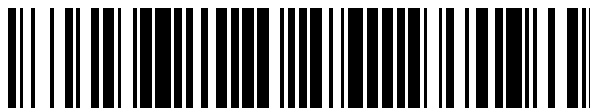


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



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

21 Número de solicitud: 200930559

51 Int. Cl.:
G01N 33/68 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación: **04.08.2009**

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

Fecha de la concesión: **01.02.2012**

45 Fecha de anuncio de la concesión: **13.02.2012**

45 Fecha de publicación del folleto de la patente:
13.02.2012

73 Titular/es:
**UNIVERSIDAD DE SALAMANCA
PATIO DE ESCUELAS, 1
37008 SALAMANCA, ES**

72 Inventor/es:
**QUIROS LUIS, YAREMI;
FERREIRA REDONDO, LAURA;
SANCHO MARTÍNEZ, SANDRA MARÍA;
GONZÁLEZ DE BUITRAGO ARRIERO, JOSÉ
MANUEL;
LÓPEZ HERNÁNDEZ, FRANCISCO JOSÉ y
LÓPEZ NOVOA, JOSÉ MIGUEL**

74 Agente: **Pons Ariño, Ángel**

54 Título: **MÉTODO PARA LA DETECCIÓN DE DAÑO RENAL.**

57 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 B1

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
20 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.*,
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.

5 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.

10 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.

15 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.

20 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 adiados.

25 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.

30 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.

35 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.

40 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:
 - 45 - 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,
 - 50 - 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.

55 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.

60 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:

- 65 - 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 B1

- 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)

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.

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.

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 55 suero o de orina. El término “soporte sólido” tal como se emplea en la presente invención se refiere a una gran 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-

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
10 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.

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
25 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
30 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.

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
35 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
50 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
55 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.

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,

- 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.

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,

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.

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.

5 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.

10 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.

15 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.

20 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 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.

25 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.

35 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.

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

45

50

55

60

65

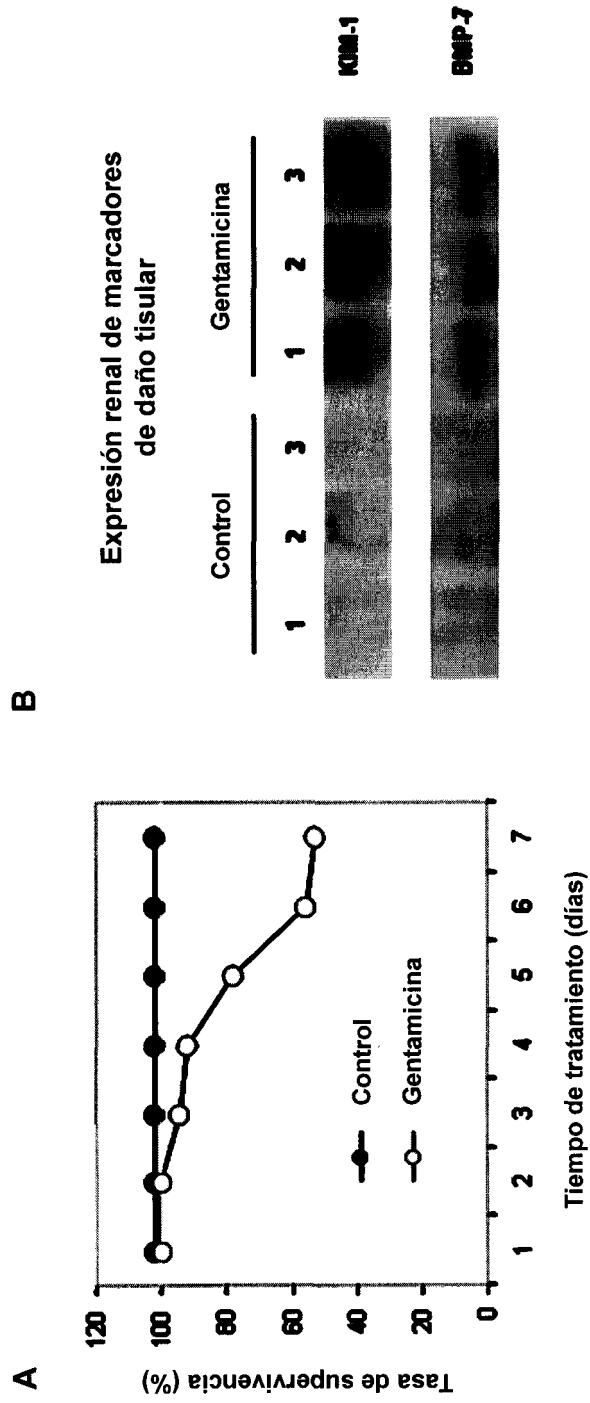


FIG. 1

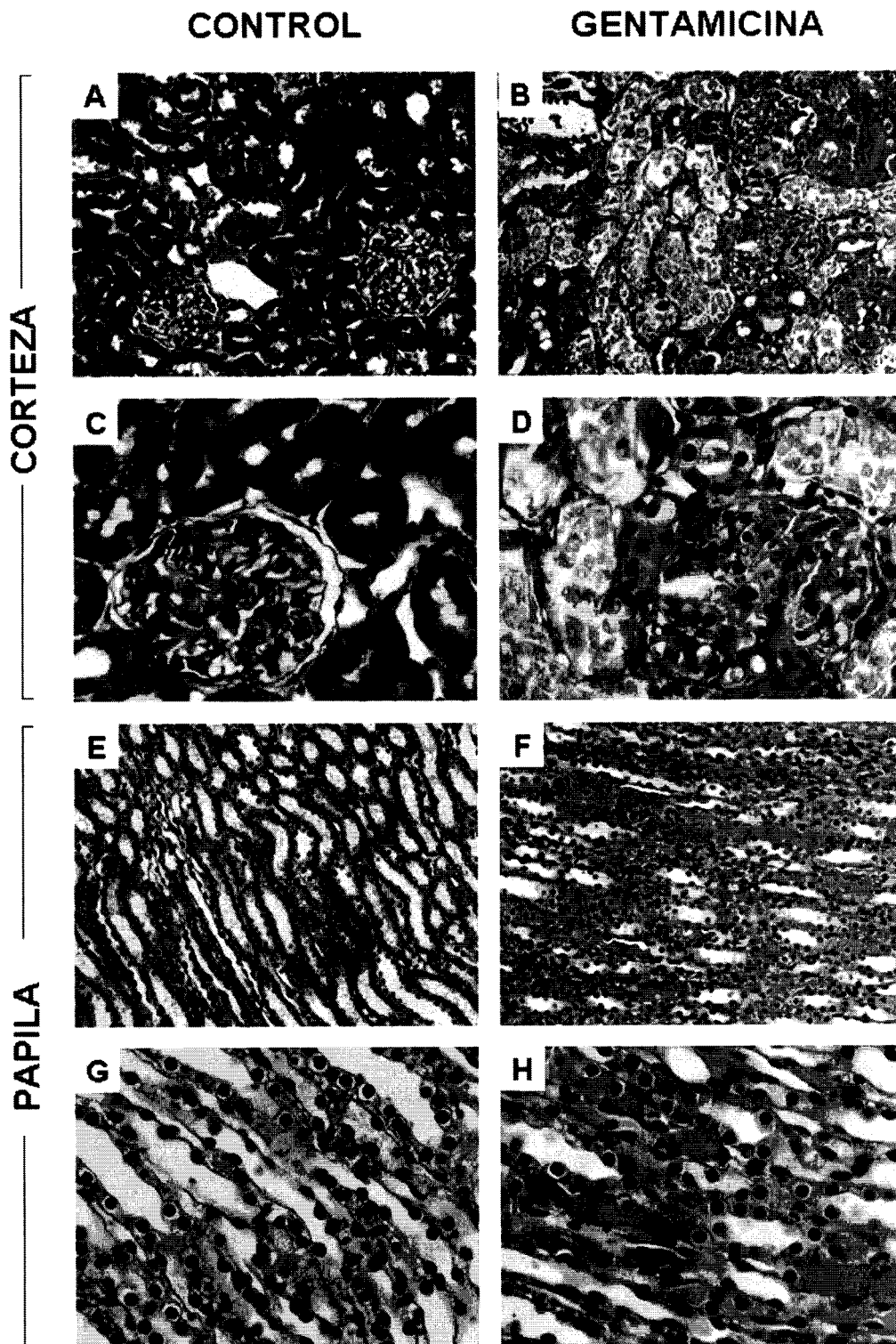


FIG. 2

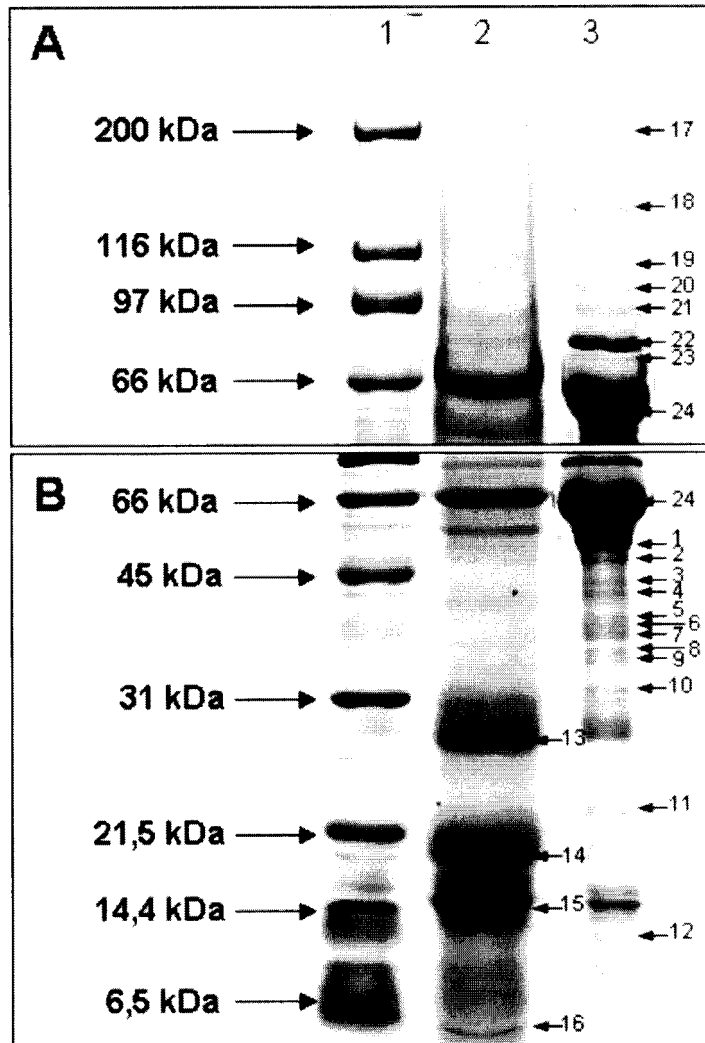


FIG. 3

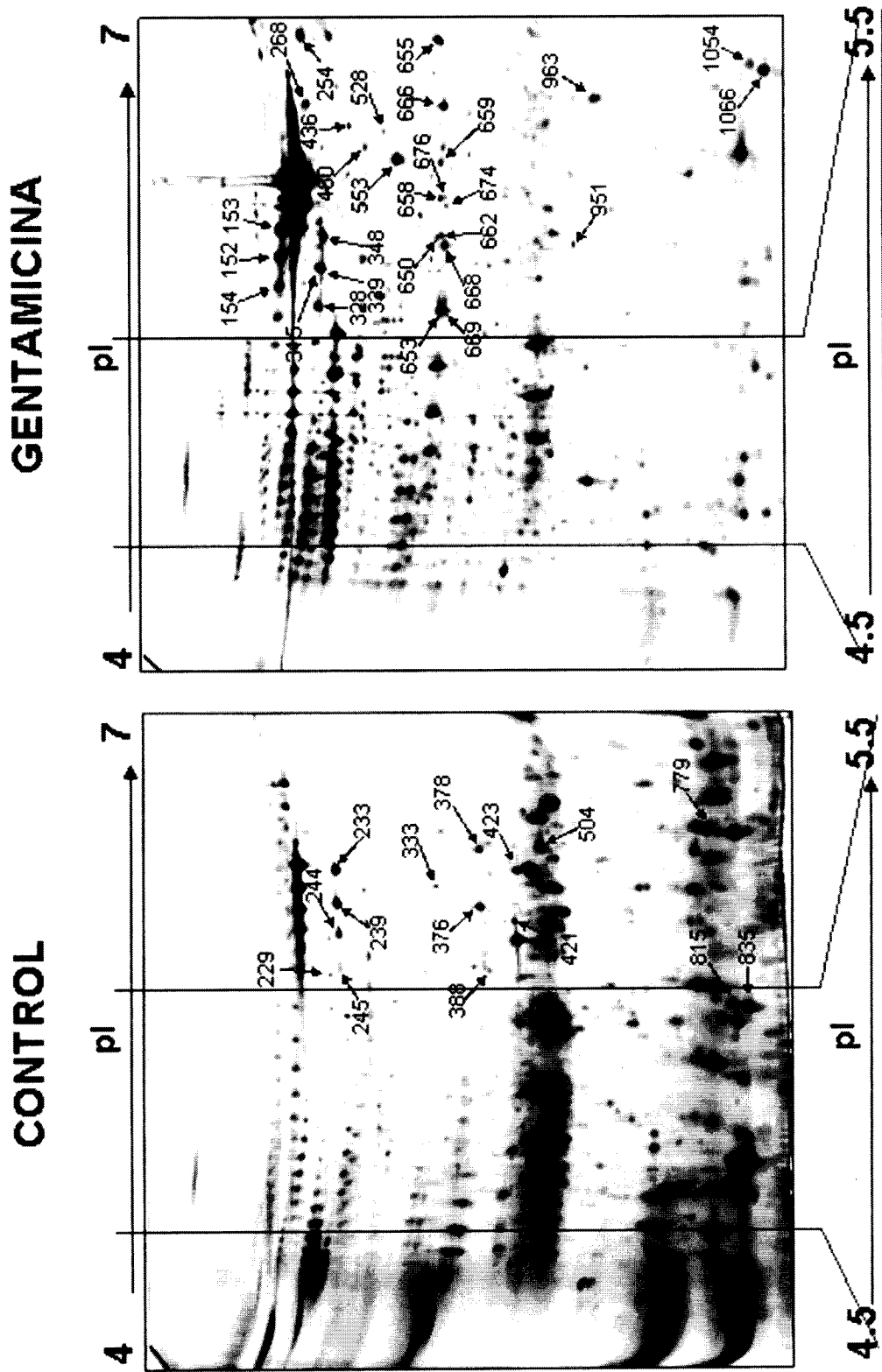


FIG. 4

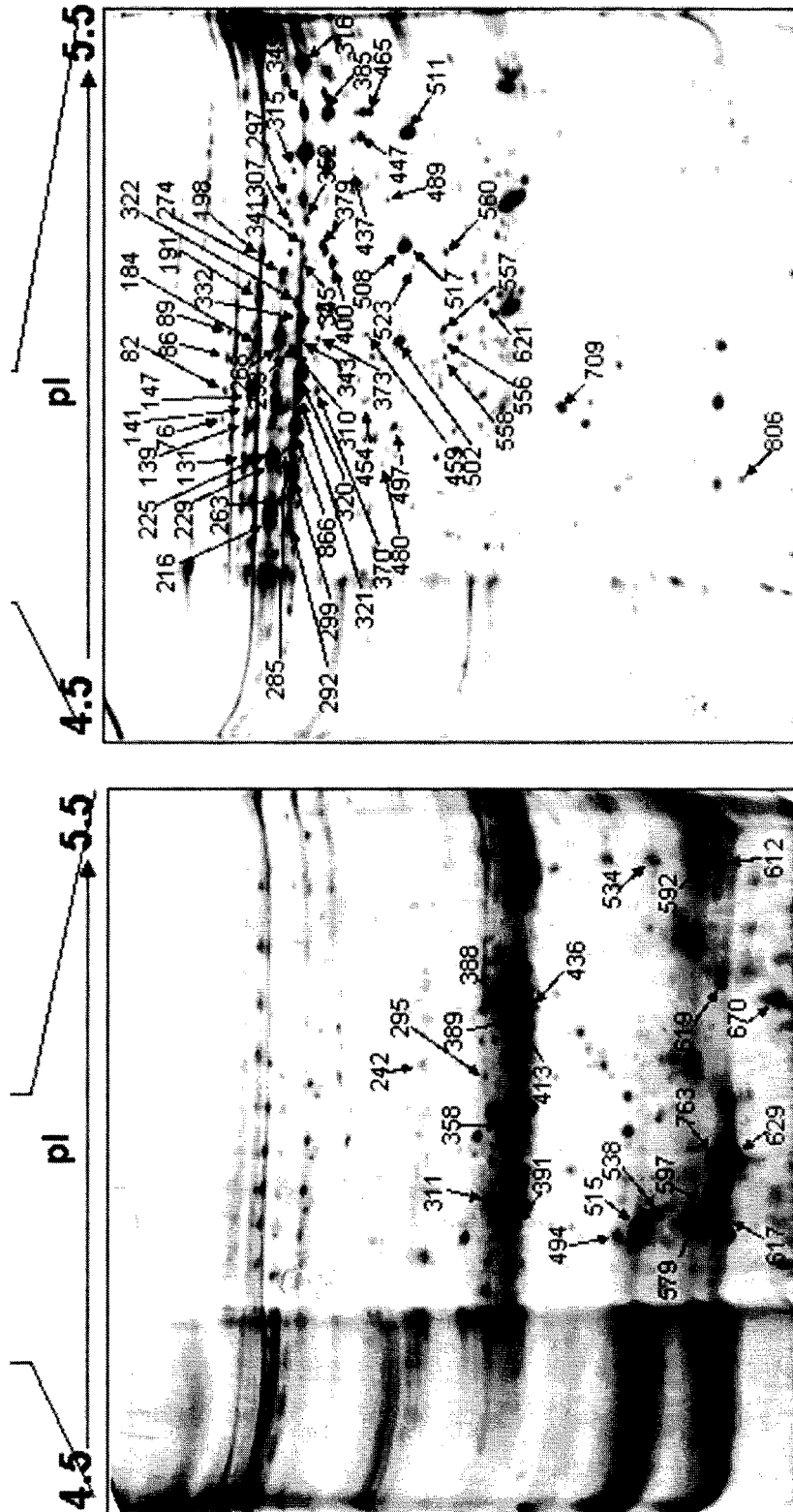


FIG. 4 (Cont.)

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
 Cys Leu Met Leu Leu Ser Gln Val Gln Gly Glu Glu Pro Gln Arg Glu
 20 25 30
 Leu Pro Ser Ala Arg Ile Arg Cys Pro Lys Gly Ser Lys Ala Tyr Gly
 35 40 45
 Ser His Cys Tyr Ala Leu Phe Leu Ser Pro Lys Ser Trp Thr Asp Ala
 50 55 60
 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
 Thr Glu Pro Asn Gly Glu Gly Trp Glu Trp Ser Ser Ser Asp Val Met
 115 120 125
 50 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 B1

<400> 2

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

ES 2 356 217 B1

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 B1

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
 <210> 4
 <211> 298

ES 2 356 217 B1

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

5 <400> 4

Met Phe Ser Arg Ala Gly Val Ala Gly Leu Ser Ala Trp Thr Leu Gln
 1 5 10 15

Pro Gln Trp Ile Gln Val Arg Asn Met Ala Thr Leu Lys Asp Ile Thr
 20 25 30

Arg Arg Leu Lys Ser Ile Lys Asn Ile Gln Lys Ile Thr Lys Ser Met
 35 40 45

Lys Met Val Ala Ala Ala Lys Tyr Ala Arg Ala Glu Arg Glu Leu Lys
 50 55 60

Pro Ala Arg Ile Tyr Gly Leu Gly Ser Leu Ala Leu Tyr Glu Lys Ala
 65 70 75 80

Asp Ile Lys Gly Pro Glu Asp Lys Lys Lys His Leu Leu Ile Gly Val
 85 90 95

Ser Ser Asp Arg Gly Leu Cys Gly Ala Ile His Ser Ser Ile Ala Lys
 100 105 110

Gln Met Lys Ser Glu Val Ala Thr Leu Thr Ala Ala Gly Lys Glu Val
 115 120 125

Met Leu Val Gly Ile Gly Asp Lys Ile Arg Gly Ile Leu Tyr Arg Thr
 130 135 140

His Ser Asp Gln Phe Leu Val Ala Phe Lys Glu Val Gly Arg Lys Pro
 145 150 155 160

Pro Thr Phe Gly Asp Ala Ser Val Ile Ala Leu Glu Leu Leu Asn Ser
 165 170 175

Gly Tyr Glu Phe Asp Glu Gly Ser Ile Ile Phe Asn Lys Phe Arg Ser
 180 185 190

Val Ile Ser Tyr Lys Thr Glu Glu Lys Pro Ile Phe Ser Leu Asn Thr
 195 200 205

Val Ala Ser Ala Asp Ser Met Ser Ile Tyr Asp Asp Ile Asp Ala Asp
 210 215 220

Val Leu Gln Asn Tyr Gln Glu Tyr Asn Leu Ala Asn Ile Ile Tyr Tyr
 225 230 235 240

Ser Leu Lys Glu Ser Thr Thr Ser Glu Gln Ser Ala Arg Met Thr Ala

ES 2 356 217 B1

				245					250				255			
5	Met	Asp	Asn	Ala 260	Ser	Lys	Asn	Ala	Ser 265	Glu	Met	Ile	Asp	Lys 270	Leu	Thr
	Leu	Thr	Phe 275	Asn	Arg	Thr	Arg	Gln 280	Ala	Val	Ile	Thr	Lys 285	Glu	Leu	Ile
10	Glu	Ile 290	Ile	Ser	Gly	Ala	Ala 295	Ala	Leu	Asp						
	<210> 5															
15	<211> 782															
	<212> PRT															
	<213> <i>Homo sapiens</i>															
20	<400> 5															
	Met 1	Ala	Pro	His	Arg 5	Pro	Ala	Pro	Ala	Leu 10	Leu	Cys	Ala	Leu	Ser 15	Leu
25	Ala	Leu	Cys	Ala 20	Leu	Ser	Leu	Pro	Val 25	Arg	Ala	Ala	Thr	Ala 30	Ser	Arg
30	Gly	Ala	Ser 35	Gln	Ala	Gly	Ala	Pro 40	Gln	Gly	Arg	Val	Pro 45	Glu	Ala	Arg
35	Pro	Asn 50	Ser	Met	Val	Val	Glu 55	His	Pro	Glu	Phe	Leu 60	Lys	Ala	Gly	Lys
40	Glu 65	Pro	Gly	Leu	Gln	Ile 70	Trp	Arg	Val	Glu	Lys 75	Phe	Asp	Leu	Val	Pro 80
	Val	Pro	Thr	Asn	Leu 85	Tyr	Gly	Asp	Phe	Phe 90	Thr	Gly	Asp	Ala	Tyr 95	Val
45	Ile	Leu	Lys	Thr 100	Val	Gln	Leu	Arg	Asn 105	Gly	Asn	Leu	Gln	Tyr 110	Asp	Leu
50	His	Tyr	Trp 115	Leu	Gly	Asn	Glu	Cys 120	Ser	Gln	Asp	Glu	Ser 125	Gly	Ala	Ala
55	Ala	Ile 130	Phe	Thr	Val	Gln	Leu 135	Asp	Asp	Tyr	Leu	Asn 140	Gly	Arg	Ala	Val
	Gln 145	His	Arg	Glu	Val	Gln	Gly 150	Phe	Glu	Ser	Ala 155	Thr	Phe	Leu	Gly	Tyr 160
60	Phe	Lys	Ser	Gly	Leu 165	Lys	Tyr	Lys	Lys	Gly 170	Gly	Val	Ala	Ser	Gly 175	Phe
65	Lys	His	Val	Val 180	Pro	Asn	Glu	Val	Val 185	Val	Gln	Arg	Leu	Phe 190	Gln	Val

ES 2 356 217 B1

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

ES 2 356 217 B1

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
 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 B1

Ala Ala Val Ala Phe Phe Glu Glu Thr Ala Arg Gln Leu Gly Leu Gly
 35 40 45

5 Cys Gln Lys Val Glu Val Ala Pro Gly Tyr Val Val Thr Val Leu Thr
 50 55 60

10 Trp Pro Gly Thr Asn Pro Thr Leu Ser Ser Ile Leu Leu Asn Ser His
 65 70 75 80

15 Thr Asp Val Val Pro Val Phe Lys Glu His Trp Ser His Asp Pro Phe
 85 90 95

Glu Ala Phe Lys Asp Ser Glu Gly Tyr Ile Tyr Ala Arg Gly Ala Gln
 100 105 110

20 Asp Met Lys Cys Val Ser Ile Gln Tyr Leu Glu Ala Val Arg Arg Leu
 115 120 125

25 Lys Val Glu Gly His Arg Phe Pro Arg Thr Ile His Met Thr Phe Val
 130 135 140

30 Pro Asp Glu Glu Val Gly Gly His Gln Gly Met Glu Leu Phe Val Gln
 145 150 155 160

Arg Pro Glu Phe His Ala Leu Arg Ala Gly Phe Ala Leu Asp Glu Gly
 165 170 175

35 Ile Ala Asn Pro Thr Asp Ala Phe Thr Val Phe Tyr Ser Glu Arg Ser
 180 185 190

40 Pro Trp Trp Val Arg Val Thr Ser Thr Gly Arg Pro Gly His Ala Ser
 195 200 205

45 Arg Phe Met Glu Asp Thr Ala Ala Glu Lys Leu His Lys Val Val Asn
 210 215 220

50 Ser Ile Leu Ala Phe Arg Glu Lys Glu Trp Gln Arg Leu Gln Ser Asn
 225 230 235 240

55 Pro His Leu Lys Glu Gly Ser Val Thr Ser Val Asn Leu Thr Lys Leu
 245 250 255

Glu Gly Gly Val Ala Tyr Asn Val Ile Pro Ala Thr Met Ser Ala Ser
 260 265 270

60 Phe Asp Phe Arg Val Ala Pro Asp Val Asp Phe Lys Ala Phe Glu Glu
 275 280 285

Gln Leu Gln Ser Trp Cys Gln Ala Ala Gly Glu Gly Val Thr Leu Glu
 290 295 300

65 Phe Ala Gln Lys Trp Met His Pro Gln Val Thr Pro Thr Asp Asp Ser

ES 2 356 217 B1

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
 20 Phe Thr Ala Ser Ala Gly Ile Gln Val Val Gly Asp Asp Leu Thr Val
 210 215 220
 25 Thr Asn Pro Lys Arg Ile Ala Lys Ala Val Asn Glu Lys Ser Cys Asn
 225 230 235 240
 30 Cys Leu Leu Leu Lys Val Asn Gln Ile Gly Ser Val Thr Glu Ser Leu
 245 250 255
 35 Gln Ala Cys Lys Leu Ala Gln Ala Asn Gly Trp Gly Val Met Val Ser
 260 265 270
 40 His Arg Ser Gly Glu Thr Glu Asp Thr Phe Ile Ala Asp Leu Val Val
 275 280 285
 45 Gly Leu Cys Thr Gly Gln Ile Lys Thr Gly Ala Pro Cys Arg Ser Glu
 290 295 300
 50 Arg Leu Ala Lys Tyr Asn Gln Leu Leu Arg Ile Glu Glu Glu Leu Gly
 305 310 315 320
 55 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
 <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
 65 Thr Ser Val Ser Arg Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Phe Gly Arg
 35 40 45
 Val Ser Leu Ala Gly Ala Cys Gly Val Gly Gly Tyr Gly Ser Arg Ser

ES 2 356 217 B1

	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 B1

Ser Ile Ile Ala Glu Val Lys Ala Gln Tyr Glu Glu Ile Ala Asn Arg
 340 345 350

5 Ser Arg Thr Glu Ala Glu Ser Trp Tyr Gln Thr Lys Tyr Glu Glu Leu
 355 360 365

10 Gln Gln Thr Ala Gly Arg His Gly Asp Asp Leu Arg Asn Thr Lys His
 370 375 380

15 Glu Ile Ser Glu Met Asn Arg Met Ile Gln Arg Leu Arg Ala Glu Ile
 385 390 395 400

20 Asp Asn Val Lys Lys Gln Cys Ala Asn Leu Gln Asn Ala Ile Ala Asp
 405 410 415

25 Ala Glu Gln Arg Gly Glu Leu Ala Leu Lys Asp Ala Arg Asn Lys Leu
 420 425 430

30 Ala Glu Leu Glu Glu Ala Leu Gln Lys Ala Lys Gln Asp Met Ala Arg
 435 440 445

35 Leu Leu Arg Glu Tyr Gln Glu Leu Met Asn Thr Lys Leu Ala Leu Asp
 450 455 460

40 Val Glu Ile Ala Thr Tyr Arg Lys Leu Leu Glu Gly Glu Glu Cys Arg
 465 470 475 480

45 Leu Ser Gly Glu Gly Val Gly Pro Val Asn Ile Ser Val Val Thr Ser
 485 490 495

50 Ser Val Ser Ser Gly Tyr Gly Ser Gly Ser Gly Tyr Gly Gly Gly Leu
 500 505 510

55 Gly Gly Gly Leu Gly Gly Gly Leu Gly Gly Gly Leu Ala Gly Gly Ser
 515 520 525

60 Ser Gly Ser Tyr Tyr Ser Ser Ser Gly Gly Val Gly Leu Gly Gly
 530 535 540

65 Gly Leu Ser Val Gly Gly Ser Gly Phe Ser Ala Ser Ser Gly Arg Gly
 545 550 555 560

70 Leu Gly Val Gly Phe Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ser Ser Ser Val Lys
 565 570 575

75 Phe Val Ser Thr Thr Ser Ser Ser Arg Lys Ser Phe Lys Ser
 580 585 590

<210> 10

<211> 110

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

ES 2 356 217 B1

<400> 10

5 Met Ser Met Thr Asp Leu Leu Asn Ala Glu Asp Ile Lys Lys Ala Val
 1 5 10 15
 10 Gly Ala Phe Ser Ala Thr Asp Ser Phe Asp His Lys Lys Phe Phe Gln
 20
 15 Met Val Gly Leu Lys Lys Lys Ser Ala Asp Asp Val Lys Lys Val Phe
 35 40 45
 20 His Met Leu Asp Lys Asp Lys Ser Gly Phe Ile Glu Glu Asp Glu Leu
 50 55 60
 25 Gly Phe Ile Leu Lys Gly Phe Ser Pro Asp Ala Arg Asp Leu Ser Ala
 65 70 75 80
 30 Lys Glu Thr Lys Met Leu Met Ala Ala Gly Asp Lys Asp Gly Asp Gly
 85 90 95
 35 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 15
 45 Glu Thr Gly Gly Ser Asp Arg Tyr Cys Asp Leu Met Met Gln Arg Arg
 20 25 30
 50 Lys Met Thr Leu Tyr His Cys Lys Arg Phe Asn Thr Phe Ile His Glu
 35 40 45
 55 Asp Ile Trp Asn Ile Arg Ser Ile Cys Ser Thr Thr Asn Ile Gln Cys
 50 55 60
 60 Lys Asn Gly Lys Met Asn Cys His Glu Gly Val Val Lys Val Thr Asp
 65 70 75 80
 65 Cys Arg Asp Thr Gly Ser Ser Arg Ala Pro Asn Cys Arg Tyr Arg Ala
 85 90 95
 70 Ile Ala Ser Thr Arg Arg Val Val Ile Ala Cys Glu Gly Asn Pro Gln
 100 105 110
 75 Val Pro Val His Phe Asp Gly
 115

ES 2 356 217 B1

<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 Ala Val Leu Cys Asp Gly Thr Leu Gly Arg Asp Thr Leu Ser His Glu
15 Ala Val Leu Cys Asp Gly Thr Leu Gly Arg Asp Thr Leu Ser His Glu
20 Asp His Gly Lys Gly Arg Gln Leu His Ser Leu Thr Leu Ala Ser Ser
30 Asp Thr Asp Phe Ala Leu Ser Leu Tyr Lys Lys Leu Ala Leu Arg Asn
45 Pro Asp Lys Asn Val Val Phe Ser Pro Leu Ser Ile Ser Ala Ala Leu
60 Thr Ile Leu Ser Leu Gly Ala Lys Asp Ser Thr Met Glu Glu Ile Leu
75 Glu Gly Leu Lys Phe Asn Leu Thr Glu Ile Thr Glu Glu Glu Ile His
90 Gln Gly Phe Gly His Leu Leu Gln Arg Leu Ser Gln Pro Glu Asp Gln
105 Val Glu Ile Asn Thr Gly Ser Ala Leu Phe Ile Asp Lys Glu Gln Pro
120 Ile Leu Ser Glu Phe Gln Glu Lys Thr Arg Ala Leu Tyr Gln Ala Glu
135 Ala Phe Val Ala Asp Phe Lys Gln Pro Asn Glu Ala Lys Lys Leu Ile
150 Asn Asp Tyr Val Ser Asn Gln Thr Gln Gly Lys Ile Ala Glu Leu Phe
165 Ser Asp Leu Glu Glu Arg Thr Ser Met Val Leu Val Asn Tyr Leu Leu
180 Phe Lys Gly Lys Trp Lys Ala Pro Phe Asn Pro Asn Asp Thr Ile Glu
195 Ser Glu Phe Tyr Leu Asp Glu Lys Arg Ser Val Lys Val Pro Met Met
210 Ser Glu Phe Tyr Leu Asp Glu Lys Arg Ser Val Lys Val Pro Met Met
225 Ser Glu Phe Tyr Leu Asp Glu Lys Arg Ser Val Lys Val Pro Met Met
240

ES 2 356 217 B1

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 B1

Phe Val Gln Arg Thr Phe Asn Val Asp Met Tyr Glu Glu Ile His Arg
 85 90 95
 5 Lys Leu Ser Glu Ala Thr Arg Ser Ser Leu Arg Glu Leu Gln Asn Ala
 100 105 110
 10 Pro Asp Ala Ile Pro Glu Ser Gly Val Glu Pro Pro Ala Leu Asp Thr
 115 120 125
 15 Ala Trp Val Glu Ala Thr Arg Lys Lys Ala Leu Leu Lys Leu Glu Lys
 130 135 140
 20 Leu Asp Thr Asp Leu Lys Asn Tyr Lys Gly Asn Ser Ile Lys Glu Ser
 145 150 155 160
 25 Ile Arg Arg Gly His Asp Asp Leu Gly Asp His Tyr Leu Asp Cys Gly
 165 170 175
 30 Asp Leu Ser Asn Ala Leu Lys Cys Tyr Ser Arg Ala Arg Asp Tyr Cys
 180 185 190
 35 Thr Ser Ala Lys His Val Ile Asn Met Cys Leu Asn Val Ile Lys Val
 195 200 205
 40 Ser Val Tyr Leu Gln Asn Trp Ser His Val Leu Ser Tyr Val Ser Lys
 210 215 220
 45 Ala Glu Ser Thr Pro Glu Ile Ala Glu Gln Arg Gly Glu Arg Asp Ser
 225 230 235 240
 50 Gln Thr Gln Ala Ile Leu Thr Lys Leu Lys Cys Ala Ala Gly Leu Ala
 245 250 255
 55 Glu Leu Ala Ala Arg Lys Tyr Lys Gln Ala Ala Lys Cys Leu Leu Leu
 260 265 270
 60 Ala Ser Phe Asp His Cys Asp Phe Pro Glu Leu Leu Ser Pro Ser Asn
 275 280 285
 65 Val Ala Ile Tyr Gly Gly Leu Cys Ala Leu Ala Thr Phe Asp Arg Gln
 290 295 300
 70 Glu Leu Gln Arg Asn Val Ile Ser Ser Ser Ser Phe Lys Leu Phe Leu
 305 310 315 320
 75 Glu Leu Glu Pro Gln Val Arg Asp Ile Ile Phe Lys Phe Tyr Glu Ser
 325 330 335
 80 Lys Tyr Ala Ser Cys Leu Lys Met Leu Asp Glu Met Lys Asp Asn Leu
 340 345 350 355

ES 2 356 217 B1

Leu Leu Asp Met Tyr Leu Ala Pro His Val Arg Thr Leu Tyr Thr Gln
 355 360 365
 5 Ile Arg Asn Arg Ala Leu Ile Gln Tyr Phe Ser Pro Tyr Val Ser Ala
 370 375 380
 10 Asp Met His Arg Met Ala Ala Ala Phe Asn Thr Thr Val Ala Ala Leu
 385 390 395 400
 15 Glu Asp Glu Leu Thr Gln Leu Ile Leu Glu Gly Leu Ile Ser Ala Arg
 405 410 415
 20 Val Asp Ser His Ser Lys Ile Leu Tyr Ala Arg Asp Val Asp Gln Arg
 420 425 430
 25 Ser Thr Thr Phe Glu Lys Ser Leu Leu Met Gly Lys Glu Phe Gln Arg
 435 440 445
 30 Arg Ala Lys Ala Met Met Leu Arg Ala Ala Val Leu Arg Asn Gln Ile
 450 455 460
 35 His Val Lys Ser Pro Pro Arg Glu Gly Ser Gln Gly Glu Leu Thr Pro
 465 470 475 480
 Ala Asn Ser Gln Ser Arg Met Ser Thr Asn Met
 485 490
 <210> 14
 <211> 313
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 40 <400> 14
 Met Pro Asn Thr Ala Met Lys Lys Lys Val Leu Leu Met Gly Lys Ser
 1 5 10 15
 45 Gly Ser Gly Lys Thr Ser Met Arg Ser Ile Ile Phe Ala Asn Tyr Ile
 20 25 30
 50 Ala Arg Asp Thr Arg Arg Leu Gly Ala Thr Ile Asp Val Glu His Ser
 35 40 45
 55 His Val Arg Phe Leu Gly Asn Leu Val Leu Asn Leu Trp Asp Cys Gly
 50 55 60
 60 Gly Gln Asp Thr Phe Met Glu Asn Tyr Phe Thr Ser Gln Arg Asp Asn
 65 70 75 80
 Ile Phe Arg Asn Val Glu Val Leu Ile Tyr Val Phe Asp Val Glu Ser
 85 90 95
 65 Arg Glu Leu Glu Lys Asp Met His Tyr Tyr Gln Ser Cys Leu Glu Ala

ES 2 356 217 B1

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



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 TECNICA

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).