggac acatgttttc atttccttg gataaatacc			2165
taggtagggg attgctgggc catatgataa gcatatgttt cagttctacc aatcttggtt			2225
ccagagtagt gacatttctg tgctcctacc atccatgtt aagaattccc gggagctcca			2285
tgcccttttta attttagcca ttcttctgcc tmatttctta aaattagaga attaagggtcc			2345
cgaagggtga acatgcttca tgggtcacaca tacaggcaca aaaacagcat tatgtggacg			2405
cctcatgtat tttttataga gtcaactatt tcctctttat ttccctcat tgaaagatgc			2465
aaaacagctc tctattgtgt acagaaaggg taaataatgc aaaatacctg gtagtaaaat			2525
aaatgtcgaa aattttcctt taaaatagaa tcattaggcc aggcgtggtg gctcatgctt			2585
gtaatcccag cactttggta ggctgaggtr ggtggatcac ctgaggtcag gagttcgagt			2645
ccagcctggc caatatgctg aaaccctgtc totactaaaa ttacaaaaat tagccggcca			2705
tgggtggcagg tgcttgtaat ccagctact tgggaggctg aggcaggaga atcacttgaa			2765
ccaggaaggc agagggtgca ctgagctgag attgtgccac tgcactccag cctgggcaac			2825
aagagcaaaa ctctgtctgg aaaaaaaaaa aaaa			2859

<210> 6

<211> 629

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> misc_feature

<222> (-21)..(-21)

<223> O 'Xaa' na localização -21 representa Gln, ou His.

<220>

<221> misc_feature

<222> (126)..(126)

<223> O 'Xaa' na localização 126 representa Gly, ou Arg.

<400> 6

Met Asn Xaa Val Thr Ile Gln Trp Asp Ala Val Ile Ala Leu Tyr Ile

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

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

Asn Phe Ala Phe Ser Val Ser Ser Val Asn Ser Leu Ser Asn Thr Ile
 510 515 520

 Phe Leu Gly Glu Leu Ser Leu Ile Leu Asn Gln Gly Glu Cys Ser Ser
 525 530 535

 Pro Asp Ile Gln Asn Ser Val Glu Glu Thr Thr Met Leu Leu Glu
 540 545 550

 Asn Asp Ser Pro Ser Glu Thr Ile Pro Glu Gln Thr Leu Leu Pro Asp
 555 560 565

 Glu Phe Val Ser Cys Leu Gly Ile Val Asn Glu Glu Leu Pro Ser Ile
 570 575 580 585

 Asn Thr Tyr Phe Pro Gln Asn Ile Leu Glu Ser His Phe Asn Arg Ile
 590 595 600

 Ser Leu Leu Glu Lys
 605

<210> 7
 <211> 862
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 7

Met Ala His Thr Phe Arg Gly Cys Ser Leu Ala Phe Met Phe Ile Ile
 1 5 10 15

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

 Val Thr Val Lys Pro Ser His Val Ile Leu Leu Gly Ser Thr Val Asn
 35 40 45

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

 Arg Asn Lys Leu Ile Leu Tyr Lys Phe Asp Arg Arg Ile Asn Phe His
 65 70 75 80

 His Gly His Ser Leu Asn Ser Gln Val Thr Gly Leu Pro Leu Gly Thr
 85 90 95

 Thr Leu Phe Val Cys Lys Leu Ala Cys Ile Asn Ser Asp Glu Ile Gln
 100 105 110

 Ile Cys Gly Ala Glu Ile Phe Val Gly Val Ala Pro Glu Gln Pro Gln

115	120	125
Asn Leu Ser Cys Ile Gln Lys Gly Glu Gln Gly Thr Val Ala Cys Thr 130 135 140		
Trp Glu Arg Gly Arg Asp Thr His Leu Tyr Thr Glu Tyr Thr Leu Gln 145 150 155 160		
Leu Ser Gly Pro Lys Asn Leu Thr Trp Gln Lys Gln Cys Lys Asp Ile 165 170 175		
Tyr Cys Asp Tyr Leu Asp Phe Gly Ile Asn Leu Thr Pro Glu Ser Pro 180 185 190		
Glu Ser Asn Phe Thr Ala Lys Val Thr Ala Val Asn Ser Leu Gly Ser 195 200 205		
Ser Ser Ser Leu Pro Ser Thr Phe Thr Phe Leu Asp Ile Val Arg Pro 210 215 220		
Leu Pro Pro Trp Asp Ile Arg Ile Lys Phe Gln Lys Ala Ser Val Ser 225 230 235 240		
Arg Cys Thr Leu Tyr Trp Arg Asp Glu Gly Leu Val Leu Leu Asn Arg 245 250 255		
Leu Arg Tyr Arg Pro Ser Asn Ser Arg Leu Trp Asn Met Val Asn Val 260 265 270		
Thr Lys Ala Lys Gly Arg His Asp Leu Leu Asp Leu Lys Pro Phe Thr 275 280 285		
Glu Tyr Glu Phe Gln Ile Ser Ser Lys Leu His Leu Tyr Lys Gly Ser 290 295 300		
Trp Ser Asp Trp Ser Glu Ser Leu Arg Ala Gln Thr Pro Glu Glu Glu 305 310 315 320		
Pro Thr Gly Met Leu Asp Val Trp Tyr Met Lys Arg His Ile Asp Tyr 325 330 335		
Ser Arg Gln Gln Ile Ser Leu Phe Trp Lys Asn Leu Ser Val Ser Glu 340 345 350		
Ala Arg Gly Lys Ile Leu His Tyr Gln Val Thr Leu Gln Glu Leu Thr 355 360 365		
Gly Gly Lys Ala Met Thr Gln Asn Ile Thr Gly His Thr Ser Trp Thr 370 375 380		

Thr Val Ile Pro Arg Thr Gly Asn Trp Ala Val Ala Val Ser Ala Ala
 385 390 395 400

Asn Ser Lys Gly Ser Ser Leu Pro Thr Arg Ile Asn Ile Met Asn Leu
 405 410 415

Cys Glu Ala Gly Leu Leu Ala Pro Arg Gln Val Ser Ala Asn Ser Glu
 420 425 430

Gly Met Asp Asn Ile Leu Val Thr Trp Gln Pro Pro Arg Lys Asp Pro
 435 440 445

Ser Ala Val Gln Glu Tyr Val Val Glu Trp Arg Glu Leu His Pro Gly
 450 455 460

Gly Asp Thr Gln Val Pro Leu Asn Trp Leu Arg Ser Arg Pro Tyr Asn
 465 470 475 480

Val Ser Ala Leu Ile Ser Glu Asn Ile Lys Ser Tyr Ile Cys Tyr Glu
 485 490 495

Ile Arg Val Tyr Ala Leu Ser Gly Asp Gln Gly Gly Cys Ser Ser Ile
 500 505 510

Leu Gly Asn Ser Lys His Lys Ala Pro Leu Ser Gly Pro His Ile Asn
 515 520 525

Ala Ile Thr Glu Glu Lys Gly Ser Ile Leu Ile Ser Trp Asn Ser Ile
 530 535 540

Pro Val Gln Glu Gln Met Gly Cys Leu Leu His Tyr Arg Ile Tyr Trp
 545 550 555 560

Lys Glu Arg Asp Ser Asn Ser Gln Pro Gln Leu Cys Glu Ile Pro Tyr
 565 570 575

Arg Val Ser Gln Asn Ser His Pro Ile Asn Ser Leu Gln Pro Arg Val
 580 585 590

Thr Tyr Val Leu Trp Met Thr Ala Leu Thr Ala Ala Gly Glu Ser Ser
 595 600 605

His Gly Asn Glu Arg Glu Phe Cys Leu Gln Gly Lys Ala Asn Trp Met
 610 615 620

Ala Phe Val Ala Pro Ser Ile Cys Ile Ala Ile Ile Met Val Gly Ile
 625 630 635 640

Phe Ser Thr His Tyr Phe Gln Gln Lys Val Phe Val Leu Leu Ala Ala
 645 650 655
 Leu Arg Pro Gln Trp Cys Ser Arg Glu Ile Pro Asp Pro Ala Asn Ser
 660 665 670
 Thr Cys Ala Lys Lys Tyr Pro Ile Ala Glu Glu Lys Thr Gln Leu Pro
 675 680 685
 Leu Asp Arg Leu Leu Ile Asp Trp Pro Thr Pro Glu Asp Pro Glu Pro
 690 695 700
 Leu Val Ile Ser Glu Val Leu His Gln Val Thr Pro Val Phe Arg His
 705 710 715 720
 Pro Pro Cys Ser Asn Trp Pro Gln Arg Glu Lys Gly Ile Gln Gly His
 725 730 735
 Gln Ala Ser Glu Lys Asp Met Met His Ser Ala Ser Ser Pro Pro Pro
 740 745 750
 Pro Arg Ala Leu Gln Ala Glu Ser Arg Gln Leu Val Asp Leu Tyr Lys
 755 760 765
 Val Leu Glu Ser Arg Gly Ser Asp Pro Lys Pro Glu Asn Pro Ala Cys
 770 775 780
 Pro Trp Thr Val Leu Pro Ala Gly Asp Leu Pro Thr His Asp Gly Tyr
 785 790 795 800
 Leu Pro Ser Asn Ile Asp Asp Leu Pro Ser His Glu Ala Pro Leu Ala
 805 810 815
 Asp Ser Leu Glu Glu Leu Glu Pro Gln His Ile Ser Leu Ser Val Phe
 820 825 830
 Pro Ser Ser Ser Leu His Pro Leu Thr Phe Ser Cys Gly Asp Lys Leu
 835 840 845
 Thr Leu Asp Gln Leu Lys Met Arg Cys Asp Ser Leu Met Leu
 850 855 860
 <210> 8
 <211> 328
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 8
 Met Cys His Gln Gln Leu Val Ile Ser Trp Phe Ser Leu Val Phe Leu

1	5	10	15
Ala Ser Pro Leu Val Ala Ile Trp Glu Leu Lys Lys Asp Val Tyr Val	20	25	30
Val Glu Leu Asp Trp Tyr Pro Asp Ala Pro Gly Glu Met Val Val Leu	35	40	45
Thr Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Gly Ile Thr Trp Thr Leu Asp Gln	50	55	60
Ser Ser Glu Val Leu Gly Ser Gly Lys Thr Leu Thr Ile Gln Val Lys	65	70	75
Glu Phe Gly Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly Glu Val	85	90	95
Leu Ser His Ser Leu Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp	100	105	110
Ser Thr Asp Ile Leu Lys Asp Gln Lys Glu Pro Lys Asn Lys Thr Phe	115	120	125
Leu Arg Cys Glu Ala Lys Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr Cys Trp Trp	130	135	140
Leu Thr Thr Ile Ser Thr Asp Leu Thr Phe Ser Val Lys Ser Ser Arg	145	150	155
Gly Ser Ser Asp Pro Gln Gly Val Thr Cys Gly Ala Ala Thr Leu Ser	165	170	175
Ala Glu Arg Val Arg Gly Asp Asn Lys Glu Tyr Glu Tyr Ser Val Glu	180	185	190
Cys Gln Glu Asp Ser Ala Cys Pro Ala Ala Glu Glu Ser Leu Pro Ile	195	200	205
Glu Val Met Val Asp Ala Val His Lys Leu Lys Tyr Glu Asn Tyr Thr	210	215	220
Ser Ser Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp Pro Pro Lys Asn	225	230	235
Leu Gln Leu Lys Pro Leu Lys Asn Ser Arg Gln Val Glu Val Ser Trp	245	250	255
Glu Tyr Pro Asp Thr Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe Ser Leu Thr	260	265	270

Phe Cys Val Gln Val Gln Gly Lys Ser Lys Arg Glu Lys Lys Asp Arg
 275 280 285

Val Phe Thr Asp Lys Thr Ser Ala Thr Val Ile Cys Arg Lys Asn Ala
 290 295 300

Ser Ile Ser Val Arg Ala Gln Asp Arg Tyr Tyr Ser Ser Ser Trp Ser
 305 310 315 320

Glu Trp Ala Ser Val Pro Cys Ser
 325

<210> 9

<211> 335

<212> PRT

<213> *Mus musculus*

<400> 9

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

Val Ser Pro Leu Met Ala Met Trp Glu Leu Glu Lys Asp Val Tyr Val
 20 25 30

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

Thr Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Asp Ile Thr Trp Thr Ser Asp Gln
 50 55 60

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

Glu Phe Leu Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly Glu Thr
 85 90 95

Leu Ser His Ser His Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asn Gly Ile Trp
 100 105 110

Ser Thr Glu Ile Leu Lys Asn Phe Lys Asn Lys Thr Phe Leu Lys Cys
 115 120 125

Glu Ala Pro Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr Cys Ser Trp Leu Val Gln
 130 135 140

Arg Asn Met Asp Leu Lys Phe Asn Ile Lys Ser Ser Ser Ser Ser Pro
 145 150 155 160

Asp Ser Arg Ala Val Thr Cys Gly Met Ala Ser Leu Ser Ala Glu Lys
165 170 175

Val Thr Leu Asp Gln Arg Asp Tyr Glu Lys Tyr Ser Val Ser Cys Gln
180 185 190

Glu Asp Val Thr Cys Pro Thr Ala Glu Glu Thr Leu Pro Ile Glu Leu
195 200 205

Ala Leu Glu Ala Arg Gln Gln Asn Lys Tyr Glu Asn Tyr Ser Thr Ser
210 215 220

Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp Pro Pro Lys Asn Leu Gln
225 230 235 240

Met Lys Pro Leu Lys Asn Ser Gln Val Glu Val Ser Trp Glu Tyr Pro
245 250 255

Asp Ser Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe Ser Leu Lys Phe Phe Val
260 265 270

Arg Ile Gln Arg Lys Lys Glu Lys Met Lys Glu Thr Glu Glu Gly Cys
275 280 285

Asn Gln Lys Gly Ala Phe Leu Val Glu Lys Thr Ser Thr Glu Val Gln
290 295 300

Cys Lys Gly Gly Asn Val Cys Val Gln Ala Gln Asp Arg Tyr Tyr Asn
305 310 315 320

Ser Ser Cys Ser Lys Trp Ala Cys Val Pro Cys Arg Val Arg Ser
325 330 335

<210> 10

<211> 531

<212> PRT

<213> *Mus musculus*

<400> 10

Met Ser Ala Leu Leu Ile Leu Ala Leu Val Gly Ala Ala Val Ala Asp
1 5 10 15

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Leu Met Trp Glu Leu Glu Lys Asp Val
20 25 30

Tyr Val Val Glu Val Asp Trp Thr Pro Asp Ala Pro Gly Glu Thr Val
35 40 45

Asn Leu Thr Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Asp Ile Thr Trp Thr Ser
50 55 60

Asp Gln Arg His Gly Val Ile Gly Ser Gly Lys Thr Leu Thr Ile Thr
 65 70 75 80
 Val Lys Glu Phe Leu Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly
 85 90 95
 Glu Thr Leu Ser His Ser His Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asn Gly
 100 105 110
 Ile Trp Ser Thr Glu Ile Leu Lys Asn Phe Lys Asn Lys Thr Phe Leu
 115 120 125
 Lys Cys Glu Ala Pro Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr Cys Ser Trp Leu
 130 135 140
 Val Gln Arg Asn Met Asp Leu Lys Phe Asn Ile Lys Ser Ser Ser Ser
 145 150 155 160
 Ser Pro Asp Ser Arg Ala Val Thr Cys Gly Met Ala Ser Leu Ser Ala
 165 170 175
 Glu Lys Val Thr Leu Asp Gln Arg Asp Tyr Glu Lys Tyr Ser Val Ser
 180 185 190
 Cys Gln Glu Asp Val Thr Cys Pro Thr Ala Glu Glu Thr Leu Pro Ile
 195 200 205
 Glu Leu Ala Leu Glu Ala Arg Gln Gln Asn Lys Tyr Glu Asn Tyr Ser
 210 215 220
 Thr Ser Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp Pro Pro Lys Asn
 225 230 235 240
 Leu Gln Met Lys Pro Leu Lys Asn Ser Gln Val Glu Val Ser Trp Glu
 245 250 255
 Tyr Pro Asp Ser Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe Ser Leu Lys Phe
 260 265 270
 Phe Val Arg Ile Gln Arg Lys Lys Glu Lys Met Lys Glu Thr Glu Glu
 275 280 285
 Gly Cys Asn Gln Lys Gly Ala Phe Leu Val Glu Lys Thr Ser Thr Glu
 290 295 300
 Val Gln Cys Lys Gly Gly Asn Val Cys Val Gln Ala Gln Asp Arg Tyr
 305 310 315 320

Tyr Asn Ser Ser Cys Ser Lys Trp Ala Cys Val Pro Cys Arg Val Arg
325 330 335

Ser Ser Arg Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
340 345 350

Lys Leu Leu Ala Val Pro Arg Ser Ser Ser Pro Asp Trp Ala Gln Cys
355 360 365

Gln Gln Leu Ser Arg Asn Leu Cys Met Leu Ala Trp Asn Ala His Ala
370 375 380

Pro Ala Gly His Met Asn Leu Leu Arg Glu Glu Glu Asp Glu Glu Thr
385 390 395 400

Lys Asn Asn Val Pro Arg Ile Gln Cys Glu Asp Gly Cys Asp Pro Gln
405 410 415

Gly Leu Lys Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile Arg Gln Gly
420 425 430

Leu Val Phe Tyr Lys His Leu Leu Asp Ser Asp Ile Phe Lys Gly Glu
435 440 445

Pro Ala Leu Leu Pro Asp Ser Pro Met Glu Gln Leu His Thr Ser Leu
450 455 460

Leu Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Asp His Pro Arg Glu Thr
465 470 475 480

Gln Gln Met Pro Ser Leu Ser Ser Ser Gln Gln Trp Gln Arg Pro Leu
485 490 495

Leu Arg Ser Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Leu Ala Ile Ala
500 505 510

Ala Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Thr Glu Pro Leu Val
515 520 525

Pro Thr Ala
530

```
<210> 11
<211> 521
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 11
```

Met Ser Ala Leu Leu Ile Leu Ala Leu Val Gly Ala Ala Val Ala Asp

1	5	10	15
Tyr Lys Asp	Asp Asp Lys Leu	Ile Trp Glu Leu	Lys Lys Asp Val
	20	25	30
Tyr Val Val	Glu Leu Asp Trp	Tyr Pro Asp Ala	Pro Gly Glu Met Val
	35	40	45
Val Leu Thr	Cys Asp Thr Pro	Glu Glu Asp Gly	Ile Thr Trp Thr Leu
	50	55	60
Asp Gln Ser	Ser Glu Val Leu	Gly Ser Gly Lys	Thr Leu Thr Ile Gln
	65	70	75
Val Lys Glu	Phe Gly Asp Ala	Gly Gln Tyr Thr	Cys His Lys Gly Gly
	85	90	95
Glu Val Leu	Ser His Ser Leu	Leu Leu Leu His	Lys Lys Glu Asp Gly
	100	105	110
Ile Trp Ser	Thr Asp Ile Leu	Lys Asp Gln Lys	Glu Pro Lys Asn Lys
	115	120	125
Thr Phe Leu	Arg Cys Glu Ala	Lys Asn Tyr Ser	Gly Arg Phe Thr Cys
	130	135	140
Trp Trp Leu	Thr Thr Ile Ser	Thr Asp Leu Thr	Phe Ser Val Lys Ser
	145	150	155
Ser Arg Gly	Ser Ser Asp Pro	Gln Gly Val Thr	Cys Gly Ala Ala Thr
	165	170	175
Leu Ser Ala	Glu Arg Val Arg	Gly Asp Asn Lys	Glu Tyr Glu Tyr Ser
	180	185	190
Val Glu Cys	Gln Glu Asp Ser	Ala Cys Pro Ala	Ala Glu Glu Ser Leu
	195	200	205
Pro Ile Glu	Val Met Val Asp	Ala Val His Lys	Leu Lys Tyr Glu Asn
	210	215	220
Tyr Thr Ser	Ser Phe Phe Ile	Arg Asp Ile Ile	Lys Pro Asp Pro Pro
	225	230	235
Asn Asn Leu	Gln Leu Lys Pro	Leu Lys Asn Ser	Arg Gln Val Glu Val
	245	250	255
Ser Trp Glu	Tyr Pro Asp Thr	Trp Ser Thr Pro	His Ser Tyr Phe Ser
	260	265	270

Leu Thr Phe Cys Val Gln Val Gln Gly Lys Ser Lys Arg Glu Lys Lys
 275 280 285
 Asp Arg Val Phe Thr Asp Lys Thr Ser Ala Thr Val Ile Cys Arg Lys
 290 295 300
 Asn Ala Ser Ile Ser Val Arg Ala Gln Asp Arg Tyr Tyr Ser Ser Ser
 305 310 315 320
 Trp Ser Glu Trp Ala Ser Val Pro Cys Ser Gly Ser Gly Ser Ser Arg
 325 330 335
 Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Lys Leu Arg
 340 345 350
 Ala Val Pro Gly Gly Ser Ser Pro Ala Trp Thr Gln Cys Gln Gln Leu
 355 360 365
 Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp Ser Ala His Pro Leu Val Gly
 370 375 380
 His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr Thr Asn Asp Val
 385 390 395 400
 Pro His Ile Gln Cys Gly Asp Gly Cys Asp Pro Gln Gly Leu Arg Asp
 405 410 415
 Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile His Gln Gly Leu Ile Phe Tyr
 420 425 430
 Glu Lys Leu Leu Gly Ser Asp Ile Phe Thr Gly Glu Pro Ser Leu Leu
 435 440 445
 Pro Asp Ser Pro Val Ala Gln Leu His Ala Ser Leu Leu Gly Leu Ser
 450 455 460
 Gln Leu Leu Gln Pro Glu Gly His His Trp Glu Thr Gln Gln Ile Pro
 465 470 475 480
 Ser Leu Ser Pro Ser Gln Pro Trp Gln Arg Leu Leu Leu Arg Phe Lys
 485 490 495
 Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val Ala Ala Arg Val Phe
 500 505 510
 Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro
 515 520

Lisboa, 2009-11-25

REIVINDICAÇÕES

1. Utilização de um antagonista de IL-23 para o fabrico de um medicamento para o tratamento de tumores incluindo células de tumor, em que o antagonista de IL-23 inclui:

(a) um local de ligação ao antigénio de um anticorpo que liga especificamente um polipéptido de p19 (SEQ ID NO 2); ou

(b) um ácido nucleico anti-sentido ou ARN de interferência pequeno (ARNsi) que liga especificamente um ácido nucleico que codifica p19 (SEQ ID NO:1).

2. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o antagonista de IL-23 inibe ou evita crescimento tumoral.

3. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que as células de tumor expressam p19 de IL-23.

4. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o antagonista inclui um local de ligação ao antigénio de um anticorpo.

5. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o antagonista inclui um ácido nucleico anti-sentido ou ARN de interferência pequeno (ARNsi).

6. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o antagonista inclui um anticorpo monoclonal ou um seu fragmento.

7. Utilização de acordo com a reivindicação 6, em que o anticorpo monoclonal ou seu fragmento é um anticorpo humanizado ou seu fragmento.

8. Utilização de acordo com a reivindicação 6, em que o anticorpo monoclonal ou seu fragmento é um fragmento de anticorpo Fab, Fv ou F(ab')₂.

9. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que as células de tumor são:

a) células de cancro de cólon;

- b) células de cancro de ovário;
- c) células de cancro de mama; ou
- d) células de melanoma.

10. Utilização de um antagonista de IL-23 para o fabrico de um medicamento para o tratamento de um indivíduo que sofre de um cancro ou tumor, em que o antagonista de IL-23 inclui

- (a) um local de ligação ao antigénio de um anticorpo que liga especificamente um polipéptido de p19 (SEQ ID NO 2); ou
- (b) um ácido nucleico anti-sentido ou ARN de interferência pequeno (ARNsi) que liga especificamente um ácido nucleico que codifica p 19 (SEQ ID NO:1).

11. Utilização de acordo com a reivindicação 10, em que o antagonista de IL-23 inibe:

- a) crescimento do cancro ou tumor;
- b) caquexia;
- c) anorexia; ou
- d) angiogénese.

12. Utilização de acordo com a reivindicação 10, em que o antagonista inclui um local de ligação ao antigénio de um anticorpo.

13. Utilização de acordo com a reivindicação 10, em que o antagonista inclui um ácido nucleico anti-sentido ou ARN de interferência pequeno (ARNsi).

14. Utilização de acordo com a reivindicação 12, em que o antagonista inclui um anticorpo monoclonal ou um seu fragmento.

15. Utilização de acordo com a reivindicação 14, em que o anticorpo monoclonal ou seu fragmento é um anticorpo humanizado ou seu fragmento.

16. Utilização de acordo com a reivindicação 14, em que o anticorpo monoclonal ou seu fragmento é um fragmento de anticorpo Fab, Fv ou F(ab')₂.

17. Utilização de acordo com a reivindicação 10, em que o cancro ou tumor é de:

- a) tracto gastrointestinal;
- b) tracto respiratório;
- c) sistema reprodutor; ou
- d) sistema endócrino.

18. Utilização de acordo com a reivindicação 10, em que o cancro ou tumor é:

- a) cancro do cólon;
- b) cancro dos ovários;
- c) um melanoma; ou
- d) cancro da mama.

19. Método para determinar se as células de tumor expressam IL-23 incluindo pôr em contacto uma amostra de um indivíduo com um antagonista de IL-23 que inclui:

- (a) um local de ligação ao antigénio de um anticorpo que liga especificamente um polipéptido de p19 (SEQ ID NO 2); ou
- (b) um ácido nucleico anti-sentido ou ARN de interferência pequeno (ARNsi) que liga especificamente um ácido nucleico que codifica p19 (SEQ ID NO:1).

20. Método de acordo com a reivindicação 19, em que o antagonista inclui um ácido nucleico anti-sentido ou ARN de interferência pequeno que liga especificamente o polinucleótido de SEQ ID NO:1.

21. *Kit* para determinar se as células de tumor expressam IL-23 incluindo:

- a) um compartimento; e
- b) um antagonista de IL23 que inclui (i) um local de ligação ao antigénio de um anticorpo que liga especificamente um polipéptido de p19 (SEQ ID NO:2) ou (ii) um ácido nucleico anti-sentido ou ARN de interferência pequeno (ARNsi) que liga especificamente um ácido nucleico que codifica p19 (SEQ ID NO:1).

22. *Kit* de acordo com a reivindicação 21, em que o antagonista inclui um anticorpo que se liga especificamente a p19 (SEQ ID NO:2).

Lisboa, 2009-11-25

RESUMO

"Utilizações de agonistas e antagonistas de IL-23; reagentes relacionados"

Proporcionam-se métodos de tratamento para tumores. Nomeadamente, proporcionam-se métodos para modulação da actividade de uma molécula de citocina e do seu receptor.