



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 356 217**

② Número de solicitud: 200930559

⑤ Int. Cl.:
G01N 33/68 (2006.01)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

⑫ Fecha de presentación: **04.08.2009**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **06.04.2011**

⑭ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
06.04.2011

⑰ Solicitante/s: **Universidad de Salamanca
Patio de Escuelas, 1
37008 Salamanca, ES**

⑱ Inventor/es: **Quirós Luis, Yaremi;
Ferreira Redondo, Laura;
López Hernández, Francisco José;
González de Buitrago Arriero, José Manuel;
Sancho Martínez, Sandra María y
López Novoa, José Miguel**

⑳ Agente: **Pons Ariño, Ángel**

㉔ Título: **Método para la detección de daño renal.**

㉖ Resumen:

Método para la detección de daño renal.

La invención se refiere a un método para determinar la presencia de daño renal en un individuo así como un método para predecir la progresión de dicho daño renal por medio de la detección de una o varias proteínas que se seleccionan de la lista que comprende Reg3B, fetuina B, *Ras-related GTP-binding protein A*, inhibidor de la proteína serina A3L, subunidad 1 de COP9, subunidad gamma de la ATP sintasa, gelsolina, ribonucleasa UK114, aminoacilasa 1A, alfa-enolasa, queratina 5, parvalbúmina alfa, ribonucleasa 4 o inhibidor de la proteína serina A3K. El daño renal puede ser un fallo renal agudo. Dichas patologías renales pueden ser causadas por la administración de un agente nefrotóxico, donde el agente nefrotóxico puede ser un antibiótico aminoglucósido como por ejemplo la gentamicina.

ES 2 356 217 A1

DESCRIPCIÓN

Método para la detección de daño renal.

5 La invención se refiere a un método para determinar la presencia de daño renal en un individuo así como un método para predecir la progresión de dicho daño renal por medio de la detección de una o varias proteínas que se seleccionan de la lista que comprende Reg3B, fetuina B, *Ras-related GTP-binding protein A*, inhibidor de la proteína serina A3L, subunidad 1 de COP9, subunidad gamma de la ATP sintasa, gelsolina, ribonucleasa UK114, aminoacilasa 1A, alfa-
10 enolasa, queratina 5, parvalbúmina alfa, ribonucleasa 4 o inhibidor de la proteína serina A3K. El daño renal puede ser un fallo renal agudo. Dichas patologías renales pueden ser causadas por la administración de un agente nefrotóxico, donde el agente nefrotóxico puede ser un antibiótico aminoglucósido como por ejemplo la gentamicina.

Estado de la técnica anterior

15 Los antibióticos aminoglucósidos se usan ampliamente contra infecciones bacterianas. Concretamente, la gentamicina se usa contra las infecciones Gram negativas. Su eficacia y uso terapéutico están gravemente obstaculizados por su toxicidad, que se produce principalmente a nivel renal y auditivo (Martínez-Salgado C, López-Hernández FJ y López-Novoa JM. 2007, *Toxicol Appl Pharmacol.*, 223: 86-98). La nefrotoxicidad inducida por gentamicina aparece en el 10-25% de los tratamientos (Leehey DJ *et al.*, 1993, *J. Am. Soc. Nephrol.*, 4: 81-90). Se caracteriza principalmente por daño tubular (Nakakuki M *et al.*, 1996, *Can J Physiol Pharmacol.*, 74: 104-111), pero también podrían aparecer alteraciones glomerulares (Martínez-Salgado C, López-Hernández FJ y López-Novoa JM. 2007, *Toxicol Appl Pharmacol.*, 223: 86-98) y vasculares (Goto T *et al.*, 2004, *Virchows Arch.*, 444: 362-74; Seçilmis MA, *et al.*, 2005, *Nephron Physiol.*, 100: 13-20) de forma dependiente de la dosis (Hishida A *et al.*, 1994, *Ren Fail.*, 16: 109-116). El daño tubular afecta principalmente al túbulo proximal en el que, dependiendo de la intensidad de la agresión, la lesión puede oscilar desde un descamado epitelial leve hasta una necrosis tubular más grave (Nakakuki *et al.*, 1996, *Can J Physiol Pharmacol.*, 74: 104-111). Las lesiones tubulares dan como resultado un desequilibrio en la capacidad de resorción que activa la retroalimentación tubuloglomerular, que reduce drásticamente la tasa de filtración glomerular (TFG) para evitar una pérdida masiva de fluido. Finalmente, la gentamicina reduce el flujo sanguíneo renal (FSR) por contracción tanto de las arterias preglomerulares, como de las arteriolas aferentes y eferentes (Klotman *et al.*, 20
30 1983. *Kidney Int.*, 24: 638-643). Como consecuencia de una FSR menor, la TFG se deteriora. Un menor FSR también contribuye a la necrosis tisular, especialmente en el interior de la zona cortical (Cheung *et al.*, 2008. *Drugs Aging*, 25: 455-476).

35 Dependiendo de la edad, sexo, función renal anterior, duración del tratamiento, pauta terapéutica, nivel de hidratación y otros estados concomitantes (por ejemplo., embarazo o hipotiroidismo), la nefrotoxicidad asociada con gentamicina puede a veces llegar al fallo renal agudo.

El fallo renal agudo es un tipo de daño renal en el que se manifiesta una pérdida de la función excretora del riñón, suficiente para impedir la limpieza de la sangre de productos de deshecho y agua así como de mantener el balance electrolítico (Bellomo R, Kellum JA y Ronco C, 2007. *Intensive Care Med.*, 33: 409-413). El fallo renal agudo puede estar inducido por una amplia variedad de agresiones entre las que se incluyen fármacos, tóxicos químicos, hipoxia, obstrucción de las vías urinarias, infecciones y otros (Binswanger U, 1997. *Kidney Blood Press Res.*, 20: 163). Este tipo de daño renal representa una enorme sobrecarga humana y socioeconómica derivada de su elevada incidencia y tasa de mortalidad. Se estima que casi el 1% de ingresos hospitalarios están asociados con el fallo renal agudo, y aproximadamente el 2-7% de los pacientes hospitalizados eventualmente lo desarrollan. Más importante, la mortalidad entre los pacientes de un fallo renal agudo se mantiene remarcablemente elevada en aproximadamente un 50% de los casos.

En la práctica clínica, un fallo renal agudo se diagnostica cuando la disfunción renal produce síntomas que se pueden medir. Estos típicamente se basan en la determinación de los niveles de creatinina y urea. Lo más habitual es que sus concentraciones en suero aumenten a medida que la TFG disminuye. Sin embargo, en ese estado en el que ya se observa aumento de los niveles séricos de urea y creatinina, el fallo renal agudo resulta difícil de tratar. Así, las tendencias actuales en el diagnóstico buscan detectar eventos fisiopatológicos incipientes producidos en etapas tempranas, cuando el daño está menos extendido (Vaidya VS, Ferguson MA y Bonventre JV, 2008. *Rev Pharmacol Toxicol.*, 48:463-493). Entre estos, la medida de ciertas enzimas celulares presentes en la orina como consecuencia de la rotura de células tubulares es actualmente el procedimiento más refinado para una detección temprana del fallo renal agudo, que cursa con daño tubular. Estas enzimas incluyen N-acetil-D-glucosaminidasa (NAG), pero también otras como lactato deshidrogenasa (DHL), fosfatasa alcalina (ALP) o gamma-glutamyl transpeptidasa (GGT). La mayor parte de estas enzimas tienen un valor moderado como marcadores urinarios tempranos y sensibles del fallo renal agudo, debido principalmente a problemas de estabilidad e inhibición por otros componentes de la orina (Vaidya VS, Ferguson MA y Bonventre JV, 2008. *Rev Pharmacol Toxicol.*, 48: 463-493). Marcadores tempranos de última generación incluyen, entre otros, la medida en la orina de la molécula de daño renal 1 (KIM-1), o de la lipocalina asociada a la gelatinasa neutrófila (NGAL) (Vaidya y cols., 2008).

65 Sin embargo, existen todavía aspectos susceptibles de mejora en el diagnóstico del daño renal agudo. Uno de esos aspectos es el diagnóstico etiológico del daño, es decir, no solamente la detección precoz del daño, sino también de su causa. Este aspecto cobra especial importancia en situaciones clínicas en las que convergen diversos agentes potencialmente neurotóxicos en el mismo individuo al mismo tiempo, como por ejemplo diferentes fármacos potencialmente

nocivos para los riñones. En estas circunstancias, cuando aparecen los primeros síntomas de nefrotoxicidad, es imposible saber con la tecnología diagnóstica actual cual de los fármacos es el causante del daño, lo que impide sustituir solamente ese o cambiar sólo su régimen terapéutico sin alterar el de los otros fármacos. Entre los fármacos de este tipo se pueden destacar los antibióticos aminoglucósidos. De esta manera se conseguiría proporcionar La identificación de marcadores o colecciones de marcadores específicos de cada agente potencialmente neurotóxico permitiría realizar un tratamiento más racional, individualizado y específico de situaciones clínicas cotidianas como los tratamientos simultáneos que contienen dos o más fármacos potencialmente nefrotóxicos. Esto permitiría redirigir correctamente el tratamiento sustituyendo únicamente el fármaco dañino o volviendo a conformar su pauta terapéutica.

10 Explicación de la invención

La invención se refiere a un método para determinar un daño renal en un individuo así como un método para predecir la progresión de dicho daño renal por medio de la detección de una o varias proteínas que se seleccionan de la lista que comprende Reg3B, fetuina B, *Ras-related GTP-binding protein A*, inhibidor de la proteína serina A3L, subunidad 1 de COP9, subunidad gamma de la ATP sintasa, gelsolina, ribonucleasa UK114, aminoacilasa 1A, alfa-enolasa, queratina 5, parvalbúmina alfa, ribonucleasa 4 o inhibidor de la proteína serina A3K. El daño renal puede ser un fallo renal agudo. Dichas patologías renales pueden ser causadas por la administración de un agente nefrotóxico, donde el agente nefrotóxico puede ser un antibiótico aminoglucósido como por ejemplo la gentamicina.

La presente invención proporciona evidencias de que el daño renal o un fallo renal agudo inducido por ejemplo, pero sin limitarse, por gentamicina, está relacionado con un incremento en la excreción de cualquier proteína seleccionada de la lista mencionada en el párrafo anterior, o de cualquiera de sus combinaciones.

Por tanto, la presente invención proporciona herramientas para la detección de un daño renal o de un fallo renal agudo. Estas herramientas permiten la predicción de la progresión de un daño renal o de un fallo renal agudo, es decir, la supervisión de la progresión de dicha patología cuando la persona sea tratada con, por ejemplo, pero sin limitarse, sustancias terapéuticas, o cuando la persona está expuesta a cualquier condición o a cualquier agente nefrotóxico o no nefrotóxico.

Además, la presente invención presenta una ventaja importante: La detección de una proteína, o de cualquiera de sus fragmentos, que se selecciona de la lista que comprende Reg3B, fetuina B, *Ras-related GTP-binding protein A*, inhibidor de la proteína serina A3L (serpina A3L), subunidad 1 de COP9, subunidad gamma de la ATP sintasa, gelsolina, ribonucleasa UK114, aminoacilasa 1 A, alfa-enolasa, queratina 5, parvalbúmina alfa, ribonucleasa 4 o inhibidor de la proteína serina A3K (serpina A3K), en muestras de orina, supone una ventaja adicional para el paciente ya que la evacuación de este fluido biológico es hecho fisiológico necesario que ocurre normalmente. Esto supone un muestreo no agresivo en el individuo.

A continuación se lleva a cabo una breve descripción de las proteínas detectadas y/o cuantificadas en el método de la presente invención.

Reg3B (conocida también, entre otros sinónimos, como *Regenerating islet-derived protein 3 beta*, *pancreatic stone protein 2*, Pap, Pap1, HIP, INGAP, pancreatitis-associated protein, Pancreatitis-associated protein 1, REG-III o RegIII [beta], Reg III-beta). Esta proteína se ha relacionado con la lectina. Reg3B está presente en pequeñas cantidades en un páncreas normal pero está sobreexpresada durante la fase aguda de la pancreatitis. Puede estar involucrada en la respuesta para el control de la proliferación bacteriana durante la pancreatitis aguda. Se ha conseguido clonar.

La fetuina B (conocida también, entre otros, como 16G2, *Fetuin-B precursor*, Gugu, IRL685). La fetuina es una proteína que se sintetiza en el hígado y es secretada al torrente sanguíneo. Pertenece a un grupo numeroso de proteínas que posibilitan el transporte y la disponibilidad de una amplia variedad de sustancias en el torrente sanguíneo. Esta proteína es más abundante en la sangre fetal que en la del individuo adulto, de ahí el nombre de "fetuín".

Ras-related GTP-binding protein A (conocida también, entre otros, como Rag A, FIP1, FIP-1, RagA, RAGA, RRAGA, Rag A, *Ras-related GTP-binding protein A* o *Adenovirus E3 14.7 kDa-interacting protein 1*). Esta proteína puede estar en forma de homodímero. Participa en la ruta RCC1/Ran-GTPasa y puede desempeñar una función directa en la señalización mediada por TNF-alfa, que produce la inducción de la muerte celular. Se expresa de forma ubicua en músculo esquelético, corazón y cerebro.

La proteína serpina A3L (algunos sinónimos para referirse a esta proteína son *serine protease inhibitor A3L*, *serine protease inhibitor 1* o *contratripsin-like protease inhibitor 3*), pertenece a un grupo de proteínas capaces de inhibir otras enzimas del grupo de las proteasas. El nombre serpina deriva de la combinación de Serpin (*Serine protease inhibitor*) en virtud de sus propiedades funcionales. La serpina A3L se induce por hormonas de crecimiento y se ha descrito una reducción de los niveles de expresión de la misma en ratas durante inflamación aguda. El producto de la expresión del gen se ha localizado en hígado de *Rattus norvegicus* (rata). La proteína serpina A3K (algunos otros sinónimos para referirse a esta proteína son *contratripsin-like protease inhibitor 1*, *Kallikrein-binding protein*, *serine protease inhibitor 2* o *growth hormone-regulated proteinase inhibitor*) es una proteína serpina extracelular que ha mostrado niveles bajos en retinas de ratas que padecen diabetes, lo que puede contribuir a una retinopatía.

ES 2 356 217 A1

El signalosoma COP9 es un complejo proteico conservado en células eucariotas compuesto por ocho subunidades (CSN1 a CSN8). COP9 es un regulador de la ubiquitinación. La ubiquitinación consiste en el proceso de marcaje de proteínas por medio de la proteína ubiquitina para su proteólisis. La ubiquitina se ancla a la proteína que se ha de eliminar y de esta forma, la proteína marcada se mueve hacia el proteasoma, una estructura donde se lleva a cabo el proceso de la proteólisis.

La subunidad gamma del complejo de la ATP sintasa (también conocida como subunidad gamma de la ATPasa tipo F) forma el eje central que conecta el dominio F0 de rotación al dominio catalizador F1 del complejo. La proteína ATP sintasa produce ATP utilizando ADP en presencia de un gradiente de protones entre el exterior y el interior de la célula. Las ATPasas tipo F tienen dos componentes, el componente F1, con función catalizadora y el componente F0, que es el canal de protones embebido en la membrana. F1 tiene cinco subunidades: alfa, beta, gamma, delta y epsilon. F0 tiene tres subunidades principales: a, b y c. La subunidad gamma es importante en la regulación de la actividad del complejo y en el flujo de protones.

La gelsolina es una proteína globular de 82 KDa con seis subdominios, llamados S1-S6. Esta proteína está implicada en el ensamblaje de los filamentos de actina.

La ribonucleasa (RNasa), es una enzima (nucleasa) que cataliza la hidrólisis de ARN en componentes más pequeños. La ribonucleasa UK114 es responsable de la inhibición de la traducción, hidrolizando el ARNm. La ribonucleasa 4 (RNasa 4) es una proteína de unos 16 kDa que tiene preferencia por la hidrólisis de polímeros de ácido ribonucleico.

La enzima aminoacilasa 1 (Acy 1) se localiza en el citosol, es homodimérica, dependiente de su unión a zinc y cataliza la hidrólisis de L aminoácidos adiadados.

La enzima alfa-enolasa, una conocida enzima glucolítica, ha sido identificada como un autoantígeno de la encefalopatía Hashimoto, así como se ha relacionado con asma severo. La disminución en la expresión de la enzima ha sido encontrada en córneas de personas que padecen queratocono.

La queratina 5 es una citoqueratina frecuentemente relacionada con la queratina 14. Las citoqueratinas tipo II consisten en proteínas básicas o neutrales que están organizadas en pares de cadenas distintas de queratina coexpresadas durante la diferenciación de tejidos epiteliales simples y estratificados. Mutaciones en estos genes se han asociado con enfermedades llamadas epidermolisis simples.

La proteína parvalbúmina es una albúmina de bajo peso molecular (normalmente 9-11 kDa) que necesita unirse a calcio para ejercer su función. Está estructuralmente relacionada con calmodulina y troponina C. La parvalbúmina está localizada en los músculos de rápida contracción así como en el cerebro y algunos tejidos endocrinos.

Un primer aspecto de la presente invención se refiere a un método de obtención de datos útiles para determinar un daño renal, que comprende:

- a. obtener una muestra biológica aislada de un individuo, y
- b. detectar y/o cuantificar en la muestra obtenida en (a) al menos una proteína, o cualquiera de sus combinaciones, seleccionada de la lista que comprende:
 - una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 1 ó SEQ ID NO: 2, o cualquiera de sus fragmentos,
 - una proteína con al menos un 80% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 3 a 11, o cualquiera de sus fragmentos, o
 - una proteína con al menos un 90% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 12 a 14, o cualquiera de sus fragmentos.

El término “daño renal” tal como se entiende en la presente invención se refiere a cualquier daño en el sistema renal de un individuo que puede ocasionar o no una condición en el individuo que permita o no permita asignar dicha condición a una enfermedad renal. El origen de dicho daño renal puede ser, por ejemplo, pero sin limitarse, genético, inmune, isquémico o un tratamiento con cualquier fármaco. El daño renal o enfermedad antes mencionados puede ser también producido por un procedimiento quirúrgico, por ejemplo, pero sin limitarse, de riñón, de próstata, de vejiga, de uréter o de uretra.

A continuación se describe la correspondencia de las secuencias citadas con las proteínas descritas así como los números de acceso (entre paréntesis) de cada una de ellas y el organismo del que proceden:

- SEQ ID NO: 1; Reg3B (A49616, correspondiente a *Homo sapiens*),
- SEQ ID NO: 2; fetuina B (NP_055190.2, correspondiente a *Homo sapiens*),

ES 2 356 217 A1

- SEQ ID NO: 3; inhibidor de la proteína serina A3K (P05545.3, correspondiente a *Rattus norvegicus*),
- SEQ ID NO: 4; subunidad gamma de la ATP sintasa (NP_001001973.1, correspondiente a *Homo sapiens*),
- 5 - SEQ ID NO: 5; gelsolina (NP_000168.1, correspondiente a *Homo sapiens*),
- SEQ ID NO: 6; ribonucleasa UK114 (P52758.1, correspondiente a *Homo sapiens*),
- SEQ ID NO: 7; aminoacilasa 1A (NP_000657.1, correspondiente a *Homo sapiens*),
- 10 - SEQ ID NO: 8; alfa-enolasa (AAB88178.1, correspondiente a *Homo sapiens*),
- SEQ ID NO: 9; queratina 5 (NP_000415.2, correspondiente a *Homo sapiens*),
- 15 - SEQ ID NO: 10; parvalbúmina alfa (P20472.2, correspondiente a *Homo sapiens*),
- SEQ ID NO: 11; ribonucleasa 4 (AAA96750.1, correspondiente a *Homo sapiens*),
- SEQ ID NO: 12; inhibidor de la proteína serina A3L (P05544.3, correspondiente a *Rattus norvegicus*)
- 20 - SEQ ID NO: 13; subunidad 1 de COP9 (Q13098.4, correspondiente a *Homo sapiens*),
- SEQ ID NO: 14; *Ras-related GTP-binding protein A* (NP_006561.1, correspondiente a *Homo sapiens*).

25 El porcentaje de identidad se ha establecido en base a la determinación del % de identidad de la secuencia aminoacídica de la proteína correspondiente a *Homo sapiens* con respecto a la secuencia aminoacídica de la proteína correspondiente a *Rattus norvegicus* (Tabla 1).

30 (Tabla pasa a página siguiente)

ES 2 356 217 A1

TABLA 1

Porcentajes de identidad de las proteínas de la invención correspondientes a Rattus norvegicus y Homo sapiens

Proteína	SEQ ID NO	Nº Acceso <i>Rattus norvegicus</i>	Nº Acceso <i>Homo sapiens</i>	% de Identidad
Reg3B	1	P25031	A49616	69
Fetuna B	2	Q9QX79	NP_055190.2	62
Inhibidor de la proteína serina A3K (Serpina A3K)	3	P05545.3	CAD83829.1	88,2
Subunidad gamma de la ATP sintasa	4	P35435	NP_001001973. 1	91,2
Gelsolina	5	Q68FP1	NP_000168.1	93,1
Ribonucleasa UK114 (RNasa UK114)	6	P52759.3	P52758.1	87,6
Aminoacilasa 1A (Acy 1A)	7	Q6AYS7.1	NP_000657.1	87,7
Alfa-enolasa	8	P04764	AAB88178.1	94,6
Queratina 5	9	Q6P6Q2	NP_000415.2	88,3
Parvalbúmina alfa	10	P02625.2	P20472.2	91,8
Ribonucleasa 4 (RNasa 4)	11	O55004	AAA96750.1	80,5
Inhibidor de la proteína serina A3L (Serpina A3L)	12	P05544.3	CAD83829.1	99,3
Subunidad 1 de COP9	13	P97834.1	Q13098.4	96,8
<i>Ras-related GTP- binding protein A</i>	14	Q63486	NP_006561.1	100

El término “% de identidad” entre dos secuencias de aminoácidos, tal como se entiende en la presente invención, se refiere al número de posiciones aminoacídicas sobre la longitud total de la secuencia que se compara, donde todos los aminoácidos en esa posición son idénticos.

Más preferiblemente, en el apartado (b) del método se detecta y/o cuantifica al menos una proteína, o cualquiera de sus combinaciones, con:

- al menos un 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 ó 95% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 1 ó SEQ ID NO: 2, o cualquiera de sus fragmentos,

- al menos un 80, 85, 90 ó 95% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 3 a 11, o cualquiera de sus fragmentos, o

- al menos un 90 ó 95% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 12 a 14, o cualquiera de sus fragmentos.

ES 2 356 217 A1

En adelante, cuando se haga referencia a cualquiera de las proteínas de la presente invención se tendrá en cuenta que también puede detectarse cualquier proteína con el porcentaje de identidad que se ha mencionado en párrafos precedentes, según la proteína de la que se trate. Por tanto, en adelante, se podrá hacer referencia a cualquiera de las proteínas de la presente invención como “proteína de la invención” o “proteína de la presente invención”.

5

Para detectar y/o cuantificar la proteína de la presente invención es suficiente con detectar uno o más fragmentos de dicha proteína ya que dicho fragmento es un constituyente de la secuencia aminoacídica y de la estructura de la proteína.

10

El apartado (b) del método de la presente invención se refiere a la detección y la cuantificación de la proteína, o de cualquiera de sus fragmentos, o se refiere también a su detección o a su cuantificación. Dicha detección y/o cuantificación se puede llevar a cabo por medio de cualquier técnica conocida en el estado de la técnica.

15

Por otra parte, tal como se ha mencionado, el método de la presente invención se puede llevar a cabo mediante la detección y/o cuantificación de la combinación de cualquiera de las proteínas de la lista citada anteriormente o de la combinación de cualquiera de los fragmentos de dichas proteínas. Además, el término “cualquiera de sus combinaciones” también se refiere a que una o más proteínas de la invención (o cualquiera de sus fragmentos), pueden ser detectadas en combinación con la detección de cualquier otra proteína diferente de cualquiera de las proteínas de la presente invención.

20

Cualquiera de las proteínas de la presente invención es el producto de la expresión de una secuencia nucleotídica. Esta secuencia nucleotídica puede ser, por ejemplo pero sin limitarse, cualquier ARN como por ejemplo, pero sin limitarse, ARN mensajero (ARNm), o cualquiera de sus fragmentos. La secuencia nucleotídica puede ser también ADN complementario (ADNc) o cualquier de sus fragmentos. El ADNc es un ADN complementario a un ARNm o es también la secuencia nucleotídica que comprende los exones de la secuencia nucleotídica genómica pero no los intrones, es decir, el ADNc es la secuencia codificante. La transcripción de la secuencia nucleotídica genómica del gen que codifica para la proteína y su ADNc codifican para el mismo ARNm y, por tanto, para la misma proteína. En la presente invención también es posible detectar cualquier ARN o cualquier ADN, o cualquiera de sus fragmentos, en lugar de la detección de la proteína, o simultáneamente.

30

Una realización preferida se refiere al método de obtención de datos útiles para determinar un daño renal, donde se detecta y/o cuantifica al menos una proteína, o cualquiera de sus combinaciones, seleccionada de la lista que comprende: SEQ ID NO: 1 a 14, o cualquiera de sus fragmentos.

35

Otra realización preferida se refiere a un método de obtención de datos útiles para determinar un daño renal, donde se detecta y/o cuantifica una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a SEQ ID NO: 1 y/o una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a SEQ ID NO: 2, o cualquiera de sus fragmentos. Según una realización más preferida, se detecta y/o cuantifica la proteína SEQ ID NO: 1 y/o SEQ ID NO: 2, o cualquiera de sus fragmentos.

40

Otra realización preferida se refiere a un método de obtención de datos útiles para determinar un daño renal, donde además comprende la comparación de los datos obtenidos en el apartado (b) con datos obtenidos de muestras control para buscar alguna desviación significativa.

45

El término “muestras control” tal como se entiende en la presente invención se refiere, por ejemplo, pero sin limitarse, a una muestra obtenida de un individuo que no desarrolla un daño renal (individuo sano). Este tipo de muestra control, es un muestra control negativa o control negativo para un daño renal.

50

El término “desviación significativa” tal como se entiende en la presente invención se refiere, a la presencia de la proteína en la muestra aislada, o una mayor concentración de la proteína de la invención en la muestra aislada respecto de una muestra aislada procedente de un individuo sano. La selección del individuo sano se lleva a cabo por medio de la medida del nivel de uno o más marcadores comunes de un daño renal. El marcador común se selecciona de la lista que comprende, pero sin limitarse, creatinina, *blood urea nitrogen* (BUN) o proteinuria.

55

La muestra biológica aislada de un organismo, como por ejemplo, pero sin limitarse, un humano u otro animal, puede ser un fluido biológico o cualquier tejido celular de dichos organismos.

60

Otra realización preferida de la presente invención se refiere a un método para la determinación de un daño renal que comprende los apartados de los métodos de obtención de datos descritos en párrafos anteriores y además comprende la atribución de la desviación significativa al desarrollo de dicho daño renal, en el individuo. En consecuencia, esta realización preferida es un método para diagnosticar un daño renal.

65

Otra realización preferida se refiere al método de obtención de datos útiles para determinar un daño renal donde el daño renal es un fallo renal agudo. El término “fallo renal agudo”, tal como se entiende en la presente invención, se refiere a una insuficiencia renal aguda en cualquier etapa (o gravedad) de una disfunción renal. El origen de fallo renal agudo puede ser, por ejemplo, pero sin limitarse, genético, inmune, isquémico o un tratamiento con cualquier droga. El fallo renal agudo puede ser producido también por un procedimiento quirúrgico, por ejemplo, pero sin limitarse, de riñón, de próstata, de vejiga, de uréter o de uretra.

ES 2 356 217 A1

En otra realización preferida del método de obtención de datos útiles para determinar un daño renal o un fallo renal agudo, la muestra biológica del apartado (a) es un fluido biológico. El fluido biológico puede incluir fluidos que son excretados o secretados por el cuerpo animal así como fluidos que no son excretados o secretados. El fluido biológico se selecciona de la lista que comprende, pero sin limitarse, fluido amniótico rodeando al feto, humor acuoso, 5 sangre, plasma, fluido intersticial, linfa, leche, mucus (incluyendo secreción nasal y flema), saliva, sebo (aceite de la piel), suero, sudor, lágrimas u orina. La proteína de la presente invención puede ubicarse en cualquier compartimento biológico presente en el mencionado fluido biológico como por ejemplo, pero sin limitarse, en una célula o en una vesícula. En una realización más preferida, el fluido biológico es orina.

10 Otra realización preferida se refiere al método de obtención de datos útiles para determinar un daño renal o un fallo renal agudo, donde la proteína, o cualquier fragmento de la misma, es detectada y/o cuantificada por medio de electroforesis, inmunoensayo, cromatografía y/o tecnología de microarray.

15 La detección y/o cuantificación de la proteína de la presente invención puede llevarse a cabo por medio de cualquiera de las técnicas mencionadas o por cualquier combinación de las mismas. La proteína puede ser detectada evaluando su presencia o ausencia. La detección puede llevarse a cabo por medio del reconocimiento específico de cualquier fragmento de la proteína por medio de cualquier sonda y/o cualquier anticuerpo. La proteína de la presente invención, o cualquiera de sus fragmentos, puede ser cuantificada, sirviendo estos datos como referencia para compararlos con los datos obtenidos en la muestra control y buscar alguna desviación significativa. Esta desviación significativa puede 20 ser asignada al diagnóstico de un daño renal en el individuo del que procede la muestra problema. En una realización preferida, la proteína de la invención, o cualquiera de sus fragmentos, puede ser detectada y/o cuantificada por medio de electroforesis y/o inmunoensayo.

25 La electroforesis es una técnica analítica de separación basado en el movimiento o la migración de macro-moléculas disueltas en un medio (*buffer* de electroforesis), mediante una matriz o un sólido apoyo como resultado de la acción de un campo eléctrico. El comportamiento de la molécula depende de su movilidad electroforética y esta movilidad depende de la carga, tamaño y forma. Existen numerosas variaciones de esta técnica basadas en el equipamiento usado, soportes y condiciones para llevar a cabo la separación de las proteínas. La electroforesis se selecciona de la lista que comprende, pero sin limitarse, electroforesis capilar, electroforesis en papel, electroforesis en gel de agarosa, 30 electroforesis en gel de poliacrilamida, isoelectroenfoque o electroforesis bidimensional.

Un inmunoensayo es una prueba bioquímica que mide la concentración de una sustancia en un líquido biológico usando la reacción de un anticuerpo o anticuerpos con alguno de sus antígenos. El ensayo aprovecha la especificidad de un anticuerpo con su antígeno. La cantidad de anticuerpo o antígeno puede detectarse por medio de métodos conocidos en el estado de la técnica. Uno de los métodos más comunes es el que se basa en el mareaje del antígeno o de 35 los anticuerpos. El mareaje puede llevarse a cabo, pero sin limitarse, una enzima, radioisótopos (radioinmunoensayo), etiquetas magnéticas (inmunoensayo magnético) o fluorescencia, y también otras técnicas incluidas aglutinación, nefelometría, turbidimetría o Western Blot. Los inmunoensayos heterogéneos pueden ser competitivos o no competitivos. El inmunoensayo puede ser competitivo: la respuesta será inversamente proporcional a la concentración de antígeno en la muestra, o puede ser no competitivo (conocido también como “sandwich assay”): los resultados son directamente 40 proporcionales a la concentración del antígeno. Una técnica de inmunoensayo que puede ser utilizada en la presente invención es el ensayo ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*).

45 Por medio de las técnicas cromatográficas, las moléculas pueden ser separadas, pero sin limitarse, por su carga, tamaño, masa molecular, mediante su polaridad o mediante su potencial redox. La técnica de cromatografía se selecciona, pero sin limitarse, cromatografía de líquidos (cromatografía de partición, cromatografía de adsorción, cromatografía de exclusión o cromatografía de intercambio iónico), cromatografía de gases o cromatografía de fluidos supercríticos.

50 La tecnología de microarray de la presente invención está basada, por ejemplo, sobre la fijación en un soporte sólido de una molécula que reconoce la proteína de la presente invención. El microarray basado en anticuerpos es el microarray de proteínas más común. En este caso, los anticuerpos se fijan en el soporte sólido (también se puede emplear el término chip para referirse a microarray). Estos anticuerpos son utilizados para capturar moléculas que permiten la detección de proteínas procedentes, pero sin limitarse, de muestras biológicas, de lisados celulares, de suero o de orina. El término “soporte sólido” tal como se emplea en la presente invención se refiere a una gran 55 variedad de materiales, por ejemplo, pero sin limitarse, intercambio de iones o resina adsorción, vidrio, plástico, látex, nylon, gel, ésteres de celulosa, esferas paramagnéticas o la combinación de algunos de ellos.

60 Según otra realización preferida del método de obtención de datos útiles para determinar un daño renal o un fallo renal agudo de la presente invención, el daño renal o el fallo renal agudo es producido por la administración o por la exposición del individuo a, al menos, un agente nefrotóxico. Una realización más preferida se refiere al método donde el agente nefrotóxico es un antibiótico aminoglucósido.

65 Este agente nefrotóxico puede causar una o más patologías renales debido al nivel de la administración o de exposición. Dicha administración o exposición puede tener lugar durante un periodo de tiempo o puede estar limitado a un acontecimiento único, así como también puede deberse a uno o varios compuestos. Las circunstancias de la exposición pueden ser involuntarias, accidentales, intencionadas, como consecuencia de una sobredosis o como consecuencia de una necesidad terapéutica (administración). El riñón es el órgano principal de la excreción porque mantiene la ho-

ES 2 356 217 A1

meostasis de moléculas solubles en agua, y puede concentrar determinadas sustancias activamente. En general, el túbulo proximal, distal o urinario pueden ser reparados, pero los glomérulos y la médula pueden tener una reparación significativamente menor.

5 El agente nefrotóxico, cuando es administrado, puede ser una composición farmacéutica (sustancia terapéutica) o, pero sin limitarse, anestésicos halogenados o un compuesto que está incluido en un alimento funcional, o en un complemento vitamínico, o en un complemento nutricional. El agente nefrotóxico, cuando el individuo está expuesto, puede ser además, un químico como por ejemplo, pero sin limitarse, metal pesado, plaguicida o antimicrobiano. El plaguicida puede ser, pero sin limitarse, un fungicida, un herbicida, un insecticida, un algicida, un molusquicida, un acaricida o un raticida. El insecticida puede ser, pero sin limitarse, un bactericida, un antibiótico, un antibacteriano, un antiviral, un antifúngico, un antiprotozoario o un agente antiparasitario.

15 El antibiótico aminoglucósido (aminoglucósido) ejerce su acción uniéndose a las subunidades ribosomales 30S y 50S bacterianas, inhibiendo la translocación de la peptidil-tRNA y también causando lectura errónea de ARNm, dejando a la bacteria incapaz de sintetizar proteínas vitales para su crecimiento. La antibiótico aminoglucósido puede ser por ejemplo, pero sin limitarse, amikacina, arbekacina, gentamicina, kanamicina, neomicina netilmicina, paromomicina, rodostreptomina, estreptomina, tobramicina, apramicina, espectinomicina, higromicina B, verdamicina, astromicina o puromicina. Según una realización aún más preferida, el antibiótico aminoglucósido es gentamicina.

20 La gentamicina es un antibiótico aminoglucósido de amplio espectro comúnmente empleado para tratar las infecciones de bacterias aeróbicas Gram negativas. Los aminoglucósidos son absorbidos mal cuando son administrados oralmente, pero se eliminan rápidamente por los riñones. Por otra parte, los aminoglucósidos difunden en las células bacterianas a través de canales localizados en la membrana exterior y son transportados hasta el citoplasma. Como resultado, la gentamicina actúa interfiriendo con la síntesis de proteínas bacterianas pero puede causar daño renal en el túbulo proximal, particularmente en el segmento S1 o S2, que puede dar lugar al desarrollo de un fallo renal agudo. El fallo renal agudo puede ser debido, además, a la administración simultánea o secuencial de un segundo agente nefrotóxico. Este segundo compuesto puede ser por ejemplo, pero sin limitarse, nitrato de uranilo o cisplatino. El nitrato de uranilo es un agente nefrotóxico que ocasiona insuficiencia renal grave y necrosis tubular aguda. Otros órganos diana incluyen el hígado, pulmones o el cerebro. El cisplatino es un agente antitumoral de amplio espectro comúnmente utilizado para tratar tumores de los testículos, ovarios, vejiga, piel, cuello o pulmones. El cisplatino difunde en las células y funciona por intercalarse dentro y entre las cadenas de ADN, provocando la muerte de la célula.

35 Otro aspecto de la presente invención es un método para predecir la progresión de un daño renal debido a la administración de, al menos, un agente nefrotóxico, que comprende, en primer lugar, (a) determinar una primera concentración de una proteína, o cualquier fragmento de la misma, seleccionada de la lista que comprende:

- una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 1 ó SEQ ID NO: 2, o cualquiera de sus fragmentos,
- 40 - una proteína con al menos un 80% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 3 a 11, o cualquiera de sus fragmentos, o
- una proteína con al menos un 90% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 12 a 14, o cualquiera de sus fragmentos,

45 en un fluido biológico aislado de un individuo expuesto o no expuesto a un agente nefrotóxico. En segundo lugar se determina una segunda concentración de la proteína cuya concentración se ha determinado en (a), en un fluido biológico del individuo, después de determinar la primera concentración de dicha proteína en el individuo expuesto, o después de la iniciación de la administración o exposición al agente nefrotóxico en el individuo no expuesto, y (c) comparar la segunda concentración obtenida en el apartado (b) con la primera concentración contenida en apartado (a) para buscar alguna desviación significativa. Es decir, si la determinación de la primera concentración se lleva a cabo en una muestra de un individuo expuesto al agente nefrotóxico, la medida de la segunda concentración se lleva a cabo tras la determinación de la primera concentración, y si la determinación de la primera concentración se lleva a cabo en una muestra de un individuo sin exposición al agente nefrotóxico, la medida de la segunda concentración se lleva a cabo después del comienzo de la administración o la exposición al agente nefrotóxico del individuo. La segunda concentración es comparada con la primera concentración buscando cualquier desviación significativa. La desviación significativa puede ser en el sentido de mayores o menores valores cuando la segunda concentración es comparada con la primera concentración, o cuando cualquier desviación significativa es comparada con una determinación anterior de la concentración.

60 En la presente invención, el término “predecir la progresión” se refiere a una conclusión de la monitorización o supervisión de la progresión del daño renal, esto es, la manifestación sobre la progresión de un daño renal debida a la administración de, al menos, un agente nefrotóxico.

65 Una realización preferida se refiere al método para predecir la progresión de un daño renal debido a la administración de, al menos, un agente nefrotóxico, donde en el apartado (a) y (b) se detecta y/o cuantifica al menos una proteína, o cualquiera de sus combinaciones, seleccionada de la lista que comprende: SEQ ID NO: 1 a 14, o cualquiera de sus fragmentos.

ES 2 356 217 A1

Otra realización preferida se refiere al método para predecir la progresión de un daño renal debido a la administración de, al menos, un agente nefrotóxico, donde se determina la concentración de una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a SEQ ID NO: 1 y/o una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a SEQ ID NO: 2, o cualquiera de sus fragmentos. Según una realización más preferida, se detecta y/o cuantifica la proteína SEQ ID NO: 1 y/o SEQ ID NO: 2, o cualquiera de sus fragmentos.

Otra realización preferida se refiere al método para predecir la progresión de un daño renal debido a la administración de, al menos, un agente nefrotóxico, donde el daño renal es un fallo renal agudo.

Según otra realización preferida del método para predecir la progresión de un daño renal o de un fallo renal agudo, el agente nefrotóxico es un antibiótico aminoglucósido. Una realización más preferida se refiere al método donde el antibiótico aminoglucósido es gentamicina.

Otra realización preferida se refiere al método para predecir la progresión de un daño renal o de un fallo renal agudo, donde el fluido biológico es orina.

Para referirse a cualquiera de los métodos de la presente invención para la obtención de datos útiles para la determinación de un daño renal o de un fallo renal agudo, o de cualquiera de los métodos para predecir la progresión de dicho daño renal o de dicho fallo renal agudo, puede emplearse el término “método/s de la presente invención” o “método/s de la invención”.

Según una realización preferida del método de la presente invención, el individuo es un humano. El individuo del método de la invención puede ser un animal ya que el citado método es útil para usos veterinarios.

Otro aspecto de la presente invención es el uso de al menos una proteína, o cualquiera de sus combinaciones, seleccionada de la lista que comprende:

- una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 1 ó SEQ ID NO: 2, o cualquiera de sus fragmentos,
- una proteína con al menos un 80% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 3 a 11, o cualquiera de sus fragmentos, o
- una proteína con al menos un 90% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 12 a 14, o cualquiera de sus fragmentos,

como biomarcador para determinar un daño renal o para predecir la progresión de un daño renal.

Una realización preferida se refiere al uso donde se detecta y/o cuantifica al menos una proteína, o cualquiera de sus combinaciones, seleccionada de la lista que comprende SEQ ID NO: 1 a 14, o cualquiera de sus fragmentos.

Otra realización preferida se refiere al uso, donde se determina la concentración de una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a SEQ ID NO: 1 y/o una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a SEQ ID NO: 2, o cualquiera de sus fragmentos. Según una realización más preferida, se detecta y/o cuantifica la proteína SEQ ID NO: 1 y/o SEQ ID NO: 2, o cualquiera de sus fragmentos.

Este biomarcador indica un cambio en la expresión o estado de una proteína relacionada con un daño renal o con la progresión de un daño renal. Una vez que el bioindicador ha sido validado, puede ser utilizado para diagnosticar un daño renal, la progresión de un daño renal o para adecuar tratamientos a un individuo para dicho daño renal, por ejemplo, tratamiento con diversas drogas o regímenes de administración.

Si un tratamiento altera la presencia o la concentración de biomarcador detectado que tiene una relación directa con el riesgo de sufrir un daño renal, el bioindicador sirve como un *informador* para modificar cualquier tratamiento o exposición a cualquier agente nefrotóxico.

Una realización preferida del uso de una proteína o cualquier fragmento de la misma es el uso donde el daño renal o la progresión del daño renal es debido a la administración de, al menos, un agente nefrotóxico. Según una realización más preferida del uso de una proteína o cualquier fragmento de la misma, el agente nefrotóxico es un antibiótico aminoglucósido. Otra realización aún más preferida es el uso donde el antibiótico aminoglucósido es gentamicina.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un kit para determinar un daño renal, para obtener datos útiles para la determinación de un daño renal o para predecir la progresión de un daño renal, en una muestra aislada de un individuo, que comprende, al menos, una o más sondas capaces de reconocer al menos una proteína, o cualquiera de sus combinaciones, seleccionada de la lista que comprende

- una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 1 ó SEQ ID NO: 2, o cualquiera de sus fragmentos,

ES 2 356 217 A1

- una proteína con al menos un 80% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 3 a 11, o cualquiera de sus fragmentos, o
- una proteína con al menos un 90% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 12 a 14, o cualquiera de sus fragmentos.

Una realización preferida se refiere al kit, donde la/s sonda/s reconoce/n al menos una proteína, o cualquiera de sus combinaciones, seleccionada de la lista que comprende SEQ ID NO: 1 a 14, o cualquiera de sus fragmentos.

Otra realización preferida se refiere al kit, donde la/s sonda/s reconoce/n una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a SEQ ID NO: 1 y/o una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a SEQ ID NO: 2, o cualquiera de sus fragmentos. Según una realización más preferida, la/s sonda/s reconoce/n la proteína SEQ ID NO: 1 y/o SEQ ID NO: 2, o cualquiera de sus fragmentos.

Una sonda es una sustancia que normalmente está marcada (pero no necesariamente) y que se utiliza para detectar, identificar y/o cuantificar cualquier proteína de la presente invención o cualquier fragmento de la misma.

La sonda puede ser, pero sin limitarse, una sonda que reacciona con grupos thiol, biotina, avidina, estreptavidina o peptina. El soporte sólido es preferiblemente un gel, por ejemplo, pero sin limitarse, un gel de agarosa o un gel de poliacrilamida.

Otra realización preferida se refiere a un kit donde las sondas son anticuerpos capaces de reconocer la proteína o cualquiera de sus fragmentos. Dichos anticuerpos pueden ser policlonales o monoclonales.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra “comprende” y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Las siguientes figuras y ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

Descripción de las figuras

Fig. 1. Muestra la tasa de supervivencia y la aparición de marcadores renales de daño correspondientes a ratas tratadas con gentamicina.

A. Tasa de supervivencia representada como porcentaje de animales supervivientes en cada grupo durante 7 días de tratamiento, B. Imágenes representativas de análisis mediante inmunotransferencia (*Western blot*) de niveles de expresión de la molécula de daño renal 1 (KIM-1) y proteína morfogenética ósea 7 (BMP-7) en homogenados de riñón procedentes de 3 ratas control aleatoriamente seleccionadas y 3 ratas tratadas con gentamicina tras 7 días de tratamiento.

Fig. 2. Muestra imágenes representativas del córtex y papilla de secciones de tejido renal de ratas tratadas con gentamicina.

Imágenes representativas del córtex (A-D) y papilla (E-H) de secciones de tejido renal teñidas con hematoxilina y eosina, procedentes de ratas control (n=3) y ratas tratadas con gentamicina (n=3), aleatoriamente elegidas. Las imágenes A, B, E y F se tomaron con un aumento de 400x, mientras que las imágenes C, D, G y H con un aumento de 1000x.

Fig. 3. Muestra la separación mediante SDS-PAGE de proteínas urinarias procedentes de ratas control y ratas tratadas con gentamicina.

Las proteínas se separaron mediante SDS-PAGE en geles de poliacrilamida al 6% (A) y 15% (B), y teñidas posteriormente con azul brillante de Coomassie. Las proteínas presentes en las bandas (1-24) se determinaron mediante LC-ESI-Q-TOF y relacionadas en la tabla 3.

Hilera 1: patrones de peso molecular. Hilera 2: Orina de control. Hilera 3: orina del grupo de la gentamicina.

Fig. 4. Muestra imágenes de electroforesis de 2 dimensiones (2D) de proteínas diferencialmente expresadas.

El análisis cuantitativo de intensidad usando el programa informático *Image-Master 2D Platinum* (GE Healthcare) reveló 129 proteínas diferencialmente expresadas entre las muestras de orina normal y de gentamicina. Las manchas se marcaron con números correspondientes a los de la tabla 4 y se identificaron mediante LC-ESI-Q-TOF y MALDI-TOF. Cada uno de los geles mostrados en esta figura es representativo de 8 geles obtenidos con orina procedente de animales aleatoriamente seleccionados de cada grupo, cada uno de ellos analizado por duplicado.

ES 2 356 217 A1

REIVINDICACIONES

1. Método para determinar un daño renal, que comprende:

- a. obtener una muestra biológica aislada de un individuo, y
- b. detectar y/o cuantificar en la muestra obtenida en el paso (a) una proteína con al menos un 80% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 5.

2. Método según la reivindicación 1, donde se detecta y/o cuantifica la proteína SEQ ID NO: 5.

3. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, donde además comprende detectar y/o cuantificar en la muestra obtenida en el paso (a) una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 1.

4. Método según la reivindicación 3, donde se detecta y/o cuantifica la proteína SEQ ID NO: 1.

5. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde además comprende detectar y/o cuantificar en la muestra al menos una proteína, o cualquiera de sus combinaciones, seleccionada de la lista que comprende:

- una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 2,
- una proteína con al menos un 80% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10 u 11,
- una proteína con al menos un 90% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 12 a 14.

6. Método según la reivindicación 5, donde se detecta y/o cuantifica al menos una proteína, o cualquiera de sus combinaciones, seleccionada de la lista que comprende SEQ ID NO: 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 ó 14.

7. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde además comprende la comparación de los datos obtenidos en el apartado (b) con datos obtenidos de al menos una muestra control para buscar alguna desviación significativa, siendo dicha desviación significativa la presencia de la proteína en la muestra aislada, o una mayor concentración de la proteína en la muestra respecto de una muestra control aislada.

8. Método para la determinación de un daño renal según la reivindicación 7, donde además comprende la atribución de la desviación significativa al desarrollo de dicho daño renal, en el individuo.

9. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde el daño renal es un fallo renal agudo.

10. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde la muestra biológica del apartado (a) es un fluido biológico.

11. Método según la reivindicación 10, donde el fluido biológico es orina.

12. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde la proteína es detectada y/o cuantificada por medio de electroforesis, inmunoensayo, cromatografía y/o tecnología de microarray.

13. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde el daño renal es producido por la administración o por la exposición del individuo a, al menos, un agente nefrotóxico.

14. Método según la reivindicación 13, donde el agente nefrotóxico es un antibiótico aminoglucósido.

15. Método según la reivindicación 14, donde el antibiótico aminoglucósido es gentamicina.

16. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, donde el individuo es un humano.

17. Método para determinar la progresión de un daño renal debido a la administración de, al menos, un agente nefrotóxico, que comprende:

- a. determinar una primera concentración de una proteína con al menos un 80% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 5,

en un fluido biológico aislado de un individuo expuesto o no expuesto a un agente nefrotóxico,

ES 2 356 217 A1

b. determinar una segunda concentración de la proteína, cuya concentración se ha determinado en el apartado (a) en un fluido biológico del individuo después de determinar la primera concentración en el fluido biológico del individuo expuesto, o después de la iniciación de la administración o exposición al agente nefrotóxico en el individuo no expuesto, y

c. comparar la segunda concentración obtenida en el apartado (b) con la primera concentración obtenida en el apartado (a) para buscar alguna desviación significativa, siendo dicha desviación significativa la presencia de la proteína en la muestra aislada, o una mayor concentración de la proteína en la muestra respecto de una muestra control aislada.

18. Método según la reivindicación 17, donde en el apartado (a) y (b) se detecta y/o cuantifica la proteína SEQ ID NO: 5.

19. Método según cualquiera de las reivindicaciones 17 ó 18, donde además comprende detectar y/o cuantificar en la muestra obtenida en el paso (a) una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 1.

20. Método según la reivindicación 19, donde se detecta y/o cuantifica la proteína SEQ ID NO: 1.

21. Método según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 20, donde además comprende detectar y/o cuantificar en la muestra al menos una proteína, o cualquiera de sus combinaciones, seleccionada de la lista que comprende:

- una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 2,

- una proteína con al menos un 80% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10 u 11,

- una proteína con al menos un 90% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 12 a 14.

22. Método según la reivindicación 21, donde se detecta y/o cuantifica al menos una proteína, o cualquiera de sus combinaciones, seleccionada de la lista que comprende SEQ ID NO: 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 ó 14.

23. Método según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 22, donde el daño renal es un fallo renal agudo.

24. Método según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 23, donde el agente nefrotóxico es un antibiótico aminoglucósido.

25. Método según la reivindicación 24, donde el antibiótico aminoglucósido es gentamicina.

26. Método según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 25, donde el fluido biológico es orina.

27. Método según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 26, donde el individuo es un humano.

28. Uso de una proteína con al menos un 80% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 5 como biomarcador para determinar un daño renal o para predecir la progresión de un daño renal.

29. Uso según la reivindicación 28, donde la proteína con al menos un 80% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 5 es SEQ ID NO: 5.

30. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 28 ó 29, donde además comprende el uso de una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 1.

31. Uso según la reivindicación 30, donde la proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 1 es SEQ ID NO: 1.

32. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 28 a 31, donde además comprende el uso de al menos una proteína, o cualquiera de sus combinaciones, seleccionada de la lista que comprende:

- una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 2,

- una proteína con al menos un 80% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10 u 11,

- una proteína con al menos un 90% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 12 a 14.

ES 2 356 217 A1

33. Uso según la reivindicación 32, donde se selecciona al menos una proteína, o cualquiera de sus combinaciones, de la lista que comprende SEQ ID NO: 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 ó 14.

34. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 28 a 33, donde el daño renal es un fallo renal agudo.

35. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 28 a 34, donde el daño renal o la progresión del daño renal es debido a la administración de, al menos, un agente nefrotóxico.

36. Uso según la reivindicación 35, donde el agente nefrotóxico es un antibiótico aminoglucósido.

37. Kit para determinar un daño renal o para determinar la progresión de un daño renal, en una muestra aislada de un individuo, que comprende, al menos, una o más sondas para una proteína con al menos un 80% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 5.

38. Kit según la reivindicación 37, donde la proteína con al menos un 80% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 5 es SEQ ID NO: 5.

39. Kit según cualquiera de las reivindicaciones 37 ó 38, donde además comprende el uso de una o más sondas para una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 1.

40. Kit según la reivindicación 39, donde la proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 1 es SEQ ID NO: 1.

41. Kit según cualquiera de las reivindicaciones 37 a 40, donde además comprende el uso de una o más sondas para al menos una proteína, o cualquiera de sus combinaciones, seleccionada de la lista que comprende:

- una proteína con al menos un 60% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 2,
- una proteína con al menos un 80% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10 u 11,
- una proteína con al menos un 90% de identidad con respecto a la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 12 a 14.

42. Kit según la reivindicación 41, donde se selecciona al menos una proteína, o cualquiera de sus combinaciones, de la lista que comprende SEQ ID NO: 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 ó 14.

43. Kit según cualquiera de las reivindicaciones 37 a 42, donde las sondas son fijadas a un soporte sólido.

44. Kit según cualquiera de las reivindicaciones 37 a 43, donde las sondas son anticuerpos.

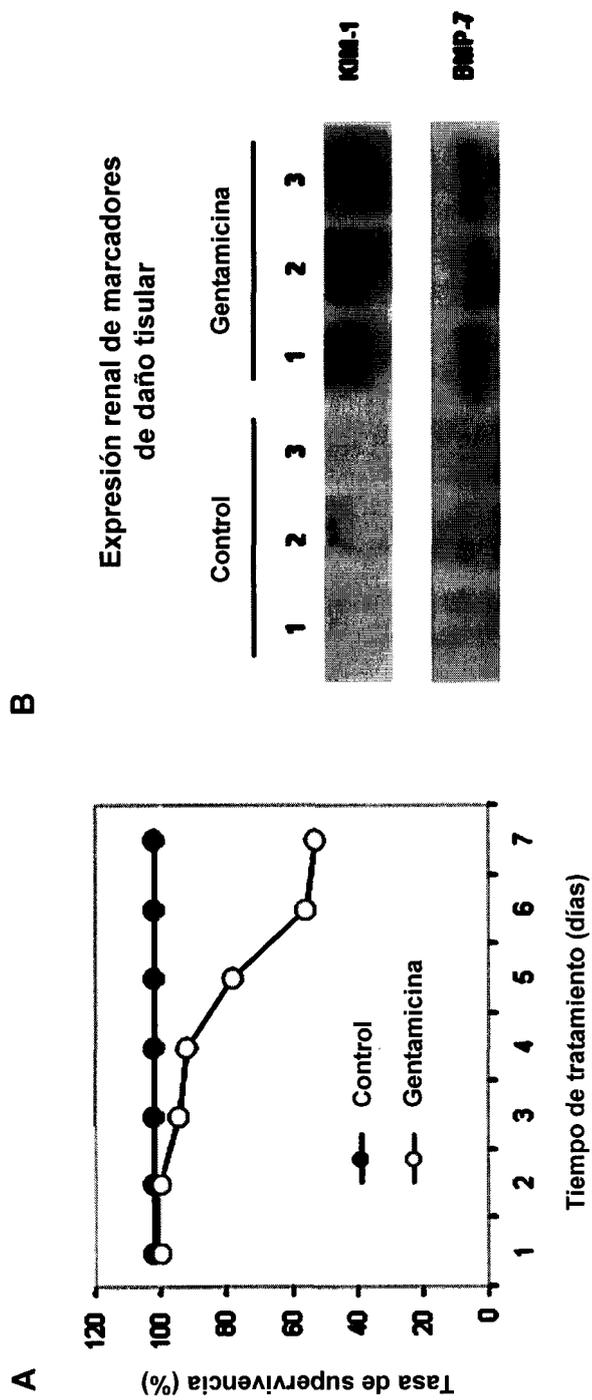


FIG. 1

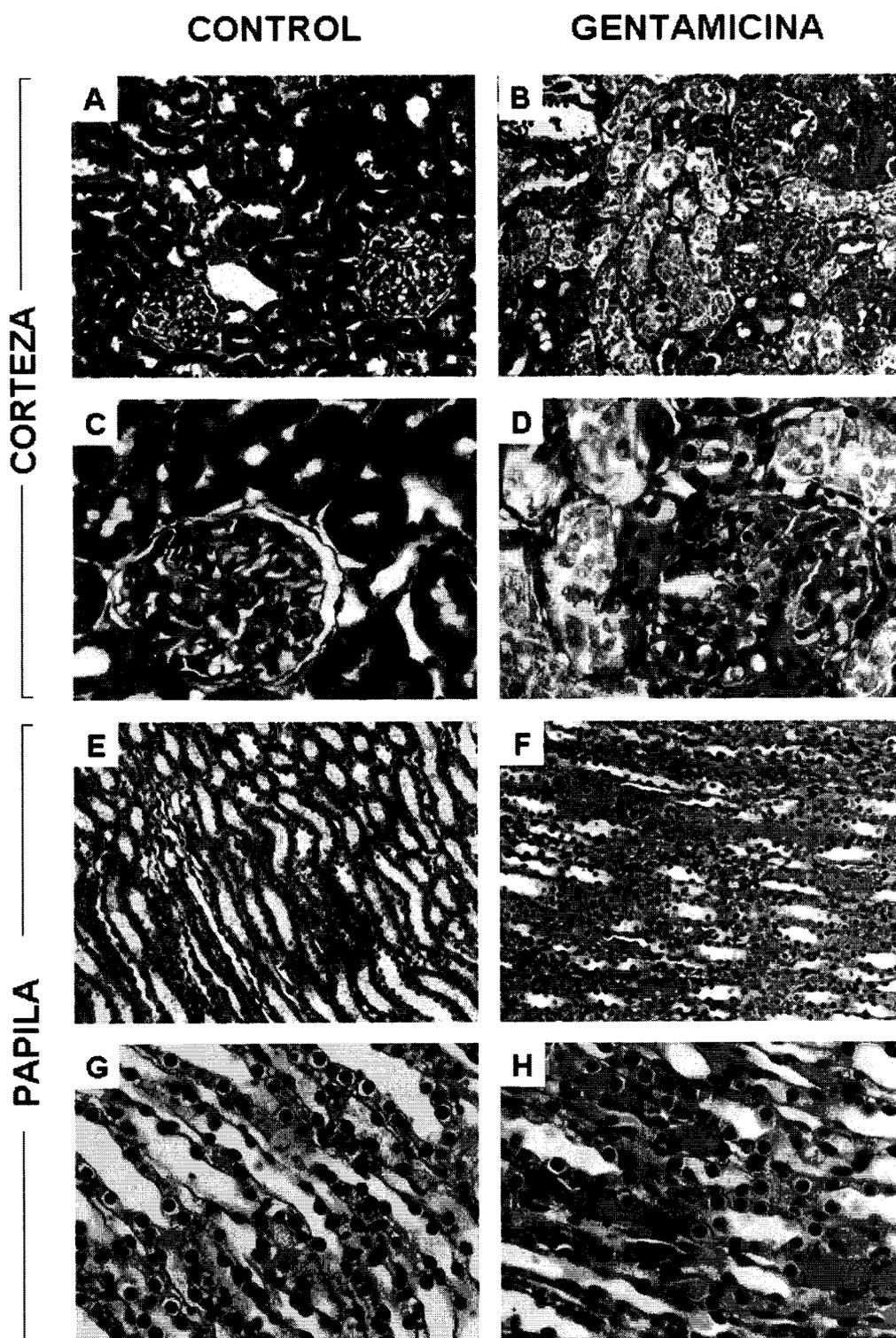


FIG. 2

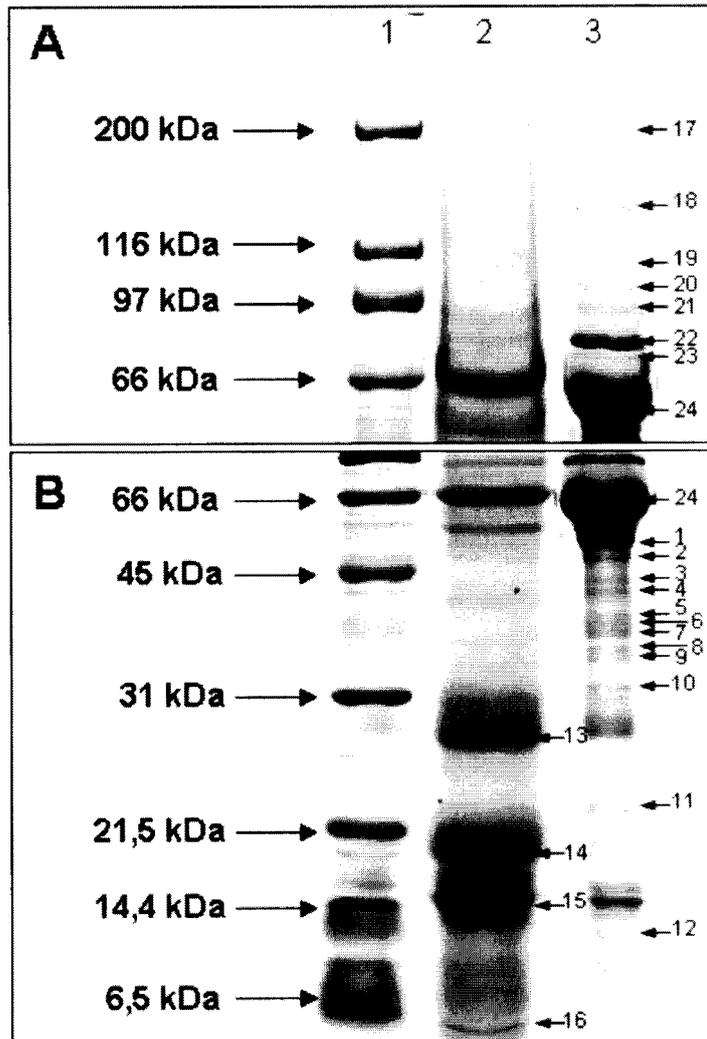


FIG. 3

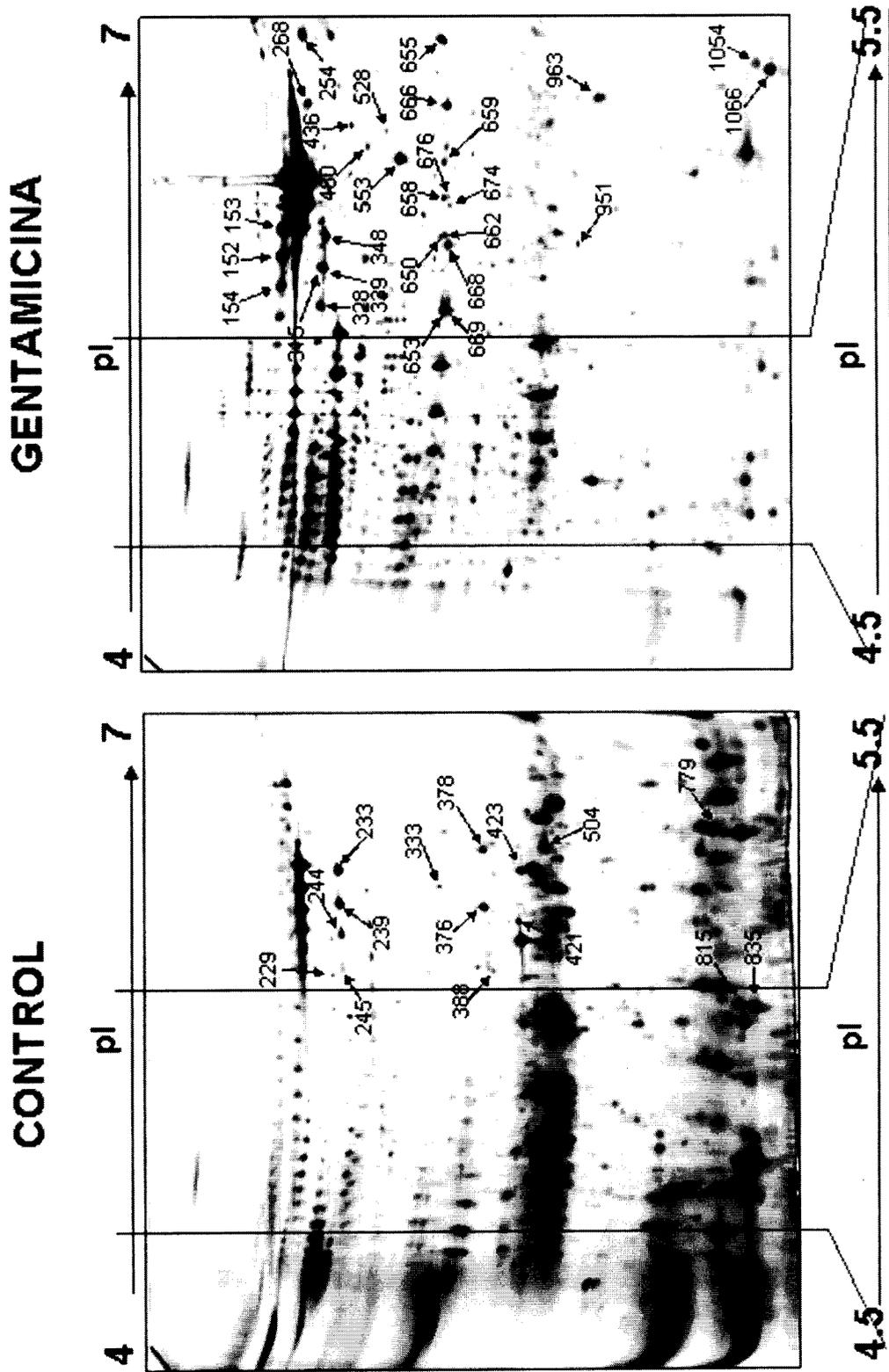


FIG. 4

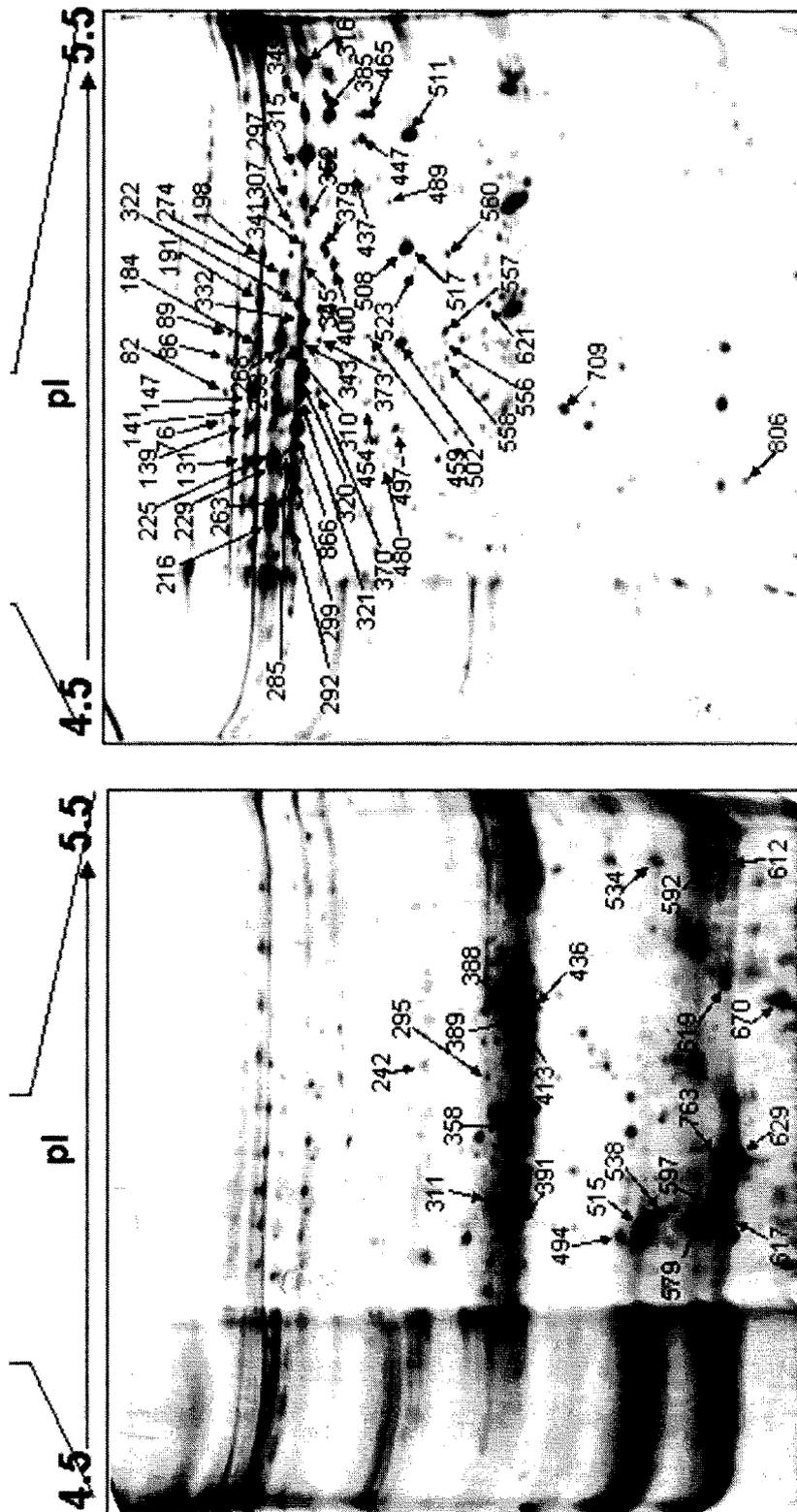


FIG. 4 (Cont.)

ES 2 356 217 A1

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Universidad de Salamanca

5 <120> Método para la detección de daño renal

<130> 1367.34

10 <160> 14

<170> PatentIn version 3.5

15 <210> 1

<211> 175

<212> PRT

20 <213> *Homo sapiens*

<400> 1

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

<210> 2

<211> 382

65 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

ES 2 356 217 A1

<400> 2

5	Met 1	Gly	Leu	Leu	Leu 5	Pro	Leu	Ala	Leu	Cys 10	Ile	Leu	Val	Leu	Cys 15	Cys
	Gly	Ala	Met	Ser 20	Pro	Pro	Gln	Leu	Ala 25	Leu	Asn	Pro	Ser	Ala 30	Leu	Leu
10	Ser	Arg	Gly 35	Cys	Asn	Asp	Ser	Asp 40	Val	Leu	Ala	Val	Ala 45	Gly	Phe	Ala
15	Leu	Arg 50	Asp	Ile	Asn	Lys	Asp 55	Arg	Lys	Asp	Gly	Tyr 60	Val	Leu	Arg	Leu
20	Asn 65	Arg	Val	Asn	Asp	Ala 70	Gln	Glu	Tyr	Arg	Arg 75	Gly	Gly	Leu	Gly	Ser 80
25	Leu	Phe	Tyr	Leu	Thr 85	Leu	Asp	Val	Leu	Glu 90	Thr	Asp	Cys	His	Val 95	Leu
30	Arg	Lys	Lys	Ala 100	Trp	Gln	Asp	Cys	Gly 105	Met	Arg	Ile	Phe	Phe 110	Glu	Ser
35	Val	Tyr	Gly 115	Gln	Cys	Lys	Ala	Ile 120	Phe	Tyr	Met	Asn	Asn 125	Pro	Ser	Arg
40	Val	Leu 130	Tyr	Leu	Ala	Ala	Tyr 135	Asn	Cys	Thr	Leu	Arg 140	Pro	Val	Ser	Lys
45	Lys 145	Lys	Ile	Tyr	Met	Thr 150	Cys	Pro	Asp	Cys	Pro 155	Ser	Ser	Ile	Pro	Thr 160
50	Asp	Ser	Ser	Asn	His 165	Gln	Val	Leu	Glu	Ala 170	Ala	Thr	Glu	Ser	Leu	Ala 175
55	Lys	Tyr	Asn	Asn 180	Glu	Asn	Thr	Ser	Lys 185	Gln	Tyr	Ser	Leu	Phe 190	Lys	Val
60	Thr	Arg	Ala 195	Ser	Ser	Gln	Trp	Val 200	Val	Gly	Pro	Ser	Tyr 205	Phe	Val	Glu
65	Tyr	Leu 210	Ile	Lys	Glu	Ser	Pro 215	Cys	Thr	Lys	Ser	Gln 220	Ala	Ser	Ser	Cys
70	Ser 225	Leu	Gln	Ser	Ser	Asp 230	Ser	Val	Pro	Val	Gly 235	Leu	Cys	Lys	Gly	Ser 240
75	Leu	Thr	Arg	Thr	His 245	Trp	Glu	Lys	Phe	Val 250	Ser	Val	Thr	Cys	Asp 255	Phe
80	Phe	Glu	Ser	Gln 260	Ala	Pro	Ala	Thr	Gly 265	Ser	Glu	Asn	Ser	Ala 270	Val	Asn

ES 2 356 217 A1

Gln Lys Pro Thr Asn Leu Pro Lys Val Glu Glu Ser Gln Gln Lys Asn
 275 280 285
 5 Thr Pro Pro Thr Asp Ser Pro Ser Lys Ala Gly Pro Arg Gly Ser Val
 290 295 300
 10 Gln Tyr Leu Pro Asp Leu Asp Asp Lys Asn Ser Gln Glu Lys Gly Pro
 305 310 315 320
 15 Gln Glu Ala Phe Pro Val His Leu Asp Leu Thr Thr Asn Pro Gln Gly
 325 330 335
 20 Glu Thr Leu Asp Ile Ser Phe Leu Phe Leu Glu Pro Met Glu Glu Lys
 340 345 350
 25 Leu Val Val Leu Pro Phe Pro Lys Glu Lys Ala Arg Thr Ala Glu Cys
 355 360 365
 30 Pro Gly Pro Ala Gln Asn Ala Ser Pro Leu Val Leu Pro Pro
 370 375 380
 <210> 3
 <211> 413
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 3
 35 Met Ala Phe Ile Ala Ala Leu Gly Leu Leu Met Ala Gly Ile Cys Pro
 1 5 10 15
 40 Ala Val Leu Cys Asp Gly Thr Leu Gly Arg Asp Thr Leu Ser His Glu
 20 25 30
 45 Asp His Gly Lys Gly Arg Gln Leu His Ser Leu Thr Leu Ala Ser Ser
 35 40 45
 50 Asn Thr Asp Phe Ala Leu Ser Leu Tyr Lys Lys Leu Ala Leu Arg Asn
 50 55 60
 55 Pro Asp Lys Asn Val Val Phe Ser Pro Leu Ser Ile Ser Ala Ala Leu
 65 70 75 80
 60 Thr Ile Leu Ser Leu Gly Ala Lys Asp Ser Thr Met Glu Glu Ile Leu
 85 90 95
 65 Glu Gly Leu Lys Phe Asn Leu Thr Glu Ile Thr Glu Glu Glu Ile His
 100 105 110
 70 Gln Gly Phe Gly His Leu Leu Gln Arg Leu Ser Gln Pro Glu Asp Gln
 115 120 125
 75 Val Glu Ile Asn Thr Gly Ser Ala Leu Phe Ile Asp Lys Glu Gln Pro
 130 135 140

ES 2 356 217 A1

	Ile	Leu	Ser	Glu	Phe	Gln	Glu	Lys	Thr	Arg	Ala	Leu	Tyr	Gln	Ala	Glu
	145					150					155					160
5	Ala	Phe	Val	Ala	Asp	Phe	Lys	Gln	Pro	Asn	Glu	Ala	Lys	Lys	Leu	Ile
					165					170					175	
10	Asn	Asp	Tyr	Val	Ser	Asn	Gln	Thr	Gln	Gly	Lys	Ile	Ala	Glu	Leu	Phe
				180					185					190		
15	Ser	Asp	Leu	Glu	Glu	Arg	Thr	Ser	Met	Val	Leu	Val	Asn	Tyr	Leu	Leu
			195					200						205		
20	Phe	Lys	Gly	Lys	Trp	Lys	Ala	Pro	Phe	Asn	Pro	Asn	Asp	Thr	Ile	Glu
		210					215					220				
25	Ser	Glu	Phe	Tyr	Leu	Asp	Glu	Lys	Arg	Ser	Val	Lys	Val	Pro	Met	Met
	225					230					235					240
30	Lys	Ile	Lys	Glu	Val	Thr	Thr	Pro	Tyr	Val	Arg	Asp	Glu	Glu	Leu	Ser
					245					250					255	
35	Cys	Ser	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Tyr	Thr	Gly	Asn	Ala	Ser	Ala	Leu	Phe
				260					265					270		
40	Ile	Leu	Pro	Asp	Gln	Gly	Lys	Met	Gln	Gln	Val	Glu	Ser	Ser	Leu	Gln
			275					280					285			
45	Pro	Glu	Thr	Leu	Lys	Lys	Trp	Lys	Asp	Ser	Leu	Ile	Pro	Arg	Ile	Ile
		290					295					300				
50	Asn	Asp	Leu	Arg	Met	Pro	Lys	Phe	Ser	Ile	Ser	Thr	Asp	Tyr	Ser	Leu
	305					310					315					320
55	Lys	Glu	Val	Leu	Pro	Glu	Leu	Gly	Ile	Lys	Lys	Val	Phe	Ser	Gln	Gln
					325					330					335	
60	Ala	Asp	Leu	Ser	Arg	Ile	Thr	Gly	Thr	Lys	Asp	Leu	Tyr	Val	Ser	Gln
				340					345					350		
65	Val	Val	His	Lys	Ala	Val	Leu	Asp	Val	Asp	Glu	Thr	Gly	Thr	Glu	Ala
			355					360					365			
70	Thr	Ala	Ala	Thr	Gly	Val	Ala	Thr	Val	Ile	Arg	Arg	Gln	Pro	Arg	Thr
		370					375					380				
75	Leu	Asn	Phe	Asn	Arg	Pro	Phe	Met	Val	Val	Ile	Thr	Asp	Met	Asp	Ser
	385					390					395					400
80	Gln	Ser	Ile	Leu	Phe	Val	Ala	Lys	Ile	Thr	Asn	Pro	Lys			
					405					410						

65 <210> 4
 <211> 298

ES 2 356 217 A1

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

5 <400> 4

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

ES 2 356 217 A1

	Lys	Gly	Arg 195	Arg	Val	Val	Arg	Ala 200	Thr	Glu	Val	Pro	Val 205	Ser	Trp	Glu
5	Ser	Phe 210	Asn	Asn	Gly	Asp	Cys 215	Phe	Ile	Leu	Asp	Leu 220	Gly	Asn	Asn	Ile
10	His 225	Gln	Trp	Cys	Gly	Ser 230	Asn	Ser	Asn	Arg	Tyr 235	Glu	Arg	Leu	Lys	Ala 240
15	Thr	Gln	Val	Ser	Lys 245	Gly	Ile	Arg	Asp	Asn 250	Glu	Arg	Ser	Gly	Arg 255	Ala
20	Arg	Val	His	Val 260	Ser	Glu	Glu	Gly	Thr 265	Glu	Pro	Glu	Ala	Met 270	Leu	Gln
25	Val	Leu	Gly 275	Pro	Lys	Pro	Ala	Leu 280	Pro	Ala	Gly	Thr	Glu 285	Asp	Thr	Ala
30	Lys	Glu 290	Asp	Ala	Ala	Asn	Arg 295	Lys	Leu	Ala	Lys	Leu 300	Tyr	Lys	Val	Ser
35	Asn 305	Gly	Ala	Gly	Thr	Met 310	Ser	Val	Ser	Leu	Val 315	Ala	Asp	Glu	Asn	Pro 320
40	Phe	Ala	Gln	Gly	Ala 325	Leu	Lys	Ser	Glu	Asp 330	Cys	Phe	Ile	Leu	Asp 335	His
45	Gly	Lys	Asp	Gly 340	Lys	Ile	Phe	Val	Trp 345	Lys	Gly	Lys	Gln	Ala 350	Asn	Thr
50	Glu	Glu	Arg 355	Lys	Ala	Ala	Leu	Lys 360	Thr	Ala	Ser	Asp	Phe 365	Ile	Thr	Lys
55	Met	Asp 370	Tyr	Pro	Lys	Gln	Thr 375	Gln	Val	Ser	Val	Leu 380	Pro	Glu	Gly	Gly
60	Glu 385	Thr	Pro	Leu	Phe	Lys 390	Gln	Phe	Phe	Lys	Asn 395	Trp	Arg	Asp	Pro	Asp 400
65	Gln	Thr	Asp	Gly	Leu 405	Gly	Leu	Ser	Tyr	Leu 410	Ser	Ser	His	Ile	Ala 415	Asn
70	Val	Glu	Arg	Val 420	Pro	Phe	Asp	Ala	Ala 425	Thr	Leu	His	Thr	Ser 430	Thr	Ala
75	Met	Ala	Ala 435	Gln	His	Gly	Met	Asp 440	Asp	Asp	Gly	Thr	Gly 445	Gln	Lys	Gln
80	Ile	Trp 450	Arg	Ile	Glu	Gly	Ser 455	Asn	Lys	Val	Pro	Val 460	Asp	Pro	Ala	Thr

ES 2 356 217 A1

Tyr Gly Gln Phe Tyr Gly Gly Asp Ser Tyr Ile Ile Leu Tyr Asn Tyr
 465 470 475 480

5 Arg His Gly Gly Arg Gln Gly Gln Ile Ile Tyr Asn Trp Gln Gly Ala
 485 490 495

10 Gln Ser Thr Gln Asp Glu Val Ala Ala Ser Ala Ile Leu Thr Ala Gln
 500 505 510

15 Leu Asp Glu Glu Leu Gly Gly Thr Pro Val Gln Ser Arg Val Val Gln
 515 520 525

20 Gly Lys Glu Pro Ala His Leu Met Ser Leu Phe Gly Gly Lys Pro Met
 530 535 540

25 Ile Ile Tyr Lys Gly Gly Thr Ser Arg Glu Gly Gly Gln Thr Ala Pro
 545 550 555 560

30 Ala Ser Thr Arg Leu Phe Gln Val Arg Ala Asn Ser Ala Gly Ala Thr
 565 570 575

35 Arg Ala Val Glu Val Leu Pro Lys Ala Gly Ala Leu Asn Ser Asn Asp
 580 585 590

40 Ala Phe Val Leu Lys Thr Pro Ser Ala Ala Tyr Leu Trp Val Gly Thr
 595 600 605

45 Gly Ala Ser Glu Ala Glu Lys Thr Gly Ala Gln Glu Leu Leu Arg Val
 610 615 620

50 Leu Arg Ala Gln Pro Val Gln Val Ala Glu Gly Ser Glu Pro Asp Gly
 625 630 635 640

55 Phe Trp Glu Ala Leu Gly Gly Lys Ala Ala Tyr Arg Thr Ser Pro Arg
 645 650 655

60 Leu Lys Asp Lys Lys Met Asp Ala His Pro Pro Arg Leu Phe Ala Cys
 660 665 670

65 Ser Asn Lys Ile Gly Arg Phe Val Ile Glu Glu Val Pro Gly Glu Leu
 675 680 685

70 Met Gln Glu Asp Leu Ala Thr Asp Asp Val Met Leu Leu Asp Thr Trp
 690 695 700

75 Asp Gln Val Phe Val Trp Val Gly Lys Asp Ser Gln Glu Glu Glu Lys
 705 710 715 720

80 Thr Glu Ala Leu Thr Ser Ala Lys Arg Tyr Ile Glu Thr Asp Pro Ala
 725 730 735

85 Asn Arg Asp Arg Arg Thr Pro Ile Thr Val Val Lys Gln Gly Phe Glu

ES 2 356 217 A1

	740	745	750
5	Pro Pro Ser Phe Val Gly Trp	Phe Leu Gly Trp Asp	Asp Asp Tyr Trp
	755	760	765
10	Ser Val Asp Pro Leu Asp Arg Ala Met Ala Glu Leu Ala Ala		
	770	775	780
10	<210> 6		
	<211> 137		
	<212> PRT		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 6		
20	Met Ser Ser Leu Ile Arg Arg Val Ile Ser Thr Ala Lys Ala Pro Gly		
	1	5	10
25	Ala Ile Gly Pro Tyr Ser Gln Ala Val Leu Val Asp Arg Thr Ile Tyr		
	20	25	30
30	Ile Ser Gly Gln Ile Gly Met Asp Pro Ser Ser Gly Gln Leu Val Ser		
	35	40	45
35	Gly Gly Val Ala Glu Glu Ala Lys Gln Ala Leu Lys Asn Met Gly Glu		
	50	55	60
40	Ile Leu Lys Ala Ala Gly Cys Asp Phe Thr Asn Val Val Lys Thr Thr		
	65	70	75
45	Val Leu Leu Ala Asp Ile Asn Asp Phe Asn Thr Val Asn Glu Ile Tyr		
	85	90	95
50	Lys Gln Tyr Phe Lys Ser Asn Phe Pro Ala Arg Ala Ala Tyr Gln Val		
	100	105	110
55	Ala Ala Leu Pro Lys Gly Ser Arg Ile Glu Ile Glu Ala Val Ala Ile		
	115	120	125
60	Gln Gly Pro Leu Thr Thr Ala Ser Leu		
	130	135	
60	<210> 7		
	<211> 408		
	<212> PRT		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
65	<400> 7		
65	Met Thr Ser Lys Gly Pro Glu Glu Glu His Pro Ser Val Thr Leu Phe		
	1	5	10
65	Arg Gln Tyr Leu Arg Ile Arg Thr Val Gln Pro Lys Pro Asp Tyr Gly		
	20	25	30

ES 2 356 217 A1

	Ala	Ala	Val 35	Ala	Phe	Phe	Glu	Glu 40	Thr	Ala	Arg	Gln	Leu 45	Gly	Leu	Gly
5	Cys	Gln 50	Lys	Val	Glu	Val	Ala 55	Pro	Gly	Tyr	Val	Val 60	Thr	Val	Leu	Thr
10	Trp 65	Pro	Gly	Thr	Asn	Pro 70	Thr	Leu	Ser	Ser	Ile 75	Leu	Leu	Asn	Ser	His 80
15	Thr	Asp	Val	Val	Pro 85	Val	Phe	Lys	Glu	His 90	Trp	Ser	His	Asp	Pro 95	Phe
20	Glu	Ala	Phe	Lys 100	Asp	Ser	Glu	Gly	Tyr 105	Ile	Tyr	Ala	Arg	Gly 110	Ala	Gln
25	Asp	Met	Lys 115	Cys	Val	Ser	Ile	Gln 120	Tyr	Leu	Glu	Ala	Val 125	Arg	Arg	Leu
30	Lys	Val 130	Glu	Gly	His	Arg	Phe 135	Pro	Arg	Thr	Ile	His 140	Met	Thr	Phe	Val
35	Pro 145	Asp	Glu	Glu	Val	Gly 150	Gly	His	Gln	Gly	Met 155	Glu	Leu	Phe	Val	Gln 160
40	Arg	Pro	Glu	Phe	His 165	Ala	Leu	Arg	Ala	Gly 170	Phe	Ala	Leu	Asp	Glu 175	Gly
45	Ile	Ala	Asn	Pro 180	Thr	Asp	Ala	Phe	Thr 185	Val	Phe	Tyr	Ser	Glu 190	Arg	Ser
50	Pro	Trp	Trp 195	Val	Arg	Val	Thr	Ser 200	Thr	Gly	Arg	Pro	Gly 205	His	Ala	Ser
55	Arg	Phe 210	Met	Glu	Asp	Thr	Ala 215	Ala	Glu	Lys	Leu	His 220	Lys	Val	Val	Asn
60	Ser 225	Ile	Leu	Ala	Phe	Arg 230	Glu	Lys	Glu	Trp	Gln 235	Arg	Leu	Gln	Ser	Asn 240
65	Pro	His	Leu	Lys	Glu 245	Gly	Ser	Val	Thr	Ser 250	Val	Asn	Leu	Thr	Lys 255	Leu
70	Glu	Gly	Gly	Val 260	Ala	Tyr	Asn	Val	Ile 265	Pro	Ala	Thr	Met	Ser 270	Ala	Ser
75	Phe	Asp	Phe 275	Arg	Val	Ala	Pro	Asp 280	Val	Asp	Phe	Lys	Ala 285	Phe	Glu	Glu
80	Gln	Leu 290	Gln	Ser	Trp	Cys	Gln 295	Ala	Ala	Gly	Glu	Gly 300	Val	Thr	Leu	Glu
85	Phe	Ala	Gln	Lys	Trp	Met	His	Pro	Gln	Val	Thr	Pro	Thr	Asp	Asp	Ser

ES 2 356 217 A1

Gly Met Asp Val Ala Ala Ser Glu Phe Phe Arg Ser Gly Lys Tyr Asp
 145 150 155 160
 5 Leu Asp Phe Lys Ser Pro Asp Asp Pro Ser Arg Tyr Ile Ser Pro Asp
 165 170 175
 10 Gln Leu Ala Asp Leu Tyr Lys Ser Phe Ile Lys Asp Tyr Pro Val Val
 180 185 190
 15 Ser Ile Glu Asp Pro Phe Asp Gln Asp Asp Trp Gly Ala Trp Gln Lys
 195 200 205
 Phe Thr Ala Ser Ala Gly Ile Gln Val Val Gly Asp Asp Leu Thr Val
 210 215 220
 20 Thr Asn Pro Lys Arg Ile Ala Lys Ala Val Asn Glu Lys Ser Cys Asn
 225 230 235 240
 25 Cys Leu Leu Leu Lys Val Asn Gln Ile Gly Ser Val Thr Glu Ser Leu
 245 250 255
 30 Gln Ala Cys Lys Leu Ala Gln Ala Asn Gly Trp Gly Val Met Val Ser
 260 265 270
 35 His Arg Ser Gly Glu Thr Glu Asp Thr Phe Ile Ala Asp Leu Val Val
 275 280 285
 40 Gly Leu Cys Thr Gly Gln Ile Lys Thr Gly Ala Pro Cys Arg Ser Glu
 290 295 300
 45 Arg Leu Ala Lys Tyr Asn Gln Leu Leu Arg Ile Glu Glu Glu Leu Gly
 305 310 315 320
 Ser Lys Ala Lys Phe Ala Gly Arg Asn Phe Arg Asn Pro Leu Ala Lys
 325 330 335
 <210> 9
 <211> 590
 <212> PRT
 50 <213> *Homo sapiens*
 <400> 9
 55 Met Ser Arg Gln Ser Ser Val Ser Phe Arg Ser Gly Gly Ser Arg Ser
 1 5 10 15
 60 Phe Ser Thr Ala Ser Ala Ile Thr Pro Ser Val Ser Arg Thr Ser Phe
 20 25 30
 Thr Ser Val Ser Arg Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Phe Gly Arg
 35 40 45
 65 Val Ser Leu Ala Gly Ala Cys Gly Val Gly Gly Tyr Gly Ser Arg Ser

ES 2 356 217 A1

	50				55						60					
5	Leu 65	Tyr	Asn	Leu	Gly 70	Gly	Ser	Lys	Arg	Ile	Ser 75	Ile	Ser	Thr	Ser	Gly 80
10	Gly	Ser	Phe	Arg	Asn 85	Arg	Phe	Gly	Ala	Gly 90	Ala	Gly	Gly	Gly	Tyr 95	Gly
15	Phe	Gly	Gly	Gly 100	Ala	Gly	Ser	Gly	Phe 105	Gly	Phe	Gly	Gly	Gly 110	Ala	Gly
20	Gly	Gly	Phe 115	Gly	Leu	Gly	Gly	Gly 120	Ala	Gly	Phe	Gly	Gly 125	Gly	Phe	Gly
25	Gly	Pro 130	Gly	Phe	Pro	Val	Cys 135	Pro	Pro	Gly	Gly	Ile 140	Gln	Glu	Val	Thr
30	Val 145	Asn	Gln	Ser	Leu	Leu 150	Thr	Pro	Leu	Asn	Leu 155	Gln	Ile	Asp	Pro	Ser 160
35	Ile	Gln	Arg	Val	Arg 165	Thr	Glu	Glu	Arg	Glu 170	Gln	Ile	Lys	Thr	Leu 175	Asn
40	Asn	Lys	Phe	Ala 180	Ser	Phe	Ile	Asp	Lys 185	Val	Arg	Phe	Leu	Glu 190	Gln	Gln
45	Asn	Lys	Val 195	Leu	Asp	Thr	Lys	Trp 200	Thr	Leu	Leu	Gln	Glu 205	Gln	Gly	Thr
50	Lys	Thr 210	Val	Arg	Gln	Asn	Leu 215	Glu	Pro	Leu	Phe	Glu 220	Gln	Tyr	Ile	Asn
55	Asn 225	Leu	Arg	Arg	Gln	Leu 230	Asp	Ser	Ile	Val	Gly 235	Glu	Arg	Gly	Arg	Leu 240
60	Asp	Ser	Glu	Leu	Arg 245	Asn	Met	Gln	Asp	Leu 250	Val	Glu	Asp	Phe	Lys 255	Asn
65	Lys	Tyr	Glu	Asp 260	Glu	Ile	Asn	Lys	Arg 265	Thr	Thr	Ala	Glu	Asn 270	Glu	Phe
70	Val	Met	Leu 275	Lys	Lys	Asp	Val	Asp 280	Ala	Ala	Tyr	Met	Asn 285	Lys	Val	Glu
75	Leu	Glu 290	Ala	Lys	Val	Asp	Ala 295	Leu	Met	Asp	Glu	Ile 300	Asn	Phe	Met	Lys
80	Met 305	Phe	Phe	Asp	Ala	Glu 310	Leu	Ser	Gln	Met	Gln 315	Thr	His	Val	Ser	Asp 320
85	Thr	Ser	Val	Val	Leu 325	Ser	Met	Asp	Asn	Asn 330	Arg	Asn	Leu	Asp	Leu 335	Asp

ES 2 356 217 A1

<400> 10

5 Met Ser Met Thr Asp Leu Leu Asn Ala Glu Asp Ile Lys Lys Ala Val
1 5 10

Gly Ala Phe Ser Ala Thr Asp Ser Phe Asp His Lys Lys Phe Phe Gln
20

10 Met Val Gly Leu Lys Lys Lys Ser Ala Asp Asp Val Lys Lys Val Phe
35 40 45

15 His Met Leu Asp Lys Asp Lys Ser Gly Phe Ile Glu Glu Asp Glu Leu
50 55 60

20 Gly Phe Ile Leu Lys Gly Phe Ser Pro Asp Ala Arg Asp Leu Ser Ala
65 70 75 80

Lys Glu Thr Lys Met Leu Met Ala Ala Gly Asp Lys Asp Gly Asp Gly
85 90 95

25 Lys Ile Gly Val Asp Glu Phe Ser Thr Leu Val Ala Glu Ser
100 105 110

30 <210> 11
<211> 119
<212> PRT
35 <213> *Homo sapiens*

<400> 11

40 Gln Asp Gly Met Tyr Gln Arg Phe Leu Arg Gln His Val His Pro Glu
1 5 10

Glu Thr Gly Gly Ser Asp Arg Tyr Cys Asp Leu Met Met Gln Arg Arg
20 25 30

45 Lys Met Thr Leu Tyr His Cys Lys Arg Phe Asn Thr Phe Ile His Glu
35 40 45

50 Asp Ile Trp Asn Ile Arg Ser Ile Cys Ser Thr Thr Asn Ile Gln Cys
50 55 60

55 Lys Asn Gly Lys Met Asn Cys His Glu Gly Val Val Lys Val Thr Asp
65 70 75 80

Cys Arg Asp Thr Gly Ser Ser Arg Ala Pro Asn Cys Arg Tyr Arg Ala
85 90 95

60 Ile Ala Ser Thr Arg Arg Val Val Ile Ala Cys Glu Gly Asn Pro Gln
100 105 110

65 Val Pro Val His Phe Asp Gly
115

ES 2 356 217 A1

<210> 12

<211> 413

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 12

```

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

```

ES 2 356 217 A1

Lys Ile Lys Glu Val Thr Thr Pro Tyr Val Arg Asp Glu Glu Leu Ser
 245 250 255
 5 Cys Ser Val Leu Glu Leu Lys Tyr Thr Gly Asn Ala Ser Ala Leu Phe
 260 265 270
 10 Ile Leu Pro Asp Gln Gly Lys Met Gln Gln Val Glu Ser Ser Leu Gln
 275 280 285
 15 Pro Glu Thr Leu Lys Lys Trp Lys Asp Ser Leu Ile Pro Arg Ile Ile
 290 295 300
 20 Asn Asp Leu Arg Met Pro Lys Phe Ser Ile Ser Thr Asp Tyr Ser Leu
 305 310 315
 25 Lys Glu Val Leu Pro Glu Leu Gly Ile Lys Lys Val Phe Ser Gln Gln
 325 330 335
 30 Ala Asp Leu Ser Arg Ile Thr Gly Thr Lys Asp Leu Tyr Val Ser Gln
 340 345 350
 35 Val Val His Lys Ala Val Leu Asp Val Asp Glu Thr Gly Thr Glu Ala
 355 360 365
 40 Thr Ala Ala Thr Gly Val Ala Thr Val Ile Arg Arg Gln Pro Arg Thr
 370 375 380
 45 Leu Asn Phe Asn Arg Pro Phe Met Val Val Ile Thr Asp Met Asp Ser
 385 390 395 400
 50 Gln Ser Ile Leu Phe Val Ala Lys Ile Thr Asn Pro Lys
 405 410
 <210> 13
 <211> 491
 45 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 13
 50 Met Pro Leu Pro Val Gln Val Phe Asn Leu Gln Gly Ala Val Glu Pro
 1 5 10 15
 55 Met Gln Ile Asp Val Asp Pro Gln Glu Asp Pro Gln Asn Ala Pro Asp
 20 25 30
 60 Val Asn Tyr Val Val Glu Asn Pro Ser Leu Asp Leu Glu Gln Tyr Ala
 35 40 45
 65 Ala Ser Tyr Ser Gly Leu Met Arg Ile Glu Arg Leu Gln Phe Ile Ala
 50 55 60
 Asp His Cys Pro Thr Leu Arg Val Glu Ala Leu Lys Met Ala Leu Ser
 65 70 75 80

ES 2 356 217 A1

	Phe	Val	Gln	Arg	Thr 85	Phe	Asn	Val	Asp	Met 90	Tyr	Glu	Glu	Ile	His 95	Arg
5	Lys	Leu	Ser	Glu 100	Ala	Thr	Arg	Ser	Ser 105	Leu	Arg	Glu	Leu	Gln 110	Asn	Ala
10	Pro	Asp	Ala 115	Ile	Pro	Glu	Ser	Gly 120	Val	Glu	Pro	Pro	Ala 125	Leu	Asp	Thr
15	Ala	Trp 130	Val	Glu	Ala	Thr	Arg 135	Lys	Lys	Ala	Leu	Leu 140	Lys	Leu	Glu	Lys
	Leu	Asp	Thr	Asp	Leu	Lys 150	Asn	Tyr	Lys	Gly	Asn 155	Ser	Ile	Lys	Glu	Ser 160
20	Ile	Arg	Arg	Gly	His 165	Asp	Asp	Leu	Gly	Asp 170	His	Tyr	Leu	Asp	Cys 175	Gly
25	Asp	Leu	Ser	Asn 180	Ala	Leu	Lys	Cys	Tyr 185	Ser	Arg	Ala	Arg	Asp 190	Tyr	Cys
30	Thr	Ser	Ala 195	Lys	His	Val	Ile	Asn 200	Met	Cys	Leu	Asn	Val 205	Ile	Lys	Val
35	Ser	Val 210	Tyr	Leu	Gln	Asn	Trp 215	Ser	His	Val	Leu	Ser 220	Tyr	Val	Ser	Lys
40	Ala	Glu	Ser	Thr	Pro	Glu 230	Ile	Ala	Glu	Gln	Arg 235	Gly	Glu	Arg	Asp	Ser 240
45	Gln	Thr	Gln	Ala	Ile 245	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys 250	Cys	Ala	Ala	Gly	Leu 255	Ala
50	Glu	Leu	Ala	Ala 260	Arg	Lys	Tyr	Lys	Gln 265	Ala	Ala	Lys	Cys	Leu 270	Leu	Leu
55	Ala	Ser	Phe 275	Asp	His	Cys	Asp	Phe 280	Pro	Glu	Leu	Leu	Ser 285	Pro	Ser	Asn
60	Val	Ala 290	Ile	Tyr	Gly	Gly	Leu 295	Cys	Ala	Leu	Ala	Thr 300	Phe	Asp	Arg	Gln
65	Glu	Leu	Gln	Arg	Asn	Val 310	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser 315	Phe	Lys	Leu	Phe	Leu 320
70	Glu	Leu	Glu	Pro	Gln 325	Val	Arg	Asp	Ile	Ile 330	Phe	Lys	Phe	Tyr	Glu 335	Ser
75	Lys	Tyr	Ala	Ser 340	Cys	Leu	Lys	Met	Leu 345	Asp	Glu	Met	Lys	Asp 350	Asn	Leu

ES 2 356 217 A1

	100	105	110
5	Ile Leu Gln 115	Asn Ser Pro Asp Ala 120	Lys Ile Phe Cys Leu Val His Lys 125
10	Met Asp 130	Leu Val Gln Glu Asp 135	Gln Arg Asp Leu Ile Phe Lys Glu Arg 140
15	Glu 145	Glu Asp Leu Arg Arg 150	Leu Ser Arg Pro Leu Glu Cys Ala Cys Phe 155 160
20	Arg Thr Ser Ile 165	Trp Asp Glu Thr Leu Tyr 170	Lys Ala Trp Ser Ser Ile 175
25	Val Tyr Gln 180	Leu Ile Pro Asn Val Gln 185	Gln Leu Glu Met Asn Leu Arg 190
30	Asn Phe 195	Ala Gln Ile Ile Glu Ala 200	Asp Glu Val Leu Leu Phe Glu Arg 205
35	Ala Thr 210	Phe Leu Val Ile Ser 215	His Tyr Gln Cys Lys Glu Gln Arg Asp 220
40	Val His Arg Phe Glu 225	Lys Ile Ser Asn Ile Ile 230 235	Lys Gln Phe Lys Leu 240
45	Ser Cys Ser Lys 245	Leu Ala Ala Ser Phe 250	Gln Ser Met Glu Val Arg Asn 255
50	Ser Asn Phe 260	Ala Ala Phe Ile Asp 265	Ile Phe Thr Ser Asn Thr Tyr Val 270
55	Met Val 275	Val Met Ser Asp Pro Ser 280	Ile Pro Ser Ala Ala Thr Leu Ile 285
60	Asn Ile 290	Arg Asn Ala Arg Lys 295	His Phe Glu Lys Leu Glu Arg Val Asp 300
65	Gly 305	Pro Lys His Ser Leu 310	Leu Met Arg



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②¹ N.º solicitud: 200930559

②² Fecha de presentación de la solicitud: 04.08.2009

③² Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤¹ Int. Cl.: **G01N33/68** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	WO 2009094194 A2 (THE GENERAL HOSPITAL CORPORATION; THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC.; BETH ISRAEL DEACONESS MEDICAL CENTER, INC.) 30.07.2009, todo el documento.	1,2,7-12, 16,28,29,34,37,38,43,44
A	PERCO P et al.: "Protein biomarkers associated with acute renal failure and chronic kidney disease" EUROPEAN JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION, (1 Noviembre 2006); vol. 36; no. 11; páginas 753-763; DOI: 10.1111/j.1365-2362.2006.01729.x; XP002495251; ISSN: 0014-2972; todo el documento.	1-44
A	VAIDYA VISHAL S et al.: "Biomarkers of acute kidney injury." ANNUAL REVIEW OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY (2008); vol. 48; páginas 463-493; DOI 10.1146/annurev.pharmtox.48.113006.094615; XP002597062; ISSN: 0362-1642; todo el documento.	1-44
A	FERREIRA: "TOWARDS A URINARY FINGERPRINT OF GENTAMICIN-INDUCED ACUTE RENAL FAILURE" [Online] (22 Mayo 2009); XP002597063; Recuperado de Internet: URL: http://www.mindcull.com/data/european-renal-association/era-2009-european-renal-association/m116-towards-a-urinary-fingerprint-of-gentamicin-induced-acute-renal-failure-top-20-abstracts/# [recuperado el 24.03.2011]; resumen.	1-44

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
24.03.2011

Examinador
M. García Coca

Página
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 24.03.2011

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 3-6,13-15,17-27,30-33,35,36,39-42	SI
	Reivindicaciones 1,2,7-12,16,28,29,34,37,38,43,44	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 3-6,13-15,17-27,30-33,35,36,39-42	SI
	Reivindicaciones 1,2,7-12,16,28,29,34,37,38,43,44	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	WO 2009094194 A2 (THE GENERAL HOSPITAL CORPORATION; THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC.; BETH ISRAEL DEACONESS MEDICAL CENTER, INC.)	30.07.2009

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

El objeto de la invención, tal y como se recoge en las reivindicaciones 1-44, es un método para determinar un daño renal (fallo renal agudo), basado en la detección y/o cuantificación de la proteína gelsolina y una o más proteínas seleccionadas entre: Reg3B; fetuina B; el inhibidor de la proteína serina A3K y el de la proteína serina A3L; ribonucleasas UK114 y 4; aminoacilasa 1A; alfa-enolasa; queratina 5; parvalbúmina alfa; subunidad 1 de COP9 y ras-related GTP-binding protein A (reiv. 1-16). También es objeto de la invención un método para determinar la progresión de un daño renal basado en la cuantificación y detección de dichas proteínas (reiv. 17-27); el uso de las proteínas mencionadas como biomarcadores (reiv. 28-36) y un kit para determinar el daño renal o la progresión del daño renal (reiv. 37-44).

Novedad y Actividad Inventiva

El documento D01 divulga el uso de la gelsolina para el diagnóstico, la progresión y el tratamiento de individuos con fallo renal (ver abstract). El método se basa en la comparación del nivel de gelsolina del sujeto, frente a un valor predeterminado. De esta forma no solo se determina si hay fallo renal, sino también el riesgo de mortalidad de dicha enfermedad (ver página 2 líneas 28-31; página 5 líneas 30-31; página 12 líneas 27-30). El nivel de gelsolina se determina mediante inmunoensayo midiendo la cantidad de gelsolina en orina (ver página 15 líneas 2-6; y página 15 líneas 2-6).

A la vista del documento D01, la invención tal y como se recoge en las reivindicaciones 1, 2, 7-12, 16, 28, 29, 34, 37, 38, 43 y 44 deriva directamente y sin ningún equívoco del documento D01. Por lo tanto, la invención según se recoge en dichas reivindicaciones carece de novedad y de actividad inventiva (art. 6.1 y 8.1 Ley 11/1986 de Patentes).