

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.

ABOGADOS

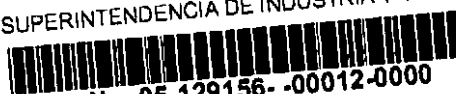
Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

Señor

SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y C
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 05-129156- -00012-0000

Fecha: 2011-08-12 17:10:17
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 523 RESPUESTA

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 42

Re: PI.-THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA.-
Solicitud de Patente de Invención en Fase Nacional PCT para
"SECUENCIAS DE ÁCIDO NUCLEÍCO CODIFICANTES Y
COMPOSICIONES QUE COMPRENEN PÉPTIDOS DE SEÑAL IgE Y/O
IL-15 Y MÉTODOS PARA EMPLEAR LOS MISMOS".-Clase
C07H 21/04.-Expediente número 05-129.156-

1. Me refiero al auto dictado por ese Despacho notificado por fijación en lista de 19 de Mayo de 2011.

2. Con el fin de responder a las objeciones expuestas por el señor Examinador en su Concepto Técnico No. **1612**, en relación con la Claridad de la Solicitud en estudio, la existencia de materia no considerada como invención, y la Novedad de la invención me permito dirigir su atención a las siguientes modificaciones y argumentos técnicos, por medio de los cuales se superan completamente dichas objeciones.

3. **CLARIDAD DE LA SOLICITUD.**

3.1. **Capítulo Descriptivo.**

En relación con el capítulo descriptivo de la solicitud en estudio, el Señor Examinador reitera que dentro este: *"No se presenta claramente la información de los compuestos probados y su efectividad. No existe una información precisa para que un técnico versado en la materia pueda llevar a cabo la invención. No es claro cuáles son los péptidos que poseen acción terapéutica".*

Sobre este particular me permito llamar la atención a ese Despacho al hecho que la mencionada descripción de la solicitud en estudio, tal como ha sido presentada, es totalmente clara al revelar las secuencias de ácido nucleico de la presente invención, y la información allí suministrada permitiría que la persona versada en la materia no solo comprendiera la invención, sino que también pudiera reproducirla.

En primer lugar me permito resaltar que la descripción de la solicitud en estudio claramente señala que el objeto de la invención lo constituyen moléculas de ácido nucleico que codifican proteínas de fusión en las cuales se ha sustituido el péptido señal de IL-15 por el péptido señal de una proteína distinta, en especial el péptido señal de IgE. Estas moléculas de ácido nucleico son especialmente ventajosas, tal como revela la mencionada descripción de la solicitud:

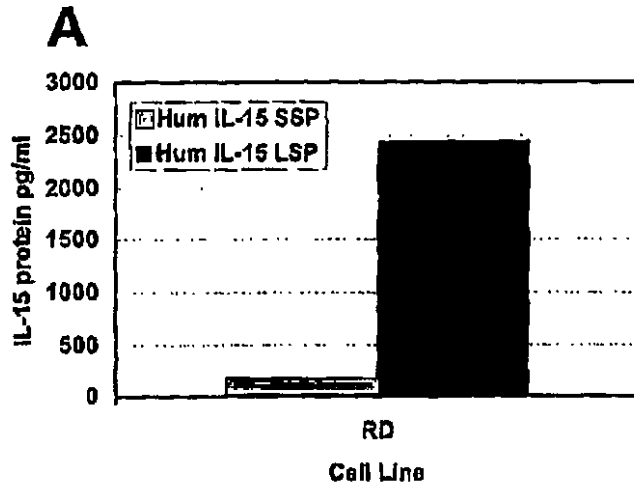
"La invención surge de los siguientes descubrimientos 1) los niveles de expresión de la proteína IL-15 son más altos cuando no está presente el péptido de señal IL-15, sea que la proteína IL-15 es expresada como una proteína IL-15 "truncada" o como una proteína de fusión que comprende las secuencias de proteína IL-15 enlazadas a un péptido sin señal IL-15, particularmente, el péptido de señal IgE. La proteína IL-15 libre del péptido de señal IL-15, sea una proteína IL-15 "truncada" o como una proteína de fusión que comprende las secuencias de proteína IL-15 enlazadas a un péptido sin señal IL-15, particularmente, un péptido de señal IgE, son particularmente útiles en vacunas y en constructos para la liberación de proteína IL-15 como una proteína inmunomodulante. 2) las vacunas y composiciones inmunomodulatorias que involucran la liberación de IL-15 en combinación con CD40L son particularmente útiles. 3) Las proteínas de fusión que comprenden el péptido de señal IgE facilitan la expresión mejorada y son particularmente, inter alia, útiles en la producción de proteínas, vacunas y terapéuticos de genes tales como para la liberación de proteínas tales como proteínas inmunomodulantes." (Página 19, línea 19, hasta página 20, línea 10).

Así mismo, el ejemplo 1 de la página 55 de la descripción enseña de forma evidente la importancia terapéutica que tiene la vacunación ADN con secuencia que codifican IL-15, y por lo tanto, permite ver a la persona versada en la materia que es deseable tener una vacuna ADN que permita la expresión mejorada de dicha proteína en el organismo tratado con esta vacuna.

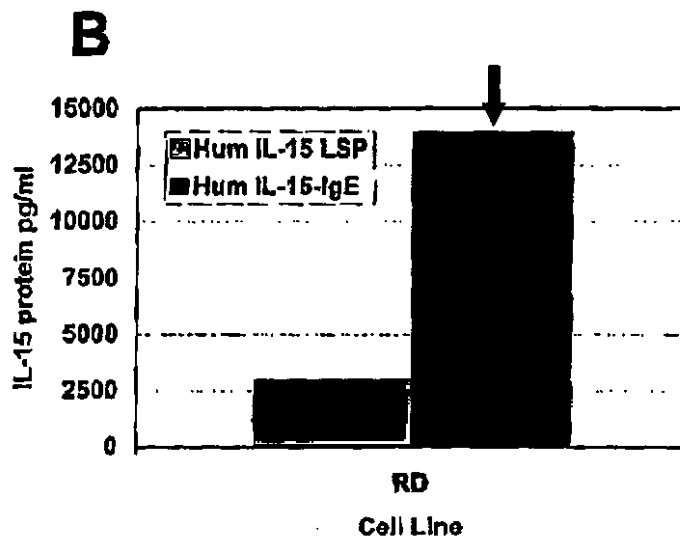
Por otro lado, el ejemplo 2 de la página 82 y la figura 9 de la descripción de la solicitud en estudio revelan el efecto sinérgico obtenido en la expresión conjunta de IL-15 y CD40L en una vacuna DNA. Así mismo, en la página 100 de la descripción de la solicitud se hace referencia a los números de acceso en la base de datos GenBank para CD40L.

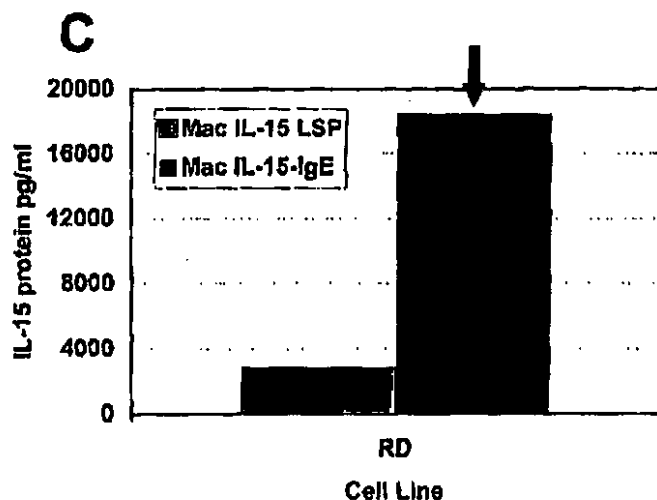
Sumado a lo anterior, el ejemplo 3 de la página 83 de la señalada descripción de la solicitud en estudio revela cómo la molécula de ácido nucleico de la invención, que codifica una proteína de fusión de IL-15 y el péptido señal de IgE, proporciona una expresión y bioactividad mejoradas en células RD (derivadas de rhabdomyosarcoma).

De esta forma, el panel A de la gráfica 12 de la descripción de la solicitud revela la diferencia en la expresión de las dos isoformas nativas de IL-15, la primera que contiene un péptido señal de 22 residuos de aminoácido (SSP) y la segunda que contiene un péptido señal de 48 residuos de aminoácidos (LSP), siendo claramente mayor la expresión del IL-15 LSP:

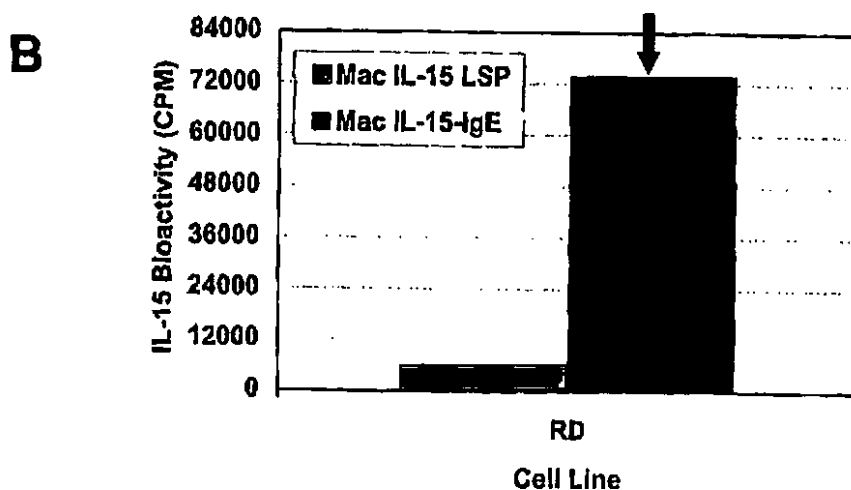
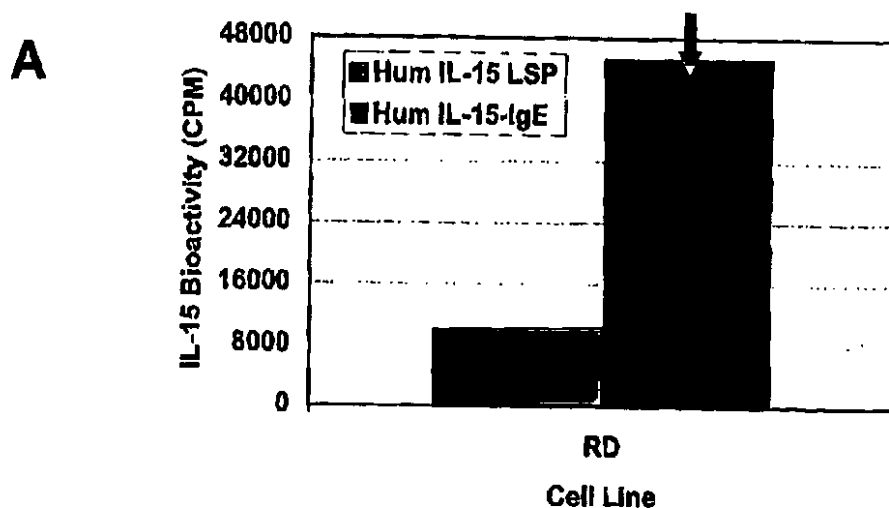


Tomando como punto de partida estos resultados, dentro de la presente solicitud se empleó como patrón de comparación el gen que codifica a dicho IL-15 LSP para evaluar la expresión del constructo de la invención, en el cual se elimina la secuencia que codifica el péptido señal de IL-15 y se introduce secuencias modificadas para contener un contexto Kozak fuerte y que corresponden a las secuencias líder de IgE. De dicho constructo de la invención se obtiene una expresión casi **5 veces mayor** para IL-15 humano, y más de **7 veces mayor** en el caso de constructos de IL-15 de macaco, tal como se observa en los paneles B y C de la figura 12 de la descripción:





De manera similar, la figura 13 muestra cómo la bioactividad obtenida a partir de la transfección con el constructo de la invención es más de **5 veces mayor** que la obtenida con la secuencia que codifica el IL-15 LSP nativo de humano, y más de **6 veces mayor** para el caso de IL-15 LSP de macaco:



En conexión con lo anterior me permito resaltar que la figura 11 de la descripción de la solicitud revela de manera explícita las secuencias líderes empleadas para obtener el constructo de IL-15 de la invención tanto humano como murino. Así

mismo, las páginas 89 y 97 de la descripción se refieren de manera particular a las referencias del arte previo que revelan tanto la secuencia de aminoácidos como la de nucleótidos correspondientes a la IL-15 humana, así como sus números de acceso en la base de datos GenBank (base de datos ampliamente conocida y empleada dentro del campo técnico de la invención).

En vista de toda esta información, **la persona versada en la materia de manera clara podría entender que una realización preferida de la invención se relaciona con ácidos nucleicos que codifican una proteína de fusión que comprende un péptido señal de IgE y la secuencia de IL-15 madurada, constructo que posee una expresión y bioactividad mejoradas, y dicha persona versada en la materia podría realizar este constructo gracias a las secuencias proporcionadas en la figura 11 de la descripción de la solicitud.**

En este punto es pertinente resaltar que **la persona versada en la materia no requiere la información completa de la secuencia que codifica la proteína IL-15, para poder desarrollar la presente invención, toda vez que esta ya es conocida dentro del estado del arte y de ninguna manera hace parte del aporte de la solicitud. Es por esta razón que el solicitante ha incluido dentro de las enseñanzas de la descripción de la presente solicitud las referencias particulares que revelan dicha secuencias, para facilitar al lector su consulta.**

Como prueba de este hecho, me permito anexar al presente memorial las secuencias de nucleótidos contenidas en la mencionada base de datos GenBank para la IL-15 humana y que corresponden a los números de acceso referenciados en la ya señalada página 89 de la descripción de la solicitud.

De manera similar, dentro del estado del arte se conocen los péptidos señal y las porciones maduras para IL-15, las cuales pueden encontrarse en la información contenida dentro de dicha base de datos (péptido señal de IL-15 subrayado en cada caso):

AF031167

MVLGTIDLCSCFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCF
LELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEEKKNIKEFLQSFVHIVQMFI
NTS

Y09908

MDFQVQIFSFLISASVIMSRANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCF
LLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEEKNIKEFLQSFVHIVQMF
INTS

X91233

MRISKPHLRSISIQCYLCLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIEDLIQSM
HIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGC
KECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFIN TS

X94222

MVLGTIDLCSCFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFL
LELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFI
NTS

X94223

MVLGTIDLCSCFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFL
LELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFI
NTS

Así mismo, dentro de dicha base de datos es posible obtener la secuencia líder de IgE:

MDWTWILFLVAAATRVHS

Y partiendo de esta información y del conocimiento de la secuencia de IL-15 madura:

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVEN
LIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFIN TS

La persona versada en la materia claramente entendería cómo está constituida la proteína de fusión codificada por la molécula de ácido nucleico de la invención:

MWTWILFLVAAATRVHSNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFL
ELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFI
NTS

En vista de todo lo anterior, y tomando como base la figura 11 de la descripción de la solicitud en estudio, la persona versada en la materia claramente identificaría que esta proteína de fusión correspondería al producto codificado por la amplificación del constructo cADN IL-15 + SEC ID NO:8 + SEC ID NO:9 + SEC IDE NO:5, revelado por la invención.

Así, conociendo las secuencias de los iniciadores de IgE, las secuencias reportadas por la presente solicitud y las secuencias de IL-15 reportadas por el arte previo la persona versada en la materia claramente comprendería y podría reproducir la invención:

Iniciadores revelados en la descripción que codifican el péptido señal de IgE y secuencias codificadas por estas:

SEQ ID NO:8 gccccgaat tcgcccgcac **cat**ggattgg acttggatct tattttt (sentido)

SEQ ID NO:9 agttgctgct gctactagag ttcatctaa ctgggtgaat gtaataagt (sentido)

SEQ ID NO:5 atcgggctcg ag**tca**agaag tgttgatgaa catttgg (antisentido)

"MDWTWILF" codificada by SEC ID NO:8;

"L" codificada por el codón hecho de los dos últimos nucleótidos en el extremo 3' SEC ID NO:8 y el primer nucleótido del extremo 5' de SEC ID NO:9;

"VAAATRVHSNWVNVIS" codificada por SEC ID NO:9 (sección resaltada también codificada por cADN de IL-15);

"NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEKKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS"

codificadas por cADN de IL-15 (sección resaltada también codificada por SEC ID NO:9);

Tanto SEC ID NO:9 como cADN de IL-15 codifican **NWVNVIS**; ambos se usan para contribuir en la amplificación del producto final

<u>SEC ID NO:8</u>	<u>SEC ID NO:9</u>
atg gat tgg act tgg atc tta ttt tta gtt gct gct gct act aga gtt cat tct aac tgg atg aat ata ata agt	
M D W T W I L F L V A A A T R V H S N W V N V I S	
DLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASI	HDTVENLIILANNSL
SSNGNVTESGCKECEELEKKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	

Señal IgE: **MDWTWILFLVAAATRVHS**

Secuencia IL-15 madura:

**NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASI
HDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEKKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS**

Proteína de fusión codificada por el producto de amplificación de cADN de IL-15 + SEC ID NO:8 + SEC ID NO:9 + SEC ID NO:5:

**MDWTWILFLVAAATRVHSNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTA
MKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEKKNIKEF
LQSFVHIVQMFINTS**

En relación con todo lo discutido anteriormente, me permito llamar la atención a ese Despacho al hecho que dentro del ámbito de las patentes es ampliamente aceptado que la descripción de una solicitud está dirigida a la persona versada en la materia, y por lo tanto, es deseable evitar brindar información demasiado detallada de lo que ya hace parte del conocimiento de dicha persona.

Tan es así, que la Oficina Europea de patentes en sus "Guías para el examen en la Oficina Europea de Patentes" resalta que:

"Como la aplicación está dirigida a la persona versada en la materia, no es necesario ni deseable proporcionar detalles de características accesorias bien conocidas, pero la descripción debe revelar cualquier característica esencial para llevar a cabo la invención en detalle suficientes para volver aparente para la persona versada en la materia como poner la invención en práctica¹." (Resaltado fuera de texto).

Consecuentemente, **el hecho que la solicitud en estudio no revele de manera explícita la secuencia completa del constructo de la invención no puede de ninguna manera considerarse que resta claridad a dicha descripción, toda vez que para la persona versada en la materia es evidente que las secuencias que codifican IL-15 hacen parte del estado del arte y que a partir de las enseñanzas de la descripción y de dicho arte previo sabría cómo reproducir la invención.**

Si a la luz de estos hechos se toma en consideración lo preceptuado por el Artículo 28 de la Decisión Andina 486 de 2000:

"La descripción deberá divulgar la invención de manera suficientemente clara y completa para su comprensión y para que una persona capacitada en la materia técnica correspondiente pueda ejecutarla. La descripción de la invención indicará el nombre de la invención e incluirá la siguiente información:

- a) el sector tecnológico al que se refiere o al cual se aplica la invención;*
- b) la tecnología anterior conocida por el solicitante que fuese útil para la comprensión y el examen de la invención, y las referencias a los documentos y publicaciones anteriores relativas a dicha tecnología;*

¹ European Patent Office, "Guidelines for Examination in the European Patent Office" Munich, Diciembre 2007. Parte C, II-4 y II-5.

- c) *una descripción de la invención en términos que permitan la comprensión del problema técnico y de la solución aportada por la invención, exponiendo las diferencias y eventuales ventajas con respecto a la tecnología anterior;*
- d) *una reseña sobre los dibujos, cuando los hubiera;*
- e) *una descripción de la mejor manera conocida por el solicitante para ejecutar o llevar a la práctica la invención, utilizando ejemplos y referencias a los dibujos, de ser éstos pertinentes; y,*
- f) *una indicación de la manera en que la invención satisface la condición de ser susceptible de aplicación industrial, si ello no fuese evidente de la descripción o de la naturaleza de la invención."*

Es claro que la descripción de la solicitud en estudio a todas luces se enmarca completamente en lo estipulado por dicho Artículo 28, toda vez que la información suministrada es suficiente para permitir que la persona versada en la materia comprenda la invención y la reproduzca. Así mismo, dicha descripción contiene referencia a la tecnología anterior, revela las secuencias particulares con las que se realiza el constructo, muestra de manera gráfica los resultados obtenidos y ejemplifica una realización preferida de la invención.

Consecuentemente, es evidente que la descripción de la solicitud en estudio, tal como ha sido presentada, se ajusta a los requerimientos exigidos por la Decisión Andina 486 de 2000.

3.2. Capítulo Reivindicatorio.

De otro lado, el Señor Examinador señala que el capítulo reivindicatorio actualmente presentado carecería de claridad, toda vez que no se incluye una "*definición clara*" de la secuencia de ácidos nucleicos, y según su opinión se caracteriza dicha secuencia de ácidos nucleicos por un resultado a alcanzar como es la expresión de la proteína de fusión, de la cual tampoco se indica su secuencia.

Así mismo, el Señor Examinador indica que la expresión "*fragmentos funcionales*" no permite delimitar de manera inequívoca la invención, al igual que la referencia a composiciones, vectores y proteínas de fusión.

Finalmente, el Señor Examinador asegura que: "*no existe soporte en la descripción para cualquier péptido sin IL-15, e incluso de los conjugados de IL-15 para realizar la extrapolación reivindicada*".

En relación con estas objeciones, me permito llamar la atención a ese Despacho al hecho que el capítulo reivindicatorio actualmente presentado es completamente claro para la persona versada en la materia, a la cual va dirigida la solicitud en estudio, y que a partir de dicho capítulo reivindicatorio la mencionada persona versada en la materia podría entender completamente el alcance de la reclamación.

En primer lugar, **la reivindicación 1 define claramente que el objeto de la invención es una molécula de ácido nucleico en la cual los genes que codifican el péptido señal de IL-15 han sido sustituidos por las correspondientes secuencias líderes de IgE. Este señalamiento sería suficiente para que la persona versada en la materia identificara cuál es el constructo de la invención, toda vez que, como se expuso anteriormente en el presente memorial, tanto las secuencias aminoácidos como de nucleótidos que codifican IgE e IL-15 son conocidas dentro del estado del arte.**

De esta forma, me permito resaltar que, de acuerdo a lo expuesto en el numeral anterior de este mismo memorial, la información disponible para la persona versada en la materia hace que la definición proporcionada en la reivindicación 1 sea suficiente para que dicha persona versada en la materia pueda sin lugar a dudas reconocer el alcance de la invención.

Sin embargo, **con el fin de clarificar aún más el objeto de la invención, se ha introducido dentro de la reivindicación 1 una referencia particular con respecto a que la molécula de ácido nucleico reclamada comprende como iniciadores las secuencias reveladas dentro de la descripción como SEC ID NOs:8, 9 y 5, en concordancia con lo enseñado en el ya mencionado ejemplo 3 de la página 83 y la figura 11 de la descripción de la solicitud.**

Como consecuencia de lo anterior, la reivindicación 1 modificada delimita de forma más clara el aporte brindado por la solicitud en estudio.

Ahora bien, con respecto a la definición particular de las secuencias de nucleótidos que hacen parte de la invención, me permito señalar que para la persona versada en la materia sería claro que diferentes secuencia de nucleótidos pueden llegar a codificar la misma proteína, toda vez que el código genético es degenerado y un solo aminoácido puede ser codificado por más de un codón²:

² Murray, et al. "Harper's Illustrated Biochemistry" 26th edition, Lange Medical Books/McGraw-Hill, New York, 2003, página 359.

First Nucleotide	Second Nucleotide				Third Nucleotide
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Term	Term ²	A
	Leu	Ser	Term	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile ²	Thr	Lys	Arg ²	A
	Met	Thr	Lys	Arg ²	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

Known amino acid sequence	H ₃ N ⁺ --- Gly	Leu	Pro	Trp	Glu	Asp	Met	Trp	Phe	Val	Arg --- COO ⁻
Possible codons	(5') GGA GGC GGU GGG CUU CUG	UUA UUG CUA CUC CUU	CCA CCC CCU CCG CUG	UGG	GAA GAG	GAC GAU	AUG	UGG UUU	UUC GUU GUU	GUA GUC GUG	AGA (3') AGG CGA CGC CGU CGG
				Region of minimal degeneracy							
Synthetic probes	UGG GA ^A _G GA ^C _U AUG UGG UU ^C _U GU										
	20 nucleotides long, 8 possible sequences										

Por otro lado, me permito resaltar que dentro del campo de la invención es un hecho aceptado que la definición de una secuencia de nucleótidos por la proteína de fusión que codifica no es "*un resultado a alcanzar*" sino es la manera más adecuada de definir dicha secuencia, dada la mencionada degeneración en el código genético que permite que diferentes codones codifiquen el mismo aminoácido.

11

Esto implica que al referirse a una secuencia de polinucleótidos particular se restrinja de manera significativa la invención, toda vez que el efecto deseado, la expresión de una proteína de interés, podría ser alcanzado por diversas variantes de dicha secuencia particular. Por lo tanto, es una definición más precisa referirse a la secuencia de polinucleótidos en virtud de la cadena polipeptídica que codifica.

Ahora bien, **me permito señalar que el no describir de manera completa la secuencia de la proteína de fusión obtenida tampoco resta claridad a la reclamación, toda vez que en el estado del arte son totalmente conocidas las secuencias tanto de IL-15 como de IgE, y por lo tanto la persona versada en la materia entendería cómo está constituida dicha proteína de fusión a partir del señalamiento de que esta contiene el péptido señal de IgE y el resto de la secuencia de IL-15 madurado, la cual está libre de sus regiones Kozak y regiones no traducidas.**

En vista de todo lo anterior, la reivindicación 1 modificada como se expuso en el presente memorial es completamente clara al reclamar la molécula de ácido nucleico objeto de la invención.

Así mismo, estos hechos hacen que tanto el vector, como las composiciones que los contienen estén completamente definidos, toda vez que contienen el constructo de la invención, el cual se ha delimitado de forma clara para la persona versada en la materia.

De otra parte, el Señor Examinador señala que la expresión "*fragmentos funcionales*" no permitiría delimitar claramente la invención.

Sobre este particular me permito señalar que la persona versada en la materia comprendería sin lugar a dudas que un fragmento funcional, es una porción de una molécula biológica que mantiene la actividad de dicha molécula; por lo tanto, siendo las secuencias de IL-15 conocidas, es también conocido cuáles fragmentos de la proteína mantienen la actividad biológica.

Sin embargo, **con el fin de mejorar la claridad de la reclamación, el solicitante ha modificado el capítulo reivindicatorio para eliminar la mencionada expresión "*fragmentos funcionales*", en particular en las reivindicaciones 1 a 5 y 32 de dicho capítulo.**

Finalmente, en relación con el señalamiento hecho por el Señor Examinado con respecto a que no existe soporte dentro de la descripción para "*cualquier péptido sin IL-15*", me permito primero señalar que el IL-15 es una proteína completa, y que lo que se resalta dentro del capítulo reivindicatorio es que la proteína de fusión

codificada por el ácido nucleico de la invención no comprende **el péptido señal** de IL-15, sino que este se ha sustituido por secuencias del péptido señal de IgE.

En este sentido, la reivindicación 1 modificada muestra de manera clara los iniciadores empleados para esta expresión de los péptidos señal de IgE, tal como lo revela la figura 1 de la descripción de la solicitud. Así mismo, dado que la secuencia de la proteína IL-15 es conocida, lo es también su región Kozak y sus péptidos señal por lo que para la persona versada en la materia sería evidente qué regiones de la proteína se están excluyendo en la expresión.

Así mismo, la figura 9 de la descripción de la solicitud muestra los resultados del ejemplo 2 en los cuales se obtiene un constructo IL-15+CD40L, mostrando cómo se activan las células T CD8 de manera sinérgica en una vacuna ADN.

De esta forma, **la descripción de la solicitud en estudio brinda soporte suficiente a la materia que es reclamada por el capítulo reivindicatorio al brindar ejemplos específicos de los iniciadores empleados y al referirse a la literatura que revela las secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de IL-15, de IgE y de las demás proteínas.**

A la luz de lo discutido anteriormente, me permito manifestar que el capítulo reivindicatorio modificado como se discutió anteriormente es totalmente claro y conciso al reclamar las secuencias de ácido nucleico, proteínas de fusión y composiciones que las contienen que son objeto de la presente solicitud, y por lo tanto dicho capítulo se ajusta totalmente a lo establecido en el Artículo 30 de la Decisión Andina 486 de 2000.

4. NO ES UNA INVENCION.

Ahora bien, el Señor Examinador señala que las reivindicaciones 1 a 12 y 31 a 34 actualmente presentadas no podrían considerarse como una invención, toda vez que estas se refieren a moléculas "aisladas", lo que contravendría el Artículo 15, literal D, de la Decisión Andina 486 de 2000.

A este respecto me permito señalar que, **como se ha discutido a lo largo del presente memorial, la molécula de ácido nucleico reclamada por la presente invención no corresponde de ninguna manera a una molécula existente como tal en la naturaleza, toda vez que es un constructo que codifica una proteína de fusión que comprende los péptidos señal de IgE y la secuencia madura de IL-15.**

En este sentido me permito resaltar que el término "aislada" como se emplea en la presente solicitud pretende indicar de que la molécula de ácido nucleico se encuentra separada de los demás contenidos celulares, pero de ninguna manera dicho término implica la existencia natural del constructo de la invención.

De esta forma, **me permito reiterar que la invención se relaciona con un gen quimérico que une dos secciones de dos genes que codifican dos proteínas distintas, las cuales dentro de la naturaleza de ninguna manera se encuentran unidas, toda vez que poseen funciones diferentes.**

Así, mientras que la interleucina-15, IL-15, es una citocina mediadora de la producción de células T, la inmunoglobulina E, IgE, es un anticuerpo que une a un alérgeno y desencadena la liberación de histamina de las células cebadas y basófilos.

Por lo tanto, **claramente en la naturaleza no existe una molécula de ácido nucleico que codifique una proteína de fusión que comprenda los iniciadores de IgE, junto con la secuencia que codifica IL-15, ni tampoco una proteína de fusión que comprenda el péptido señal de IgE y la secuencia madura de IL-15, como las que son objeto de la presente solicitud.**

Como consecuencia de lo anterior, el capítulo reivindicatorio actualmente presentado no considera de ninguna manera material biológico tal como está presente en la naturaleza y por lo tanto, la solicitud en estudio a todas luces cumple a cabalidad con lo exigido por la Decisión Andina 486 de 2000.

5. NOVEDAD.

Finalmente, el Señor Examinador indica que la solicitud en estudio sería anticipada por las enseñanzas de los documentos **WO03/017935 (D1)** y **Rücker et al, Eur. J. Immunol, 28, 3312-3320, 1998 (D2)**.

En este sentido el Señor Examinador asegura que *"la solicitud en estudio divulga de forma erróneamente definida (sic), una molécula de ácido nucléico que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una proteína de fusión no inmunogénica que comprende un péptido señal IgE enlazado a una proteína IL-15 o un fragmento funcional del mismo.*

El documento del estado de la técnica D1 enseña anticuerpos monoclonales unidos específicamente a IL-15. Donde el anticuerpo puede ser un anticuerpo anti IgE (por lo que dicho anticuerpo es un péptido señal de IgE." (sic)

En relación con lo anterior muy respetuosamente me permito resaltar que el Señor Examinador está realizando una interpretación errónea tanto del estado del arte como de la presente invención, y que existen marcadas diferencias entre las

7

enseñanzas de los documentos citados y la solicitud en estudio las cuales se discutirán a profundidad a continuación.

5.1. **Documento W003/017935 (D1).**

El documento D1 se refiere a la generación y aislamiento de anticuerpos completamente humanos los cuales se unen específicamente a IL-15, inhibiendo de esta forma los efectos proinflamatorios inducidos por dicho IL-15.

En este sentido, el documento D1 revela la producción de los anticuerpos humanos (entre los cuales se encuentra la inmunoglobulina E, IgE), y enseña los hibridomas correspondientes para la codificación de dichos anticuerpos.

En vista de lo anterior, **claramente el documento D1 no revela una molécula de ácido nucleico que codifique una proteína de fusión que comprenda el péptido señal de IgE y la cadena madura de IL-5, como la que es objeto de la presente invención, sino que muestra genes que codifican únicamente al anticuerpo completo.**

Esto es evidente a partir de la descripción del documento D1 y por ejemplo de las figuras 2 y 3 allí contenidas, las cuales muestran las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de las regiones variables de cadena pesada y cadena ligera del anticuerpo 146B7 revelado por D1.

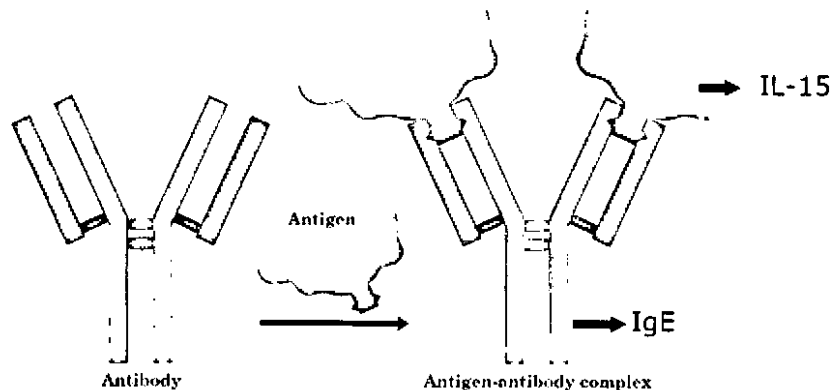
Ahora bien, me permito resaltar que, contrario a lo afirmado por el Señor Examinador, el hecho que dichos anticuerpos de D1 se unan específicamente a IL-15 no implican que D1 esté revelando una **proteína de fusión** que comprende el péptido señal de IgE y la secuencia madura de IL-15 como la que es objeto de la presente invención.

En conexión con lo anterior me permito llamar la atención a ese Despacho al hecho que dentro del campo técnico de la invención es un hecho conocido y aceptado que cuando un anticuerpo se une a un antígeno para formar el complejo antígeno-anticuerpo esto se hace por medio de uniones débiles como interacciones electrostáticas o de puentes de hidrógeno:

"La especificidad se confiere por complementariedad química entre el antígeno y su sitio de unión específico, en términos de forma y de localización de grupos cargados, no polares y formadores de puentes de hidrógeno. Por ejemplo, un sitio de unión con un grupo cargado negativamente puede unir un antígeno con una carga positiva en la posición complementaria⁴."

⁴ David L. Nelson, Michael M. Cox, "Lehninger Principles Of Biochemistry" 5th Edition, Freeman and Company, New York 2008, Página 180.

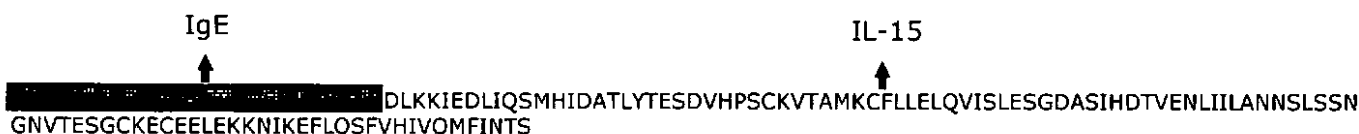
Por lo tanto, cuando el documento D1 se refiere a anticuerpos que se unen específicamente a IL-15 está hablando de un complejo antígeno-anticuerpo con un enlace débil, y no se refiere de ninguna manera a una unión covalente de dos componentes en una proteína de fusión, como la que es objeto de la solicitud en estudio⁵:



Sumado a lo anterior, me permito resaltar que para la persona versada en la materia sería claro que una proteína de fusión corresponde a una cadena de aminoácidos con uniones covalentes de enlaces peptídicos entre dos secciones de proteínas distintas⁶:

*"Los genes de fusión consisten en genes no relacionados, o fragmentos de genes, que han sido unidos en marco para producir una secuencia codificante **que se transcribe y traduce como una sola unidad**. El producto génico resultante es llamado **proteína de fusión** (así como proteína quimérica o híbrida)." (Resaltado fuera de texto).*

Consecuentemente, para la persona versada en la materia sería claro que la solicitud en estudio se relaciona con una molécula de ácido nucleico que codifica una proteína que contiene una sección inicial correspondiente al péptido señal de IgE y un resto de secuencia que es la secuencia madura de IL-15, unidas entre sí dentro de la misma cadena polipeptídica, como se representa en el siguiente esquema:



Así, la proteína de fusión de la solicitud en estudio difiere de manera significativa de cualquier complejo antígeno-anticuerpo revelado en D1, toda vez que la proteína de fusión corresponde a una sola macromolécula que reúne secuencias de de dos proteínas distintas, mientras que un complejo antígeno-anticuerpo corresponde a la unión temporal de dos moléculas distintas por atracciones electrostáticas o puentes de hidrógeno.

⁵ Ibíd. ver página 179.

⁶ Creighton, Thomas, "Enciclopedia of Molecular Biology" Vol 1-4, John Wiley & Sons, Inc, New York, 1999, página 1676.

En relación con lo anterior, el Señor Examinador asegura los anticuerpos revelados en D1 pueden ser IgE, *"por lo que dicho anticuerpo es un péptido señal de IgE"*.

A este respecto me permito muy comedidamente resaltar que para la persona versada en la materia habría una clara distinción entre un anticuerpo completo y un péptido señal, toda vez que dicha persona versada en la materia reconocería que⁷:

"Los péptidos señal son secuencias que actúan en cis, las cuales ejecutan el transporte de cadenas de polipéptido desde el citoplasma hasta un compartimiento celular delimitado por membrana."

Es decir, **mientras que un anticuerpo completo es una secuencia polipeptídica de gran longitud, constituida por una cadena pesada y una ligera, un péptido señal es una secuencia corta que ayuda al transporte y expresión de proteínas.**

Consecuentemente, a la luz del estado del arte para la persona versada en la materia sería claro que ni el complejo antígeno-anticuerpo se da por un enlace covalente, ni la secuencia de un anticuerpo completo corresponde a un péptido señal, por lo que las características del objeto de la presente solicitud no están de ninguna manera contenidas en las revelaciones de D1, y por lo tanto la solicitud en estudio a todas luces es novedosa frente a dicho documento.

5.2. **Documento Rücker et al, Eur. J. Immunol, 28, 3312-3320, 1998 (D2).**

De otra parte, el documento D2 revela proteínas de fusión IL-15-IgG2b en el aumento de la respuesta inmune *in vivo*, en comparación con la proteína de fusión IL-2-IgG2b.

Dicho documento claramente muestra que las proteínas de fusión allí empleadas contienen secuencias de IL-15 unidas con secuencias de **IgG2b** y no de **IgE** como ocurre en la presente invención, por lo que las revelaciones de dicho documento no contienen todas y cada una de las características técnicas de la invención y por lo tanto no anticipan la solicitud en estudio.

6. **CONCLUSIÓN.**

En virtud de lo discutido en el presente memorial, se estableció que la descripción de la solicitud en estudio es totalmente clara y suficiente al revelar las

⁷ Ibid., ver página 4102.

moléculas de ácido nucleico y las proteínas de fusión de la invención, permitiendo que la persona versada en la materia pueda reproducir dicha invención.

Así mismo, los argumentos discutidos y las modificaciones realizadas sobre el capítulo reivindicatorio modificado hacen que este sea totalmente claro al reclamar las mencionadas moléculas de ácido nucleico y proteínas de fusión que son objeto de la solicitud en estudio, las cuales de ninguna manera corresponden a materia existente como tal en la naturaleza.

Finalmente, el análisis de los documentos citados demostró de manera incontrovertible que las moléculas reclamadas por solicitud en estudio no pueden ser anticipadas por dichos documentos, toda vez que estos se refieren a moléculas totalmente distintas. Por lo tanto, la solicitud en estudio es novedosa frente al estado del arte más próximo y se ajusta totalmente a los lineamientos establecidos por la Decisión Andina 486 de 2000.

7. Anexo me permito presentar:

(a) Copia de las páginas **116 a 124** que corresponden al capítulo reivindicatorio modificado conformado por **45** reivindicaciones, en el cual se han realizado las modificaciones expuestas anteriormente;

(b) Copia de Parte C, II-4 y II-5 del documento European Patent Office, "*Guidelines for Examination in the European Patent Office*" Munich, Diciembre 2007;

(c) Copia de la portada y de la página 359 del documento: Murray, et al. "*Harper's Illustrated Biochemistry*" 26th edition, Lange Medical Books/McGraw-Hill, New York, 2003;

(d) Copias de la portada y de las páginas 180 y 316 del documento: David L. Nelson, Michael M. Cox, "*Lehninger Principles Of Biochemistry*" 5th Edition, Freeman and Company, New York 2008;

(e) Copia de las secuencias de IL-15 humano reportadas en la base de datos GenBank bajos los indicadores revelados en la descripción de la solicitud; y

(f) Copia de la portada y las páginas 1676 y 4102 del documento: Creighton, Thomas, "*Enciclopedia of Molecular Biology*" Vol 1-4, John Wiley & Sons, Inc, New York, 1999.

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

En vista de lo anterior, ruego a usted proceder a estudiar nuevamente la solicitud a la luz de las modificaciones y los argumentos presentados y conceder el privilegio de patente solicitado.

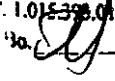
Señor Superintendente,

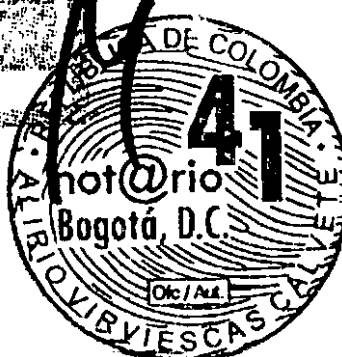

ALICIA LLOREDA RICAURTE
T. P. 53.215

NOTARIA 41 DEL CÍRCULO DE BOGOTÁ D.C.
DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA
REPÚBLICA DE COLOMBIA

El Notario 41 del círculo de Bogotá, da fe de que compareció personalmente 
identificada (o) con  y tarjeta
profesional de abogado No.  del Consejo
Superior de la Judicatura, quien autentica la firma puesta por ella
(el) mismo en este escrito.
(Art. 84 C. P. C. Decreto. 2282/89 mod. 36)

Bogotá D.C.  01 AGO 2011
ALICIA LLOREDA RICAURTE
C.C. FIRMA DE 90.713 de USQUEÑE

Jaimy Nubly
Morales Bettrán
1.015398.013
No. 



REIVINDICACIONES

1. Una molécula aislada de ácido nucleico que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una proteína de fusión no inmunogénica que
5 comprende un péptido de señal IgE enlazado a una proteína IL-15, o una molécula aislada de ácido nucleico que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una proteína de fusión que comprende un péptido de señal IgE enlazado a una proteína IL-15, en donde el péptido de señal IgE es de un gen que es de la misma especie que el IL-15; en donde la secuencia de
10 ácido nucleico que codifica la proteína IL-15 está libre de la región IL-15 Kozak y/o la región IL-15 5' no traducida y/o de la región IL-15 3' no traducida; y donde la molécula aislada de ácido nucleico comprende los iniciadores como se muestran en las SEC ID NOs: 8, 9 y 5.
- 15 2. La molécula aislada de ácido nucleico de la reivindicación 1, en donde la proteína de fusión consiste de un péptido de señal IgE enlazado a una proteína IL-15.
3. La molécula aislada de ácido nucleico de las reivindicaciones 1 y 2, en
20 donde dicha proteína IL-15 es una proteína IL-15 libre del péptido de señal IL-15.
4. La molécula aislada de ácido nucleico de las reivindicaciones 1-3, que además comprende una secuencia nucleotida que codifica un CD40L.

5. Una molécula aislada de ácido nucleico que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una proteína IL-15 y una secuencia nucleotida que codifica un CD40L.

5 6. La molécula aislada de ácido nucleico de las reivindicaciones 1-5, que además comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica un inmunógeno.

7. La molécula aislada de ácido nucleico de la reivindicación 6, en donde
10 dicho inmunógeno es un antígeno patógeno, un antígeno asociado a cáncer o un antígeno enlazado a células asociadas con enfermedades autoinmunes.

8. La molécula aislada de ácido nucleico de la reivindicación 7, en donde dicho inmunógeno es un antígeno patógeno.

15

9. La molécula aislada de ácido nucleico de la reivindicación 8, en donde dicho antígeno patógeno es de un patógeno seleccionado del grupo que consiste de VIH, VSH, VCH y VNW.

20 10. La molécula aislada de ácido nucleico de las reivindicaciones 1-9, en donde las secuencias que codifican IL-15 están libres del Spéptido de señal IL-15.

11. La molécula aislada de ácido nucleico de las reivindicaciones 1-10, en
25 donde dicha molécula aislada de ácido nucleico es un plásmido.

12. La molécula aislada de ácido nucleico de las reivindicaciones 1-11 en donde dicha molécula es incorporada en un vector viral.

13. Una composición que comprende una molécula aislada de ácido nucleico de las reivindicaciones 1-12, y una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica un inmunógeno.

14. La composición de la reivindicación 13, en donde dicho inmunógeno es un antígeno patógeno, un antígeno asociado a cáncer o un antígeno enlazado a células asociadas con enfermedades autoinmunes.

15. La composición de la reivindicación 14, en donde dicho inmunógeno es un antígeno patógeno.

16. La composición de la reivindicación 15, en donde dicho antígeno patógeno es de un patógeno seleccionado del grupo que consiste de VIH, VSH, VCH y VNW.

17. Una composición que comprende una molécula de ácido nucleico de las reivindicaciones 1-15 y una molécula de ácido nucleico que además comprende una secuencia nucleotida que codifica CD40L.

18. Una composición farmacéutica inyectable que comprende las moléculas de ácido nucleico de las reivindicaciones 1-12 o la composición de las reivindicaciones 13-17.

19. Una vacuna recombinante que comprende las moléculas de ácido nucleico de las reivindicaciones 1-10.

20. La vacuna recombinante de la reivindicación 19, en donde dicha vacuna recombinante es una vacuna de vacunas recombinantes.

21. Un patógeno vivo atenuado que comprende las moléculas de ácido nucleico de las reivindicaciones 1-10.

22. Una proteína de fusión no-inmunogénica que comprende una secuencia de señal IgE enlazada a una secuencia de proteína IL-15 o a una proteína de fusión que comprende una secuencia de señal IgE enlazada a una secuencia de proteína IL-15, en donde la secuencia de señal IgE es de la misma especie que la secuencia de proteína IL-15.

15

23. La proteína de fusión de la reivindicación 22, que consiste de una secuencia de señal IgE enlazada a una secuencia de proteína IL-15.

24. La proteína de fusión de las reivindicaciones 22 y 23, en donde la secuencia de proteína IL-15 está libre de la secuencia de señal IL-15.

20

25. Una composición que comprende una molécula de ácido nucleico que comprende: una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína IL-15 y una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia nucleotida que codifica la proteína CD40L.

25

26. La composición de la reivindicación 25 que además comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica un inmunógeno.

27. La composición de las reivindicaciones 25 ó 26, en donde dicho
5 inmunógeno es un antígeno patógeno, un antígeno asociado con cáncer o un antígeno enlazado a células asociadas con enfermedades autoinmunes.

28. La composición de la reivindicación 27, en donde dicho inmunógeno es un antígeno patógeno.

10

29. La composición de la reivindicación 28, en donde dicho inmunógeno es un antígeno patógeno de un patógeno seleccionado del grupo que consiste de VIH, VSH, VCH y VNW.

15 30. La composición de las reivindicaciones 25-29, en donde las moléculas aisladas de ácido nucleico son plásmidos.

31. Una molécula aislada de ácido nucleico que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una proteína de fusión que consiste de un
20 péptido de señal IgE enlazado a secuencias de proteína sin-IgE seleccionadas de: IL-15, CD40L, TRAIL; TRAILrecDRC5, TRAIL-R2, TRAIL-R3, TRAIL-R4, RANK, RANK LIGAND, Ox40, Ox40 LIGAND, NKG2D, F461811or MICA, MICB, NKG2A, NKG2B, NKG2C, NKG2E, NKG2F, CD30, CD153 (CD30L), Fos, c-jun, Sp-1, Ap1, Ap-2, p38, p65Rel, MyD88, IRAK, TRAF6, Ikb, NIK, SAP
25 K, SAP1, JNK2, JNK1B2, JNK1B1, JNK2B2, JNK2B1, JNK1A2, JNK2A1, JNK3A1, JNK3A2, NF-kappa-B2, forma de empalme p49, NF-kappa-B2, forma de empalme p100, NF-kappa-B2, forma de empalme p105, precursor de la

cadena NF-kappa-B 50K, NFkB p50, IL-1 α humano, IL-2 humano, IL-4 humano, IL-4 murino, IL-5 humano, IL-10 humano, IL-15 humano, IL-18 humano, TNF- α humano, TNF- β humano, interleucina 12 humana, MadCAM-1, NGF IL-7, VEGF, TNF-R, Tas, CD40L, IL-4, CSF, G-CSF, GM-CSF, M-CSF, LFA-3, ICAM-3, ICAM-2, ICAM-1, PECAM, P150.95, Mac-1, LFA-1, CD34, RANTES, IL-8, MIP-1 α , E-selecton, CD2, MCP-1, L-selecton, P-selecton, FLT, Apo-1, Fas, TNFR-1, p55, WSL-1, DR3, TRAMP, Apo-3, AIR, LARD, NGRF, DR4(TRAIL), DR5, KILLER, TRAIL-R2, TRICK2, DR6, ICE, VLA-1, y CD86 , en donde el péptido de señal IgE y la secuencia de proteína IL-15 se derivan de la misma especie de animal.

32. La molécula aislada de ácido nucleico de la reivindicación 31, en donde la proteína sin-IgE es una enzima.

33. La molécula aislada de ácido nucleico de la reivindicación 31, en donde dicha molécula aislada de ácido nucleico es un plásmido.

34. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 31, incorporada en un vector viral.

35. Una composición farmacéutica inyectable que comprende las moléculas de ácido nucleico de la reivindicación 31.

36. Una vacuna recombinante que comprende las moléculas de ácido nucleico de la reivindicación 31.

37. Un patógeno vivo atenuado que comprende las moléculas de ácido nucleico de la reivindicación 31.

38. Una proteína de fusión que comprende un péptido de señal IgE enlazado
 5 a una proteína sin-IgE seleccionada de: CD40L, TRAIL; TRAILrecDRC5, TRAIL-R2, TRAIL-R3, TRAIL-R4, RANK, RANK LIGAND, Ox40, Ox40 LIGAND, NKG2D, F461811or MICA, MICB, NKG2A, NKG2B, NKG2C, NKG2E, NKG2F, CD30, CD153 (CD30L), Fos, c-jun, Sp-1, Ap1, Ap-2, p38, p65Rel, MyD88, IRAK, TRAF6, IκB, NIK, SAP K, SAP1, JNK2, JNK1B2, JNK1B1, JNK2B2,
 10 JNK2B1, JNK1A2, JNK2A1, JNK3A1, JNK3A2, NF-kappa-B2, forma de empalme p49, NF-kappa-B2, forma de empalme p100, NF-kappa-B2, forma de empalme p105, precursor de la cadena NF-kappa-B 50K, NFκB p50, IL-1α humano, IL-2 humano, IL-4 humano, IL-4 murino, IL-5 humano, IL-10 humano, IL-15 humano, IL-18 humano, TNF-α humano, TNF-β humano, interleucina 12
 15 humana, MadCAM-1, NGF IL-7, VEGF, TNF-R, Tas, CD40L, IL-4, CSF, G-CSF, GM-CSF, M-CSF, LFA-3, ICAM-3, ICAM-2, ICAM-1, PECAM, P150.95, Mac-1, LFA-1, CD34, RANTES, IL-8, MIP-1α, E-selecton, CD2, MCP-1, L-selecton, P-selecton, FLT, Apo-1, Fas, TNFR-1, p55, WSL-1, DR3, TRAMP, Apo-3, AIR, LARD, NGRF, DR4(TRAIL), DR5, KILLER, TRAIL-R2, TRICK2, DR6, ICE, VLA-
 20 1, y CD86, en donde el péptido de señal IgE y la proteína sin-IgE son derivados de la misma especie animal.

39. Un cultivo de células in vitro que comprende células que comprenden una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de ácido
 25 nucleico que codifica una proteína de fusión que consiste de un péptido de señal IgE enlazado a una secuencia de proteína sin-IgE, en donde la secuencia de ácido nucleico está operablemente enlazada a elementos reguladores

requeridos para la expresión en dichas células; en donde el péptido de señal IgE y la proteína sin-IgE se derivan de la misma especie animal y en donde la proteína sin-IgE es una proteína inmunomodulante seleccionada de una de las siguientes proteínas: IL-1 α humano, IL-2 humano, IL-4 humano, IL-4 murino, IL-5 humano, IL-10 humano, IL-15 humano, IL-18 humano, TNF- α humano, TNF- β humano, interleucina 12 humana, MadCAM-1, NGF IL-7, VEGF, TNF-R, Fas, CD40L, IL-4, CSF, G-CSF, GM-CSF, M-CSF, LFA-3, ICAM-3, ICAM-2, ICAM-1, PECAM, P150.95, Mac-1, LFA-1, CD34, RANTES, IL-8, MIP-1 α , E-selecton, CD2, MCP-1, L-selecton, P-selecton, FLT.

10

40. Un método para preparar una proteína sin-IgE que comprende cultivar células que comprenden células que comprenden una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una proteína de fusión que consiste de un péptido de señal IgE enlazado a secuencias de proteína sin-IgE, en donde la secuencia de ácido nucleico está operablemente enlazada a elementos reguladores requeridos para la expresión en dichas células bajo la condición necesaria para la expresión de la proteína de fusión por un periodo suficiente para que dichas células expresen dicha proteína de fusión en donde el péptido de señal IgE y la proteína sin-IgE es una proteína inmunomodulante seleccionada de una de las siguientes proteínas: IL-1 α humano, IL-2 humano, IL-4 humano, IL-4 murino, IL-5 humano, IL-10 humano, IL-15 humano, IL-18 humano, TNF- α humano, TNF- β humano, interleucina 12 humana, MadCAM-1, NGF IL-7, VEGF, TNF-R, Fas, CD40L, IL-4, CSF, G-CSF, GM-CSF, M-CSF, LFA-3, ICAM-3, ICAM-2, ICAM-1, PECAM, P150.95, Mac-1, LFA-1, CD34, RANTES, IL-8, MIP-1 α , E-selecton, CD2, MCP-1, L-selecton, P-selecton, FLT, se derivan de la misma especie animal o en donde la proteína sin-IgE es una proteína inmunomodulante.

20

25

41. Una composición que comprende una molécula de ácido nucleico de la reivindicación 31 y una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para un inmunógeno.

5

42. La composición de la reivindicación 41 en donde dicho inmunógeno es un antígeno patógeno, un antígeno asociado a cáncer o a un antígeno enlazado a células asociadas con enfermedades autoinmunes.

10 43. La composición de la reivindicación 41 en donde dicho inmunógeno es un antígeno patógeno.

44. La composición de la reivindicación 43 en donde dicho antígeno patógeno es de un patógeno seleccionado del grupo que consiste de VIH, VSH,
15 VCH y VNW.

45. Una composición que comprende una molécula de ácido nucleico de la reivindicación 31 y una molécula de ácido nucleico que además comprende una secuencia de nucleótidos que codifican para CD40L.

20

Part C

Guidelines for Substantive Examination

should not be in the form: "3 is connected to 5 via 4" but, "resistor 3 is connected to capacitor 5 via switch 4".

4.8 Reference signs

The description and drawings should be consistent with one another, especially in the matter of reference numbers and other signs, and each number or sign must be explained. However, where as a result of amendments to the description whole passages are deleted, it may be tedious to delete all superfluous references from the drawings and in such a case the examiner should not pursue an objection under Rule 46(2)(i), as to consistency, too rigorously. The reverse situation should never occur, i.e. all reference numbers or signs used in the description or claims must also appear on the drawings.

Rule 46(2)(i)

4.9 Sufficiency of disclosure

A detailed description of at least one way of carrying out the invention must be given. Since the application is addressed to the person skilled in the art, it is neither necessary nor desirable that details of well-known ancillary features should be given, but the description must disclose any feature essential for carrying out the invention in sufficient detail to render it apparent to the skilled person how to put the invention into practice. A single example may suffice, but where the claims cover a broad field, the application should not usually be regarded as satisfying the requirements of Art. 83 unless the description gives a number of examples or describes alternative embodiments or variations extending over the area protected by the claims. However, regard must be had to the facts of the particular case. There are some instances where even a very broad field is sufficiently exemplified by a limited number of examples or even one example (see also III, 6.3). In these latter cases the application must contain, in addition to the examples, sufficient information to allow the person skilled in the art, using his common general knowledge, to perform the invention over the whole area claimed without undue burden and without needing inventive skill (see T 727/95, OJ 1/2001, 1). If the Examining Division is able to make out a reasoned case that the application lacks sufficient disclosure, the onus of establishing that the invention may be performed and repeated over substantially the whole of the claimed range lies with the applicant (see VI, 2.3).

Rule 42(1)(e)
Art. 83

For the requirements of Art. 83 and of Rule 42(1)(c) and (e) to be fully satisfied, it is necessary that the invention is described not only in terms of its structure but also in terms of its function, unless the functions of the various parts are immediately apparent. Indeed in some technical fields (e.g. computers), a clear description of function may be much more appropriate than an over-detailed description of structure.

Art. 83
Rule 42(1)(c) and (e)

In cases where it is found that an application is sufficiently disclosed according to Art. 83 only in respect of a part of the claimed subject-matter, this may have led to the issuing of a partial European or supplementary European search report according to Rule 63 (see

Rule 63

The trustees of the
University of Pennsylvania

Exp. 05-129.156 c)

a LANGE medical book

Harper's Illustrated Biochemistry

twenty-sixth edition

Robert K. Murray, MD, PhD

*Professor (Emeritus) of Biochemistry
University of Toronto
Toronto, Ontario*

Daryl K. Granner, MD

*Joe C. Davis Professor of Biomedical Science
Director, Vanderbilt Diabetes Center
Professor of Molecular Physiology and Biophysics
and of Medicine
Vanderbilt University
Nashville, Tennessee*

Peter A. Mayes, PhD, DSc

*Emeritus Professor of Veterinary Biochemistry
Royal Veterinary College
University of London
London*

Victor W. Rodwell, PhD

*Professor of Biochemistry
Purdue University
West Lafayette, Indiana*

Lange Medical Books/McGraw-Hill

Medical Publishing Division

New York Chicago San Francisco Lisbon London Madrid Mexico City
Milan New Delhi San Juan Seoul Singapore Sydney Toronto

Table 38–1. The genetic code (codon assignments in mammalian messenger RNA).¹

First Nucleotide	Second Nucleotide				Third Nucleotide
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Term	Term ²	A
	Leu	Ser	Term	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile ²	Thr	Lys	Arg ²	A
	Met	Thr	Lys	Arg ²	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

¹The terms first, second, and third nucleotide refer to the individual nucleotides of a triplet codon. U, uridine nucleotide; C, cytosine nucleotide; A, adenine nucleotide; G, guanine nucleotide; Term, chain terminator codon. AUG, which codes for Met, serves as the initiator codon in mammalian cells and encodes for internal methionines in a protein. (Abbreviations of amino acids are explained in Chapter 3.)

²In mammalian mitochondria, AUA codes for Met and UGA for Trp, and AGA and AGG serve as chain terminators.

THE GENETIC CODE IS DEGENERATE, UNAMBIGUOUS, NONOVERLAPPING, WITHOUT PUNCTUATION, & UNIVERSAL

Three of the 64 possible codons do not code for specific amino acids; these have been termed **nonsense codons**. These nonsense codons are utilized in the cell as **termination signals**; they specify where the polymerization of amino acids into a protein molecule is to stop. The remaining 61 codons code for 20 amino acids (Table 38–1). Thus, there must be “**degeneracy**” in the genetic code—ie, multiple codons must decode the same amino acid. Some amino acids are encoded by several codons; for example, six different codons specify serine. Other amino acids, such as methionine and tryptophan, have a single codon. In general, the third nucleotide in a codon is less important than the first two in determining the specific amino acid to be incorporated, and this accounts for most of the degeneracy of

the code. However, for any specific codon, only a single amino acid is indicated; with rare exceptions, the genetic code is **unambiguous**—ie, given a specific codon, only a single amino acid is indicated. **The distinction between ambiguity and degeneracy is an important concept.**

The unambiguous but degenerate code can be explained in molecular terms. The recognition of specific codons in the mRNA by the tRNA adapter molecules is dependent upon their **anticodon region** and specific base-pairing rules. Each tRNA molecule contains a specific sequence, complementary to a codon, which is termed its anticodon. For a given codon in the mRNA, only a single species of tRNA molecule possesses the proper anticodon. Since each tRNA molecule can be charged with only one specific amino acid, each codon therefore specifies only one amino acid. However, some tRNA molecules can utilize the anticodon to recognize more than one codon. **With few exceptions, given a specific codon, only a specific amino acid will be incorporated—although, given a specific amino acid, more than one codon may be used.**

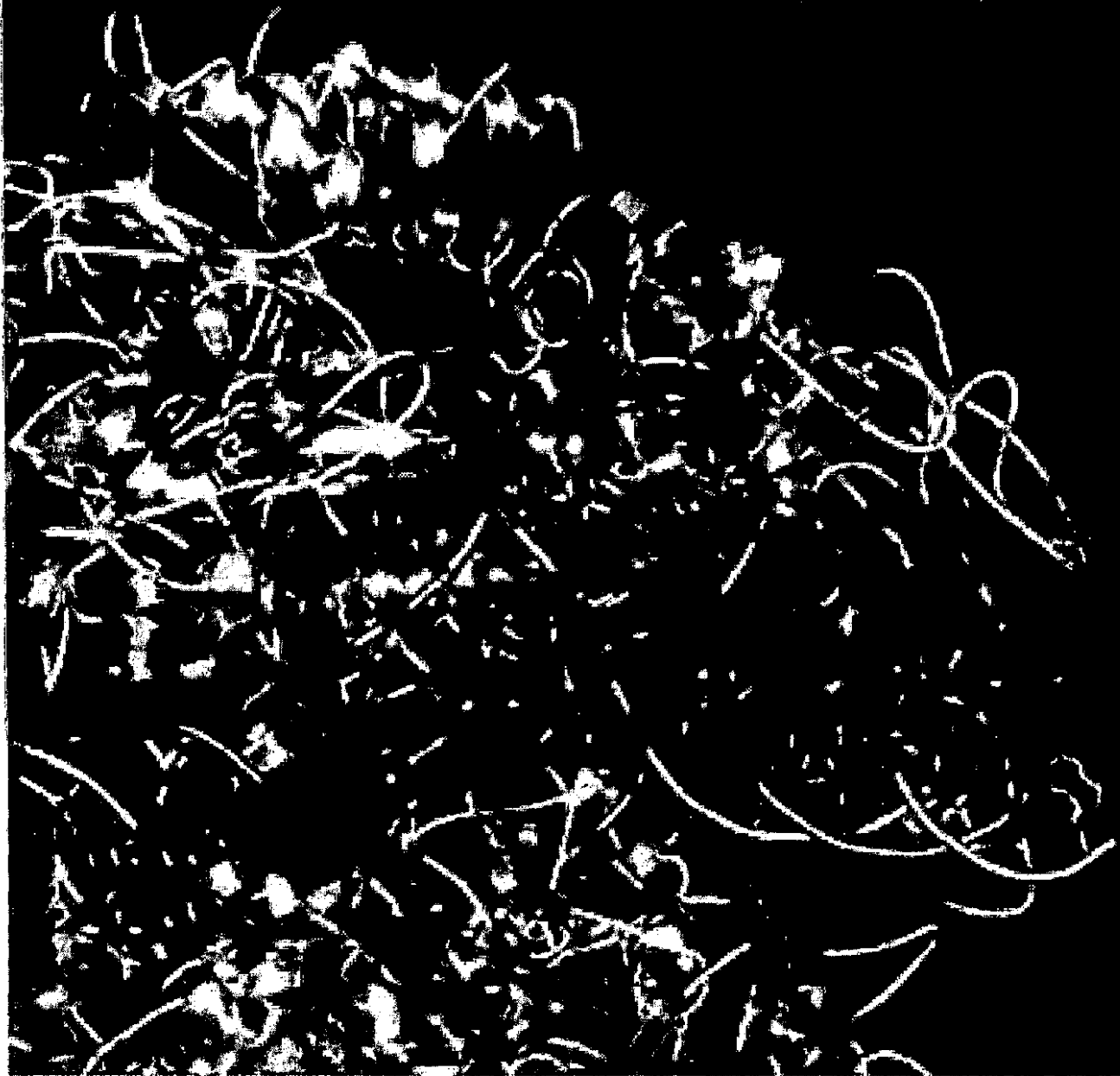
As discussed below, the reading of the genetic code during the process of protein synthesis does not involve any overlap of codons. **Thus, the genetic code is nonoverlapping.** Furthermore, once the reading is commenced at a specific codon, there is **no punctuation** between codons, and the message is read in a continuing sequence of nucleotide triplets until a translation stop codon is reached.

Until recently, the genetic code was thought to be universal. It has now been shown that the set of tRNA molecules in mitochondria (which contain their own separate and distinct set of translation machinery) from lower and higher eukaryotes, including humans, reads four codons differently from the tRNA molecules in the cytoplasm of even the same cells. As noted in Table 38–1, the codon AUA is read as Met, and UGA codes for Trp in mammalian mitochondria. In addition, in mitochondria, the codons AGA and AGG are read as stop or chain terminator codons rather than as Arg. As a result, mitochondria require only 22 tRNA molecules to read their genetic code, whereas the cytoplasmic translation system possesses a full complement of 31 tRNA species. These exceptions noted, **the genetic code is universal.** The frequency of use of each amino acid codon varies considerably between species and among different tissues within a species. The specific tRNA levels generally mirror these codon usage biases. Thus, a particular abundantly used codon is decoded by a similarly abundant specific tRNA which recognizes that particular codon. Tables of **codon usage** are becoming more accurate as more genes are sequenced. This is of considerable importance because investigators

LEHNINGER

PRINCIPLES OF BIOCHEMISTRY

David L. Nelson
Michael M. Cox



IgE plays an important role in the allergic response, interacting with basophils (phagocytic leukocytes) in the blood and histamine-secreting cells called mast cells that are widely distributed in tissues. This immunoglobulin binds, through its Fc region, to special Fc receptors on the basophils or mast cells. In this form, IgE serves as a kind of receptor for antigen. If antigen is bound, the cells are induced to secrete histamine and other biologically active amines that cause dilation and increased permeability of blood vessels. These effects on the blood vessels are thought to facilitate the movement of immune system cells and proteins to sites of inflammation. They also produce the symptoms normally associated with allergies. Pollen or other allergens are recognized as foreign, triggering an immune response normally reserved for pathogens.

Antibodies Bind Tightly and Specifically to Antigen

The binding specificity of an antibody is determined by the amino acid residues in the variable domains of its heavy and light chains. Many residues in these domains are variable, but not equally so. Some, particularly those lining the antigen-binding site, are hypervariable—especially likely to differ. Specificity is conferred by chemical complementarity between the antigen and its specific binding site, in terms of shape and the location of charged, nonpolar, and hydrogen-bonding groups. For example, a binding site with a negatively charged group may bind an antigen with a positive charge in the complementary position. In many instances, complementarity is achieved interactively as the structures of antigen and binding site are influenced by each other during the approach of the ligand. Conformational changes in the antibody and/or the antigen then occur that allow the complementary groups to interact fully. This is an example of induced fit (Fig. 5-27).

A typical antibody-antigen interaction is quite strong, characterized by K_d values as low as 10^{-10} M (recall that a lower K_d corresponds to a stronger binding interaction). The K_d reflects the energy derived from the various ionic, hydrogen-bonding, hydrophobic, and van der Waals interactions that stabilize the binding. The binding energy required to produce a K_d of 10^{-10} M is about 65 kJ/mol.

The complex of a peptide derived from HIV (a model antigen) and an Fab molecule, shown in Figure 5-27, illustrates some of these properties. The changes in structure observed on antigen binding are particularly striking in this example.

The Antibody-Antigen Interaction Is the Basis for a Variety of Important Analytical Procedures

The extraordinary binding affinity and specificity of antibodies make them valuable analytical reagents. Two types of antibody preparations are in use: polyclonal and monoclonal. **Polyclonal antibodies** are those produced by many different B lymphocytes responding to one antigen, such as a protein injected into an animal. Cells in the population of B lymphocytes produce antibodies that bind specific, different epitopes within the antigen. Thus, polyclonal preparations contain a mixture of antibodies that recognize different parts of the protein. **Monoclonal antibodies**, in contrast, are synthesized by a population of identical B cells (a **clone**) grown in cell culture. These antibodies are homogeneous, all recognizing the same epitope. The techniques for producing monoclonal antibodies were developed by Georges Köhler and Cesar Milstein.

The specificity of antibodies has practical uses. A selected antibody can be covalently attached to a resin and used in a chromatography column of the type shown in Figure 3-18c. When a mixture of proteins is added to

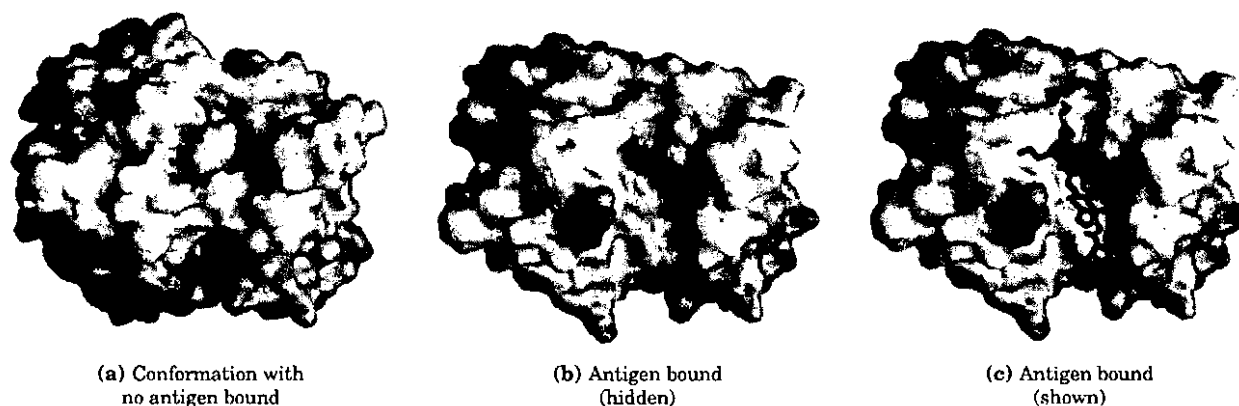


FIGURE 5-27 Induced fit in the binding of an antigen to IgG. The molecule, shown in surface contour, is the Fab fragment of an IgG. The antigen bound by this IgG is a small peptide derived from HIV. Two residues from the heavy chain (blue) and one from the light chain (pink) are colored to provide visual points of reference. (a) View of the Fab fragment, looking down on the antigen-binding site (PDB ID

1GCC). (b) The same view, but here the Fab fragment is in the “bound” conformation (PDB ID 1GGI); the antigen has been omitted from the image to provide an unobstructed view of the altered binding site. Note how the binding cavity has enlarged and several groups have shifted position. (c) The same view as in (b), but with the antigen in the binding site, pictured as a red stick structure.

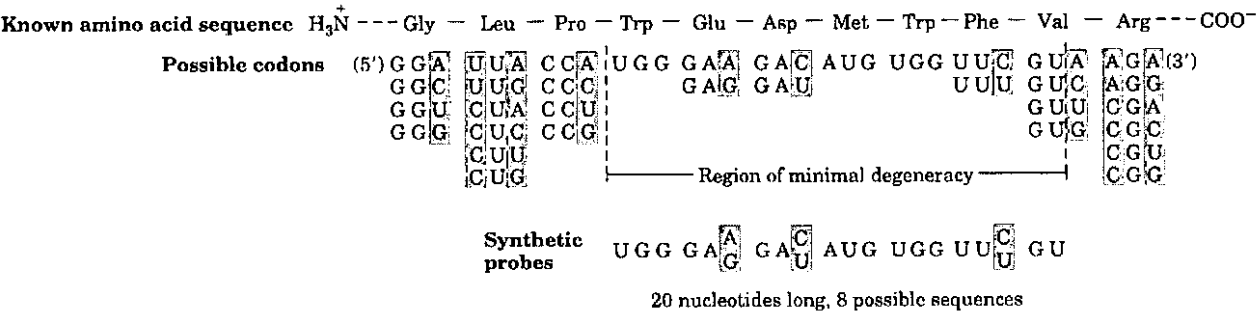


FIGURE 9-10 Probe to detect the gene for a protein of known amino acid sequence. Because more than one DNA sequence can code for any given amino acid sequence, the genetic code is said to be “degenerate.” (As described in Chapter 27, an amino acid is coded for by a set of three nucleotides called a *codon*. Most amino acids have two or more codons; see Fig. 27-7.) Thus the correct DNA sequence for a known amino acid sequence cannot be known in advance. The probe is designed to be complementary to a region of the gene with

minimal degeneracy, that is, a region with the fewest possible codons for the amino acids—two codons at most in the example shown here. Oligonucleotides are synthesized with selectively randomized sequences, so that they contain either of the two possible nucleotides at each position of potential degeneracy (shaded in pink). The oligonucleotide shown here represents a mixture of eight different sequences: one of the eight will complement the gene perfectly, and all eight will match at least 17 of the 20 positions.

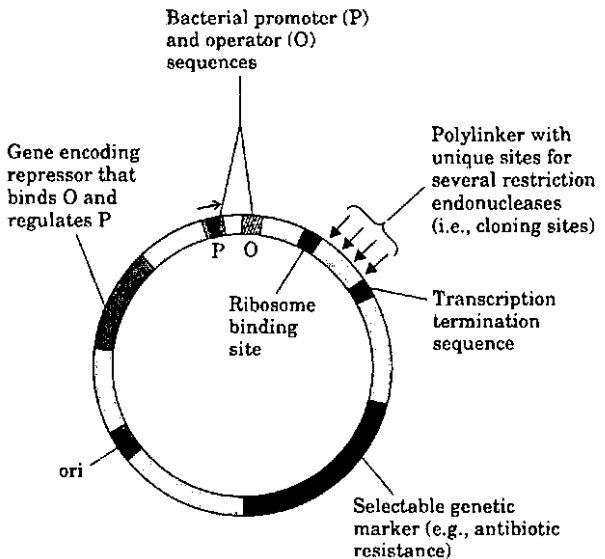


FIGURE 9-11 DNA sequences in a typical *E. coli* expression vector. The gene to be expressed is inserted into one of the restriction sites in the polylinker, near the promoter (P), with the end encoding the amino terminus proximal to the promoter. The promoter allows efficient transcription of the inserted gene, and the transcription termination sequence sometimes improves the amount and stability of the mRNA produced. The operator (O) permits regulation by means of a repressor that binds to it (Chapter 28). The ribosome binding site provides sequence signals needed for efficient translation of the mRNA derived from the gene. The selectable marker allows the selection of cells containing the recombinant DNA.

Alterations in Cloned Genes Produce Modified Proteins

Cloning techniques can be used not only to overproduce proteins but to produce protein products subtly altered from their native forms. Specific amino acids may be replaced individually by **site-directed mutagenesis**. This powerful approach to studying protein structure and function changes the amino acid sequence of a protein by altering the DNA sequence of the cloned gene. If appropriate restriction sites flank the sequence to be altered, researchers can simply remove a DNA segment and replace it with a synthetic one that is identical to the original except for the desired change (Fig. 9-12a). When suitably located restriction sites are not present, an approach called **oligonucleotide-directed mutagenesis** (Fig. 9-12b) can create a specific DNA sequence change. A short synthetic DNA strand with a specific base change is annealed to a single-stranded copy of the cloned gene within a suitable vector. The mismatch of a single base pair in 15 to 20 bp does not prevent annealing if it is done at an appropriate temperature. The annealed strand serves as a primer for the synthesis of a strand complementary to the plasmid vector. This slightly mismatched duplex recombinant plasmid is then used to transform bacteria, where the mismatch is repaired by cellular DNA repair enzymes (Chapter 25). About half of the repair events will remove and replace the altered base and restore the gene to its original sequence; the other half will remove and

Homo sapiens interleukin 15 precursor (IL-15) mRNA... - Nucleotide result

Page 1 of 2

Exhibit D

Nucleotide

Display Settings: GenBank

Homo sapiens interleukin 15 precursor (IL-15) mRNA, complete cds

GenBank: AF031167.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

LOCUS AF031167 1248 bp mRNA linear PRI 23-JAN-1998
DEFINITION Homo sapiens interleukin 15 precursor (IL-15) mRNA, complete cds.
ACCESSION AF031167
VERSION AF031167.1 GI:2739159
KEYWORDS
SOURCE Homo sapiens (human)
ORGANISM Homo sapiens
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini;
Catarrhini; Hominidae; Homo.
REFERENCE 1 (bases 1 to 1248)
AUTHORS Tagaya, Y., Kurys, G., Thies, T.A., Losi, J.M., Azimi, N., Hanover, J.A.,
Bamford, R.N. and Waldmann, T.A.
TITLE Generation of secretable and nonsecretable interleukin 15 isoforms
through alternate usage of signal peptides
JOURNAL Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 94 (26), 14444-14449 (1997)
PUBMED 9405632
REFERENCE 2 (bases 1 to 1248)
AUTHORS Tagaya, Y., Kurys, G., Thies, T.A., Losi, J.M., Azimi, N., Bamford, R.N.
and Waldmann, T.A.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (22-OCT-1997) Metabolism Branch, National Cancer
Institute, Bldg. 10 /Rm. 4B 47, 9000 Rockville Pike, Bethesda, MD
20892, USA
FEATURES
source Location/Qualifiers
1..1248
/organism="Homo sapiens"
/mol_type="mRNA"
/db_xref="taxon:9606"
/chromosome="4"
/map="4q31"
/tissue_type="testis"
/clone_lib="lambda ZAP express, Stratagene, catalog number
939201, ref. Jerpseth, J., et al., Strategies 5(1), 1992"
gene 1..1248
/gene="IL-15"
CDS 519..926
/gene="IL-15"
/function="T cell/NK cell/mast cell growth factor"
/note="lymphokine"
/codon_start=1
/product="interleukin 15 precursor"
/protein_id="AAB97518.1"
/db_xref="GI:2739160"
/translation="MVLGTIDLCSCFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDA
TLYTESDVHPSCVTAMKCFLLELQVISLESQDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVT
ESGCKECELEKKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS"
sig_peptide 519..581
/gene="IL-15"
/experiment="experimental evidence, no additional details
recorded"
/note="short signal peptide"
mat_peptide 582..923
/gene="IL-15"

ORIGIN /product="interleukin 15"

```
1 aaatcctggc tgtcatgtac ttgctatggg cctagagtag cttacctaaa tgctactaac
61 cttcctccat accattattg taaagattaa aggtgatgca tctgttaagt aactaataga
121 gtgcttatta aaaggtaggt gttcaataag tattaattcc ctccctttct ttttcttact
181 agtgcacttg tgtttttaat ggatcatact ttaccctaga ttgtattgta ggaggcatcg
241 tggatggatg gctgctggaa accccttgcc atagccagct cttcttcaat acttaaggat
301 ttaccgtggc tttgagtaat gagaatttcg aaaccacatt tgagaagtat ttccatccag
361 tgctacttgt gtttacttct aaacagtcac tttctaactg aagctggcat tcatgtcttc
421 attttgggat gcagctaata taccagttg gcccaaagca cctaacctat agttatataa
481 tctgactctc agttcagtgt tactctacta atgccttcat ggtattggga accatagatt
541 tgtgcagctg tttcagtgca gggcttctta aaacagaagc caactgggtg aatgtaataa
601 gtgatttgaa aaaaattgaa gatcttattc aatctatgca tattgatgct actttatata
661 cggaaagtga tgttcacccc agttgcaaag taacagcaat gaagtgtctt ctcttgaggt
721 tacaagttat ttcacttgag tccggagatg caagtattca tgatacagta gaaaatctga
781 tcatcctagc aaacaacagt ttgtcttcta atgggaatgt aacagaatct ggatgcaaag
841 aatgtgagga actggagaaa aaaaatatta aagaattttt gcagagtttt gtacatattg
901 tccaaatgtt catcaacact tcttgattgc aattgattct ttttaaagtg tttctgttat
961 taacaaacat cactctgctg cttagacata acaaaacact cggcatttca aatgtgctgt
1021 caaaacaagt ttttctgtca agaagatgat cagaccttgg atcagatgaa ctcttagaaa
1081 tgaaggcaga aaaatgtcat tgagtaatat agtgactatg aacttctctc agacttactt
1141 tactcatttt ttttaatttat tattgaaatt gtacatattt gtggaataat gtaaaatgtt
1201 gaataaaaat atgtacaagt gttgtttttt aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
```

//

Exhibit D
(cont'd)

Exhibit E

Nucleotide 

Display Settings: GenBank

H.sapiens mRNA for interleukin-15

GenBank: Y09908.1

FASTA Graphics

Go to:

LOCUS Y09908 486 bp mRNA linear PRI 30-MAY-1997
DEFINITION H.sapiens mRNA for interleukin-15.
ACCESSION Y09908
VERSION Y09908.1 GI:2143255
KEYWORDS IgVk signal peptide; IL-15 gene; interleukin-15.
SOURCE Homo sapiens (human)
ORGANISM Homo sapiens
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini;
Catarrhini; Hominidae; Homo.
REFERENCE 1
AUTHORS Meazza,R. and Ferrini,S.
TITLE Expression of two IL-15 mRNA isoforms in human tumors does not
correlate with secretion: role of different signal peptides
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 486)
AUTHORS Ferrini,S.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (08-APR-1997) S. Ferrini, IST, Immunopharmacology, Largo
R. Benzi 10, Genova, 16132, ITALY
REMARK revised by author
FEATURES
source Location/Qualifiers
1..486
/organism="Homo sapiens"
/mol_type="mRNA"
/db_xref="taxon:9606"
gene 1..486
/gene="IL-15"
CDS 57..467
/gene="IL-15"
/codon_start=1
/product="interleukin-15"
/protein_id="CAA71044.1"
/db_xref="GI:2143256"
/db_xref="GDB:354804"
/db_xref="GOA:P40933"
/db_xref="HGNC:5977"
/db_xref="InterPro:IPR003443"
/db_xref="InterPro:IPR020439"
/db_xref="InterPro:IPR020466"
/db_xref="PDB:2Z3Q"
/db_xref="PDB:2Z3R"
/db_xref="UniProtKB/Swiss-Prot:P40933"
/translation="MDFQVQIFSFLISASVIMSRANWVNVISDLKKIEDLIQSMHID
ATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESQDASIHDTVENLILANNLSLSSNGNV
TESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS"
ORIGIN
1 cggattggga tcggacctac ttgattcact tctgggaaat caaggatcta cgtaccatgg
61 attttcaggt gcagattttc agcttcctgc taatcagtg ctcagtcata atgtctagag
121 ccaactgggt gaattgaata agtgatttga aaaaaattga agatcttatt caatctatgc
181 atattgatgc tacttttatat acggaaagtg atgttcaccc cagttgcaaa gtaacagcaa
241 tgaagtgcct tctcttggag ttacaagtta ttctacttga gtccggagat gcaagtattc
301 atgatacagt agaaaatctg atcatcctag caaacaacag tttgtcttct aatgggaatg
361 taacagaatc tggatgcaaa gaatgtgagg aactggagga aaaaaatatt aaagaatttt
421 tgcagagttt tgtacatatt gtccaaatgt tcatcaacac ttcttgattg caattgattc
481 ctcgag
//

Exhibit F

Nucleotide

Display Settings: GenBank

H.sapiens IL15 gene

GenBank: X91233.1

FASTA Graphics

Go to:

LOCUS X91233 14968 bp DNA linear PRI 14-NOV-2006
DEFINITION H.sapiens IL15 gene.
ACCESSION X91233
VERSION X91233.1 GI:992997
KEYWORDS IL15 gene; interleukin-15.
SOURCE Homo sapiens (human)
ORGANISM Homo sapiens
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini;
Catarrhini; Hominidae; Homo.
REFERENCE 1
AUTHORS Krause,H., Jandrig,B., Wernicke,C., Bulfone-Paus,S., Pohl,T. and
Diamantstein,T.
TITLE Genomic structure and chromosomal localization of the human
interleukin 15 gene (IL-15)
JOURNAL Cytokine 8 (9), 667-674 (1996)
PUBMED 8932977
REFERENCE 2 (bases 1 to 14968)
AUTHORS Krause,H.G.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (09-SEP-1995) H.G. Krause, Univ. Klinik, Benjamin
Franklin, Inst. f. Immunologie, Hindenburgdamm 27, D-12203 Berlin,
FRG
COMMENT Overlaps with U14407 & U03099.
FEATURES
source Location/Qualifiers
1..14968
/organism="Homo sapiens"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:9606"
/chromosome="4"
/map="q25-35"
/clone="11/4"
/clone_lib="Stratagene Cat.#945203"
intron 1..247
/experiment="experimental evidence, no additional details
recorded"
/number=1
mRNA join(<248..357,1351..1448,2807..2892,8696..8740,
10603..10739,13493..14001)
exon 248..357
/number=2
gene order(347..357,1351..1448,2807..2892,8696..8740,
10603..10739,13493..13604)
/gene="IL15"
CDS join(347..357,1351..1448,2807..2892,8696..8740,
10603..10739,13493..13604)
/gene="IL15"
/codon_start=1
/product="interleukin-15"
/protein_id="CAA62616.1"
/db_xref="GI:992998"
/db_xref="GDB:354804"
/db_xref="GOA:P40933"
/db_xref="HGNC:5977"
/db_xref="InterPro:IPR003443"
/db_xref="InterPro:IPR020439"
/db_xref="InterPro:IPR020466"

Exhibit F (cont'd)

```
/db_xref="PDB:2Z3Q"
/db_xref="PDB:2Z3R"
/db_xref="UniProtKB/Swiss-Prot:P40933"
/translation="MRISKPHLRISISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAAGLP
KTEANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLEELQVISLES
GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFIN
TS"
intron 358..1350
/gene="IL15"
/experiment="experimental evidence, no additional details
recorded"
/number=2
exon 1351..1448
/gene="IL15"
/number=3
intron 1449..2806
/gene="IL15"
/experiment="experimental evidence, no additional details
recorded"
/number=3
exon 2807..2892
/gene="IL15"
/number=4
intron 2893..8695
/gene="IL15"
/experiment="experimental evidence, no additional details
recorded"
/number=4
exon 8696..8740
/gene="IL15"
/number=5
intron 8741..10602
/gene="IL15"
/experiment="experimental evidence, no additional details
recorded"
/number=5
exon 10603..10739
/gene="IL15"
/number=6
intron 10740..13492
/gene="IL15"
/experiment="experimental evidence, no additional details
recorded"
/number=6
exon 13493..14001
/number=7

ORIGIN
1 ggcattgtaa tcagacagaa ctggcctcaa atcctggctg tcatgtactt gctatggggc
61 tagagtagct tacctaaatg ctactaacct tcctccatac cattattgta aagattaaag
121 gtgatgcatc tgttaagtaa ctaatagagt gcttattaaa aggtagggtg tcaataagta
181 ttaattccct ttctttcttt ttcttactag tgcacttggt tttttaatgg atcatacttt
241 accctagatt gtattgtagg aggcacgtg gatggatggc tgctggaaac cccttgccat
301 agccagctct tcttcaatac ttaaggattt accgtggctt tgagtaatga gaatttccgg
361 taagaagaaa aatagatgaa aatatcctat ggaatttccc ttaaagggtc tctgaatctc
421 agagtctttg caataagtta catggttatt ctccaaagat cttgagatat cacagatgtc
481 tgttcacatt tggattgttc ttattttgaa aataaatagg tttttaaaaa ctctattgac
541 catcttgata ggctcttctt gtcattataa atgtgttatt tcacttatcc cactcttttg
601 tgttctctaa atgtctttgt actcactaaa ttgtgtagtc ttagagggca ggggtgtggg
661 atcattcatc tttttgaaag gaagcatgaa caattagtgg ttaagggtggc agttaacact
721 gctttctgaa actttaaaag ctctgacaac acaaaagagg caggtgaaag taccaaaact
781 ctggtaagtt gtaggataaa tgattttcct aaatcaccaa gaaagattat tagtcactct
841 caagatggaa tacagtatct gtaattgggt ccattttatc caatttttca ccaaataata
901 ttaatataat tcattttcat aatttacatg aagttaatat aactattgca tctctgttag
961 taatgcatgt tattaacctg tgcgtataa aatattttga cctattaaaa aagaaaagaag
1021 gatgaggagg aggtcaaaga taatataaaa actttaagtg gtgacattgg tatgtatgta
1081 aattaacaaa tatgtcaact ttgttaaatt atctttgaca tgcactctgc gaaatatctg
1141 ttaaggaaact ttgtgcataa gagacagagt tggagggtgg agagaaagtg aaaaaagata
1201 aattatagtt ttattatttt tgataagggg cagtaattat gaaattatga caaacttaca
1261 tcttttagacc tagaaatatg ttgacatgtt attttaaac tcacttttta actaaaaat
1321 ttaaccattt gtctatgatt atatttttca gaaaccacat ttgagaagta tttccatcca
```

Exhibit P
(Cont'd)

```
1381 gtgctacttg tgtttacttc taaacagtc ttttctaact gaagctggca ttcattgtctt
1441 ctttttgggg gtaattttat ctttaggcac aaataacatt atgttcatgg tcatgatgat
1501 tgtccttggg tatattttcc attaaattag tttagcttca gtttgcttat atctctaggt
1561 actcagtatc tgggggatag aaggcagact acagagattt agagaggttt ggtaaaccac
1621 taactgagca tttttctaca ttgtggtaat agtccaaaca agcattatag cctcaaata
1681 aattgggcct tttgataatt aactgaactt ggaagtatac cacttattga tagactacat
1741 atttttcatg gcaattaaaa gtagatattt agaatttgc tttgttactt ttttatctgt
1801 ccttgacact gactcctcct atcccttgat ctttatccta gttcagttta aaacatttct
1861 ttcttttatt aagccttttg ttgtttcctt ctaataaaat tcatatgttt ccatgactat
1921 taactttttt cttctctctt agatgcagct aatataccca gttggcccaa agcacctaac
1981 ctatagttat ataactctgac tctcagttca gttttactct actaatgcct tcatgggtatt
2041 gggaaaccata gatttgtgca ggtaattcct catcataaga cagatttagt ttgactatca
2101 tgccttctgt taagatccat cagggaagtga gtgattattt ttccctcaagc tctaagcacc
2161 attccaatgt tacttgggtc gtataagtgt attttgtctg gatattaaat ttaatttttt
2221 atgaaatttg tgaagtgtg taagtatatg atcattcagc ctacactgga atgaagtctg
2281 tactgtttat ggagaaagct gctgcaagca tagtaagagt gtgagcaaca tgaagggggc
2341 atgtttaatg tagtgtaaaa aaaatttact atcaaaatca ttacatgaaa atgattatta
2401 ctcattttaa gaattttacc tattttattg acttcaaggt cctgtaaaat cttacttaa
2461 aggaaactag taattcattc aaaatcattt attgagcatt gccacacatc tggcactgct
2521 tctatttcat tgtgataaat tgagccagtt tatttataaa gtatgcctac agttaggctt
2581 ttctctaata cgggttgggt aagcctcaag ttatcataaa atgccaaaat tgtactatat
2641 gctcaatggt tatgttcagt tacaaggctg ttgaatgcac agaagcaagg ataacactga
2701 ttttttccact ggtcagaata aaaattattg attgctcttt tgcttatagt attcatcaag
2761 atgaataggt tcttcaaaa tgctttgctc tatggttttt ctttcagctg tttcagtgca
2821 gggttctcta aaacagaagg caactgggtg aatgtaataa gtgatttgaa aaaaattgaa
2881 gatcttatcc aagtgtgtac tcatttttcc ataaaaatgcc tggataaact gctatggagt
2941 ttgtctctct ctgtgttttt ctgtctgtct taaggaaacc acacttgaaa caataattt
3001 ttgttagaaa tttatgatct tataaagctc aaaaagaagt cttttcctta ctgttttaga
3061 atctaattat ctttaaaacg taatttataa gcggccacga cggatgagtt ctagtctgca
3121 caggtgaggt attctcttcc tctatctgga gaagccagat atcttgggtg cacctgcagg
3181 gagaatgctc tgaccagggt aacagctggt gttgcttggt gactaaaggc cctctcttcc
3241 cacctcaaga aaacaggtgg cctgacctaa ggaagtgatt tttgccatag caggtaatac
3301 cagcttcagt ggaagtctcg atggcaccac gcataccaaa atagcaccac aaagttctga
3361 aaactaaatt gtcattggaa tcacagcatt aaaaaatagg ttagaacttg catgctaaat
3421 ccaaacacac tgactgcatt ttaaaataga agattttaat aggaccagag tgccttaaca
3481 taatagacat gaagccaaga tacaattgga aatcacccat tgaacaaga aataggaaag
3541 ttacaactta aatgagaaaa tatagtcaac agattacaaa attgaagtgg atcagatggt
3601 ggaattctct gacatagatt tgaaagcaga cattataaaa agtgcttgaa aaagcaatta
3661 caaatgccct tgaagcaaat gaaaaactaa atgccttaac aaagaaatag aagatatgaa
3721 aggaaccata tagaaattat ataactgaaa atataactga aatataaagc aaactgtaaa
3781 ggctcattag cagaatgaat gacagaggaa tgatagttaa ttgacaaca gaatactaga
3841 gagcagttg acttaagaaa aaaaagcat cactgatctt gacgacagta acaaaagatt
3901 cagcattcct atggttagta tcacaggaga gtatgagaat acaccaagta aaagagagag
3961 attgggtgaa ttcataacaa aacaccacc atctatacta tctataagca gttcacttct
4021 agtacaatga catacatagg ttgaaattta aaaagacaga aaaagatata gcatactata
4081 atgggttgaa tagtgtcccc ccaaatttca catcctcttg gaaccttaaa atgtgatctt
4141 attttgaaat aatatctttg caaatataat taatgaaatt aagatgagat catactagag
4201 tagggggggc cctaaatcca atgacaagtg tctttattag aaaaggaaag gacacagagt
4261 aactcactgg gaagaaagcc atgtgaagac agaggaaagag atcagagtga tgcggctata
4321 agccaaggaa ggccagagat tgccaggatc caccagaacc ttgggggaagt caagaaagca
4381 ttcttctcta gactgataca catgcataca ttaattataa aaagcagaag tggctatatt
4441 aacatcaaa ttaattgtat taacataaag tagacttcac agaaaaataa gttgctataa
4501 tccagaggga tattacaaaa tgataaaaaa taaatctgtg aggaaaacat aatgttctta
4561 aatgtataca catcaaacaa cgaagactca aaatttgtga aacaaaaaat aatagggata
4621 aaagagaaat agacaaatcc acaattatcc ttgaggactt cactgcctcc tcttcagtaa
4681 ctaatggaag tactagacag aaaatcagaa agggcataaa aatacaatat aaccaacca
4741 caggatctaa ttaatacat agagcactac acccaacaac agcagaatat actttctttt
4801 atcaagacta aatatatact gagccataaa agaaacttta aaaatttttt cagaacttaa
4861 atcatgcaga atttgttctc aaaccacaat ggaatcaaac cagaatcaa gaaattaaat
4921 acaacgggca aatctcaaaa tgcttggaaa ttaataacta tactctata taatccatgg
4981 gtcaaaagat aaatctcaaa ggatattcat aatacataga atgaaaaaaa atgaaataca
5041 gcatatcaag atatatgtga tgtggctaaa gcaatactga caggacattt tttaaaatca
5101 aatgaataca ttagaaaaaa aggagaatta tcaaatcaaa aatctaagtt actgcttcaa
5161 gaaactagaa gaagttaggc aaaacaaatt caatacaagc agaacaaga aaatatttaa
5221 atataagagc caaaattaat gaagttgaaa tcaagaaaac aatagaaaaa attaatgaaa
5281 cataaaactg gttatttgga aaatcaatac aattgatctt taattgacag aaataagaga
5341 gaagacacaa atctcaggaa tgaaatttgg ggtgtcact acagaatctg cagtcattag
5401 aaggataata agaaaaacta tgaacaaatt tatgtcaca aatctgataa cttagaggaa
5461 atggaccaat tcttcagaaa ccacaaacta ccaaaacata atgaagatga aatagacaat
5521 ccaaacactc atataatcac taaatacatt gaattcatca tacacaagct cccaaaaagg
```

Exhibit F
(cont'd)

```
5581 gaccttcaag cctgctgggt acactgaate attctatcaa atatttacag aagcattaac
5641 aacaattgta cagtctcttc tagaaaatag aagaggaagg aacattttcc agttgatttt
5701 aggaggccag tattactgtg atgctaaaac caaataaaga tattactaaa aaagacaact
5761 acaaaaatat ctcccattaa cttagatatt aaaatgctct ataaaaatatt aacaaatcga
5821 attcagcaat gtataaaaag aattatacac catgaccgag tgagatttat ttcagggtaca
5881 caagtcttgc tcaattattt gaaagtcaag caatgtaatc taccctatca acaggctaaa
5941 gaagaaaatc atatgtagaa aaggtatctg ataaaaatgca acacctctca tggcctgtgt
6001 cctcccttat gctcctgga tttatatgtt gaagtactaa ttgccagtat atcaaaatgt
6061 gactgtattt tgagataggg tcagttaaaa tgaggtcagtg agggcagggtc ctactgcaat
6121 atgactggta tcttttagaa aacagataag ggtatagata cacagagata gaaaacctg
6181 tgaagacatg ttcaaaaagt cttagagctac aagccaagga gggaggactc caaagaaacc
6241 aacactgctg gtacctgat ttcagacctc tagcctcttg aattgtgaga aaataaagtt
6301 ctattattta agtcaccaag tctgtggtag tttttatagc agccttagca gactgtata
6361 aacacctatt gaagataaaa tttcttagaa agtaggtgtg gagaactgcc tcaacttgg
6421 tgaagacatg ttcaaaaagt cttagagctac catacttaat ggtgagtaca agactgaa
6481 tttttctgct aggactggaa actaagcagg gatatcttct ctcaccactt ttactcaaca
6541 taattgtctg agttttctgt tgcttataac agagtacttg aaatgcataa tttataaaga
6601 aaggaattta tgtcttatgg ttatgagact gaaaagtcca aggttgagga gccacatctg
6661 gtgaggcctt tctgtctgtt gggggtcttc tggagtccag aggtgacaaa aagcatcaca
6721 tggcgagggg ctgaatgtac tcatgtgcta gctcagggtc ctcttctctt tcttataaaa
6781 ctaccggttc cctttccgta ataacacatt gatactctaa tccattcatg agggcagagc
6841 cattgtgatc caattacctc ttaaagcccc acctctcaat actgccacat tggggattaa
6901 gtgtcaactt gaattttgga ggggacattc aaaccacagc aataatattg gaagttagc
6961 caaattatga agcaggagag aaaaaatgta tgagaaaaaa ataaataaaa ggcacacaga
7021 ttggaaggga aaattatata tcaccccaag ttttttggag agaaagtatg aaaaatgggt
7081 atattttgtt tagaaagtaa tgcaaatata aaccacaatg acatattatt acatgcagct
7141 ataagcactt acagaataaa aaatagtgat gatgctaagt aaatataaat gaacaagggt
7201 gataatgtct gcaaggatgt ggagaaactg gatcattcat acattgctgg tgatgatgta
7261 aaatgatata ggcactgtat aaaatagttt ggcagcatcc tatgaaacaa aacatgcatt
7321 tgccttaciaa tccaacaatt gtgctcttag acattcatcc ttgataaatg aaaactacgt
7381 gcacacaaaa atatgtacat gaatgttcac agagattttt tcatgactgc caaaaactgg
7441 aaacagatgt gcttcagttg tgaatatctg tgatatatca tgcacgggaa tactacagag
7501 caataaaaaa gaacaaacta gtgatacca caagttaggt ggatctccag ggtattatga
7561 tgagtgaaaa aagccagttc tcataaagaa actgtggtac atttataaaa tagaatatta
7621 tccagtataa aaaagaaata agctatcaag ccatgaaaag aaatggagaa accttcaaag
7681 tcatattgtt gagtgaagaa tggggacgcc aatctgaaaa ggcttcacac tgtatgatcc
7741 caactatgac attttgaaaa agggcaagct atggagacaa taaaagatc agtggttgtt
7801 aggggttttg aggggaaggag aaatggctag gcagagcaca ggctactttt aaagcagtg
7861 aaatattaat atatgatgat ggggtggcatt atacatttgt caaaacctgt aaaacataca
7921 aacataataa ttagcctcta tattctgtac acttaagatc ataatagtga ttaccaact
7981 ataacaaaca caccacacta atgcaagata ttaacaatag ggaaactggg gtggagaaca
8041 aaggggtgtg taagtctctg tactttctgc tagttttctt gtaaacctaa atggctcata
8101 aaaatgtcta tcaattcttt taaaagctaa tttcagaagg ttacatatga tatgagtcg
8161 tttacataat attcttgaaa tgacaaaatt ataggcatgg agagcagaga agtgggttgc
8221 agaattttag gagattgggt gatgatgagg tatgtatggg gagaaagggtg accttggtta
8281 tgaaagaata gcagcagaat ccttgtgggt atgaaactat tttgtgtctt aactgtgggtg
8341 gtgggtgatg gaatctatgc aaatgataaa attgcataaa acctcacaca tatgcaagca
8401 cacacactgt ggcacataaa acttgtgaaa tctgaacaaag gtgagtgcac tgtattaatg
8461 tcaattttct gattgtaata ctgtactgtg gttatggaag acattaccac tgggagaagc
8521 ttgttgaagg gtacacagga tctctctgta tttactctta cagtttcata tgaattttta
8581 attatctcaa aataaaaaaa gaattaaaaa caatttaatg ttttcagtag gttgttctca
8641 taatatttaa agcagggcac agtttttaat attgtctaatt tttgtttcct ttcagctcat
8701 gcataattga gctactttat atacggaaag tgatgttcac gtgagtatac tttttttcaa
8761 aattgctatt tgtcttgta ttaaagtttt taaaagtata tttttgtaac aactaaaaata
8821 tggtagtttt aaaatctaac ttttgggtg tttctataat atatgggtcca tgagttttat
8881 tagtgattat tgagatggga cttggggaca gatagctaca tcaatgctat ttttgtaatg
8941 gtgccaatc aaaaatttaa aagagtcttt tccatcaatg tcaaacaga tacattatac
9001 gtttttgtga tgcagttgca tcatgtgtca attagatgca aaaatcagat taactgtttc
9061 aatttaagag tagccaatat atcagttatt tccaatgctg taatgtatca ccactgtcaa
9121 tcatattttc cataaattgc ttaaaatcat tcatgttctg cattttacat gattctctac
9181 atttgtcaga aaaagattct aattattctc tatgtgagaa aggaaacata acccatgaaa
9241 cttatttaga ctgaaaaatg gtcttgaact tgtttcatta atacctgac atttcttaag
9301 gaatgtagga tttgtcatgt tgggtgggtg tcttcccttc agtattgtta ctaaaacca
9361 gaaatgaatc cccaacttca cgtcagggaa aacaaactct atgtectctc tccattattc
9421 ctcaattaga acttctctta catagatgac tttctaagca ttggaaagaa accatagtca
9481 gaaactagaa aaaagagata ttcactaacc aattgggtca tgcgtctgca caaagaaatt
9541 gtctccctcc tctggttca gcatggattc tgtttttctt tgcatttttt gtaaaatgga
9601 aagttagtcaa ttagccacca aattcagcat cctgaaattg cttttttgca agaagataac
9661 tttgcaaccc atgggttaga gaaacaacct tagatttttag attttagatt ttagaagttt
9721 agatttttaa actgactcca ccacttttta cttgtgttac cttggagatt gctaaacatt
```

Exhibit F
(cont'd)

```
9781 tctgaagctc atttttatta ttgetgatat ggtgacagta tttgtcttcc aatcctaagc
9841 agtgactgtt ggggtttaagg aatattacca gtgctgggca catgggtgta ttcccttcatt
9901 ttttttatcc attcagtaag catttttgaa gtgtctgcag gctcccaggt actgtgcaag
9961 gtatcgagga cacaaagtca aataatgggc aaatccctag atattccctg tttcctttct
10021 ttaagttatt gttaaagtaa atgttgtgga aaacatattt ttgtggcacc taagagagcc
10081 tttcttgatt tgatctgcct gtaagtggac actagtccctg ctttgatttt tctaataaat
10141 ttcttggaat tacttctctc cctctggaac tttggaactt gaaagaacag tataatttagc
10201 agctaccact atttanaaatg ttaacaacac aatttgattc taaaaattct tacaataaaa
10261 ctgtctatat tgatgttttc agactctaaag gccagtatta ttacccttcc cacaggggaa
10321 atgtgctcgg tgagaaaaac tggccactat ttctgcattt tctagtttca tgttctctg
10381 tacaatattg ccctccctct tgattgtgtt ttgttggttt gttttggttt ttatttttaa
10441 gccaaaagaa aaaaaattaa gctgcctcct atgtaaaatt tcttaaggat attgtgtatc
10501 tttataaaat atttggattg actttttgaa aatcaaaatt acatcagtat gaaaattaat
10561 aatcagaaaa aagtaattgt tctttataac ttttattttt agcccagttg caaagtaaca
10621 gcaatgaagt gctttctctt ggagttacaa gttatttcac ttgagtcagg agatgcaagt
10681 attcatgata cagtagaaaa tctgatcatc ctatgcaaca acagtttctg ttctaattggg
10741 gtgagtttcc caacagttgc ttagagttgc atcttatgtt ttgggctga tttggagaag
10801 tcattcatgt acaagcagat cctcctaagg ggcaatcagg agaaggagtc ctgttccagt
10861 ggagtggtgt gcaaaagtgg caccatctcc agcatgcaca caatgctaaa ctgttcaatg
10921 attgattcag tagacaaaca tttacagaat aatgccaggt agtggtcttc agtgctagaa
10981 ttatagttgc aaaccagaca gacaggtcac tgacctcaag gtgtttattg tcagggtgcag
11041 tggatagaca ttaactctat tacatactca aatgtctaac atcaataata gtaactcaca
11101 tttattgagt tattactgta tgccagacac tattctttga gctttaaatt gataattcat
11161 ttaactctca tgataaatct gtgagatagt tatctttatt tctgtttgaa tgttgaagaa
11221 attgtagcac tgagagcctg gatcactcgc ttcagttcat acagctagta aaatggggag
11281 ccacaactct taccggagca gtctgtctgc agagtctgtt atctcatgag aagataaatg
11341 ctcttaaaag ataacaatga aaatatctat gattcagata taatctggga catccagcg
11401 aacttgagca gttaggggtt ccaggagagc aaattctagg tactcgtatg ataggctggg
11461 gaatcagctg tgcaatggcc ctgaagtgca aagaattagg gctttcatgg caaaacacca
11521 gtggccaaag caaggtagag agaaagcagt tttgcaaca agaggcataa tcaaattagt
11581 tctttcataa aatacttttt agccctcagg agacagtatg aaaaaatccc cataatccct
11641 gctgttaaag agggaggaaa cagaaataaa ccaagcactc agcaaatgag taataagtta
11701 gttatttatg aagtcagtg gtgaaaaagg acacagggtg ggggcactgg ggctccagtt
11761 agggtaggct gagctaataa gctgccattt gacaaagatg tgagagaatg agccttaagg
11821 gtatctaggg acatatgttt aggcagagac aactgaaagt gcaaaaggcc taagctttgtg
11881 tgggtggaca ccttgacttt tctctaaaaa tacaagactg ctttaggtct ttgcttcagt
11941 gtacacttct cagtgattta cctatttaca gttgcaatcc ctccctatc tgagcactcc
12001 ctgtcccttt ccttgcgtgt cccatatctg gaatatgata tattttatgt aatgggtatt
12061 gtctgttttt cctcactaga atgtcagctt aaaatggaca agtgtttttg tttttatta
12121 gtactatata caaattccca gaacagtgct tcatatataa taaatacttt acatatgtat
12181 gaaatgaatt tattaagggt tataatactc ttatgatgtt atctccatct tattggtgga
12241 aagagtgagc cacgcaacag gtaactcatg gcaaaataaa tgatgagctc tttaatgtga
12301 atgttgatag tcatcctcat catgacagag tgtgacatac gtgctggaat gcgtgggagc
12361 gactgcacag tcagaagacc ttggatggga gaatttcagt tgattatgtc agttgagatg
12421 agtcaatata tctgtcttcc tatctgacat gattattttc aggatcaaat aggacagcat
12481 tatatgaat atgacagtgc ttggcataga ggatgtgctt gataaatgtc gctgattctg
12541 aattccaaat agttaatgga tataaaatct aatttttatt tttgctggca cagccttcat
12601 ggttcagatg atctctaaaa agtttattct taattgctac atttggaaca ttctagttat
12661 ccatgagact gtgtttgaag tacaacaatt tgttggtatt acctaaatgg ctgatttcaa
12721 ccaatgggtg attacagtgt gtccagccct gtgctaaatg ctagggaac aaacatactg
12781 gctctgacct tctggcagag agcttagaga atagtattac agtataaaaa gagtataaact
12841 tcataatatg aatagaatag atgacatatt gtgagagagg tctaataaag gggttctgag
12901 atgtaaagat gggacattga gtccagccct aggagcccag gggttcagag aagcctccct
12961 aaaagagtac ctgaataatc ttaagtgcga gtacgagcag ctaaaatagg aatgaatgta
13021 acagagagaa aagcaaaggc agagaggcat ctaatagtat gctgtgcatg gcaaggaaaag
13081 ccagatgctc actcagtgtt tctagggcat aacattgagg caagggggat atgtgaaata
13141 aataggtaag gaacagctca tgaagagcct gtgtgctatg cagggaggca tggctcttat
13201 gctagaagca gatgatagga aaccattgaa gggctcaaaag caggaaactcc gtggtctgat
13261 agacacagct tatttttctc aatgtcctta acccattatt ggaaaaataa acatatatca
13321 aatctccctg ttctctttcc tctagtctct tctaataatg ctatttattt gctaaagctt
13381 tcatatctca agacctcacc atatggttca aacgatatga tattcccatc ccatgaaatg
13441 tatatttaat ttaattataa attgccaatt taatctctct ctatattttg cagaatgtaa
13501 cagaatctgg atgcaaagaa tgtgaggaaac tggaggaaaa aaatattaaa gaatttttgc
13561 agagtttttg acatatgtc caaatgttca tcaacacttc ttgattgcaa ttgattcttt
13621 ttaaagtgtt tctgttatta acaaacatca ctctgctgct tagacataac aaaacactcg
13681 gcatttcaaa tgtgctgtca aaacaagttt ttctgtcaag aagatgatca gaccttgga
13741 cagatgaact cttagaaatg aaggcagaaa aatgtcattg agtaatatag tgactatgaa
13801 ctctctcag acttacttta ctcatttttt taatttatta ttgaaattgt acatatattg
13861 ggaataatgt aaaatgttga ataaaaatat gtacaagtgt tgttttttaa gttgactga
13921 tatttttacct ctattgcaa aatagcattt gtttaagggt gatagtcaaa ttatgtattg
```

```
13981 gtggggctgg gtaccaatgc tgcagggtcaa cagctatgct ggtaggctcc tgccagtgtg
14041 gaaccactga ctactggctc tcattgactt cettactaag catagcaaac agaggaagaa
14101 tttgttatca gtaagaaaaa gaagaactat atgtgaatcc tcttctttat actgtaattt
14161 agttattgat gtataaagca actgttatga aataaagaaa ttgcaataac tggcatataa
14221 tgtccatcag taaatcttgg tgggtggtggc aataataaac ttctactgat aggtagaatg
14281 gtgtgcaagc ttgtccaatc acggattgca ggccacatgc ggcccaggac aactttgaat
14341 gtggcccaac acaaattcat aaactttcat acatctcggt tttagctcat cagctatcat
14401 tagcggtagt gtatttaaag tgtggcccaa gacaattctt cttattccaa tgtggccag
14461 ggaaatcaaa agattggatg cccctgggat agaaaactaa tagtgacagt gttcatattt
14521 catgctttcc caaatacagg tattttatct tcacattctt tttgccatgt ttatataata
14581 ataaagaaaa accctgttga tttgttggag ccattgttat ctgacagaaa ataattgttt
14641 atattttttg cactacactg tctaaaatta gcaagctctc ttctaattgga actgtaagaa
14701 agatgaaata tttttgtttt attataaatt tatttcacct taattctggt aatactcact
14761 gagtgactgt ggggtgggaa atgatctctt aagaatttga tttctttcta ttccatagta
14821 caaactcggt ctctgttgaa acattcttct atcacccag tgcctatcc atgtacatgt
14881 gttcttattg ctctagtcaa acggtgctta taaatatctt tcagaaagct taggagaaat
14941 ctgtatecta tttgacttcc aataatca
```

//

Exhibit F
(cont'd)

Exhibit G

Nucleotide

Display Settings: GenBank

H.sapiens mRNA for interleukin-15 (cell line NCIH82)

GenBank: X94223.1

FASTA Graphics

Go to:

LOCUS X94223 643 bp mRNA linear PRI 27-SEP-1996
DEFINITION H.sapiens mRNA for interleukin-15 (cell line NCIH82).
ACCESSION X94223
VERSION X94223.1 GI:1495461
KEYWORDS interleukin-15.
SOURCE Homo sapiens (human)
ORGANISM Homo sapiens
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini;
Catarrhini; Hominidae; Homo.
REFERENCE 1
AUTHORS Meazza,R., Verdiani,S., Biassoni,R., Coppolecchia,M., Gaggero,A.,
Orengo,A.M., Colombo,M.P., Azzarone,B. and Ferrini,S.
TITLE Identification of a novel interleukin-15 (IL-15) transcript isoform
generated by alternative splicing in human small cell lung cancer
cell lines
JOURNAL Oncogene 12 (10), 2187-2192 (1996)
PUBMED 8668345
REFERENCE 2 (bases 1 to 643)
AUTHORS Ferrini,S.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (12-DEC-1995) S. Ferrini, Istituto Nazionale Ricerca
Cancro, Pharmacology, Largo R. Benzi 10, Genova, 16132, Italy
FEATURES Location/Qualifiers
source 1..643
/organism="Homo sapiens"
/mol_type="mRNA"
/isolate="H82/1"
/db_xref="taxon:9606"
/cell_line="NCIH82"
/tissue_type="SCLC"
/clone_lib="H82-1,-2"
/dev_stage="adult"
CDS 223..630
/codon_start=1
/product="interleukin-15 (IL-15)"
/protein_id="CAA63914.1"
/db_xref="GI:1495462"
/db_xref="GDB:354804"
/db_xref="GOA:P40933"
/db_xref="HGNC:5977"
/db_xref="InterPro:IPR003443"
/db_xref="InterPro:IPR020439"
/db_xref="InterPro:IPR020466"
/db_xref="PDB:2Z3Q"
/db_xref="PDB:2Z3R"
/db_xref="UniProtKB/Swiss-Prot:P40933"
/translation="MVLGTIDLCSCFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDA
TLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVT
ESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS"
ORIGIN
1 ggattttaccg tggctttgag taatgagaat ttcgaaacca catttgagaa gtattttccat
61 ccagtgtctac ttgtgtttac ttctaaacag tcattttcta actgaagctg gcattcatgt
121 cttcattttg ggatgcagct aatataacca gttggcccaa agcacctaac ctatagttat

Exhibit 6
(cont'd)

```
181 ataatctgac tctcagttca gttttactct actaatgcct tcatgggtatt gggaaccata
241 gatttgtgca gctgtttcag tgcagggcct cctaaaacag aagccaactg ggtgaatgta
301 ataagtgatt tgaaaaaaat tgaagatcct attcaatcta tgcataattga tgctacttta
361 tatacggaaa gtgatgttca cccagttgc aaagtaacag caatgaagtg ctttctcttg
421 gagttacaag ttatttcact tgagtcgga gatgcaagta ttcatgatac agtagaaaat
481 ctgatcatcc tagcaaaca cagtttgtct tctaattgga atgtaacaga atctggatgc
541 aaagaatgtg aggaactgga ggaaaaaaat attaaagaat ttttgcagag ttttgtacat
601 attgtccaaa tgttcatcaa cacttcttga ttgcaattga ttc
```

//

Exhibit H

Nucleotide

Display Settings: GenBank

H.sapiens mRNA for interleukin-15 (cell line NCIH69)

GenBank: X94222.1

[FASTA](#) [Graphics](#)Go to:

LOCUS X94222 643 bp mRNA linear PRI 27-SEP-1996
DEFINITION H.sapiens mRNA for interleukin-15 (cell line NCIH69).
ACCESSION X94222
VERSION X94222.1 GI:1495459
KEYWORDS interleukin-15.
SOURCE Homo sapiens (human)
ORGANISM Homo sapiens
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini;
Catarrhini; Hominidae; Homo.
REFERENCE 1
AUTHORS Meazza,R., Verdiani,S., Biassoni,R., Coppolecchia,M., Gaggero,A.,
Orengo,A.M., Colombo,M.P., Azzarone,B. and Ferrini,S.
TITLE Identification of a novel interleukin-15 (IL-15) transcript isoform
generated by alternative splicing in human small cell lung cancer
cell lines
JOURNAL Oncogene 12 (10), 2187-2192 (1996)
PUBMED 8668345
REFERENCE 2 (bases 1 to 643)
AUTHORS Ferrini,S.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (12-DEC-1995) S. Ferrini, Istituto Nazionale Ricerca
Cancro, Pharmacology, Largo R. Benzi 10, Genova, 16132, Italy
FEATURES
source Location/Qualifiers
1..643
/organism="Homo sapiens"
/mol_type="mRNA"
/isolate="H69/1"
/db_xref="taxon:9606"
/clone="1"
/cell_line="NCIH69"
/tissue_type="SCLC"
/clone_lib="H69"
/dev_stage="adult"
CDS 223..630
/codon_start=1
/product="interleukin-15 (IL-15)"
/protein_id="CAA63913.1"
/db_xref="GI:1495460"
/db_xref="GDB:354804"
/db_xref="GOA:P40933"
/db_xref="HGNC:5977"
/db_xref="InterPro:IPR003443"
/db_xref="InterPro:IPR020439"
/db_xref="InterPro:IPR020466"
/db_xref="PDB:2Z3Q"
/db_xref="PDB:2Z3R"
/db_xref="UniProtKB/Swiss-Prot:P40933"
/translation="MVLGTIDLCSFCSAGLPKTEANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDA
TLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVT
ESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS"
ORIGIN
1 ggatttaccg tggctttgag taatgagaat ttcgaaacca catttgagaa gttattccat
61 ccagtgtctac ttgtgtttac ttctaaacag tcattttcta actgaagctg acattcatgt

Exhibit H
(cont'd)

```
121 cttcattttg ggatgcagct aatataccca gttggcccaa agcacctaac ctatagttat
181 ataatctgac tctcagttca gttttactct actaatgcct tcatggtatt gggaaaccata
241 gattttgtgca gctgtttcag tgcagggcct cctaaaacag aagccaactg ggtgaatgta
301 ataagtgatt tgaaaaaaat tgaagatctt attcaatcta tgcataattga tgctacttta
361 tatacggaaa gtgatgttca cccagttgc aaagtaacag caatgaagtg ctttctcttg
421 gagttacaag ttatttcact tgagtccgga gatgcaagta ttcatgatac agtagaaaat
481 ctgatcatcc tagcaacaa cagtttgtct tctaattgga atgtaacaga atctggatgc
541 aaagaatgtg aggaactgga ggaaaaaaat attaaagaat ttttgagag ttttgtacat
601 attgtccaaa tgttcatcaa cacttcttga ttgcaattga ttc
```

//

ENCYCLOPEDIA OF

MOLECULAR BIOLOGY

VOLUMES 1 - 4

Thomas E. Creighton

*European Molecular Biology Laboratory
London, England*



A Wiley-Interscience Publication

John Wiley & Sons, Inc.

New York / Chichester / Weinheim / Brisbane / Singapore / Toronto

53. J. W. Taylor (1995) Arch. Med. Res. **26**, 307–314.
54. R. Altmann-Johl and P. P. (1996) Mol. Gen. Genet. **250**, 69–80.
55. H. Brody and J. Carbon (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA **86**, 6260–6263.
56. D. M. Geiser and W. E. Timberlake (1996) Curr. Genet. **29**, 293–300.
57. B. B. Magee and P. T. Magee (1987) J. Gen. Microbiol. **133**, 425–430.
58. W. Chu, B. B. Magee, and P. T. Magee (1993) J. Bacteriol. **175**, 6637–6651.
59. P. J. Pukkila and L. A. Casselton, (1991) In *More Gene Manipulations in Fungi* (Bennett and Lasure, eds.) Academic Press, New York, pp. 127–150.
60. P. E. Steele, G. F. Carle, S. Kobayashi, and G. Medoff (1989) Mol. Cell. Biol. **9**, 983–987.
61. M. J. Orbach (1989) Fung. Genet. Newslett. **36**, 14.
62. D. Z. Skinner, H. L. Leung, and S. A. Leong (1990) *Genetic Map of the Blast Fungus Magnaporthe grisea (n = 6)*. In *Genetic Maps* (S. J. O'Brien, ed.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
63. D. Z. Skinner, A. D. Budde, and S. A. Leong (1991) Theor. Appl. Genet. **87**, 545–557.
64. M. J. Orbach, D. Vollrath, R. W. Davis, and C. Yanofsky (1988) Mol. Cell. Biol. **8**, 1469–1473.
65. A. Radford and J. H. Parish (1997) Fung. Genet. Biol. **21**, 258–266.
66. M. T. Cushion, M. Kaselis, S. L. Stringer, and J. R. Stringer (1993) Infect. Immun. **61**, 4801–4813.
67. J. B. Fan et al. (1988) Nucleic Acids Res. **17**, 2801–2818.
68. K. McCluskey and D. Mills (1990) Mol. Plant-Microb. Interact. **3**, 366–373.
69. T. G. Kinscherf and S. A. Leong (1988) Chromosoma **96**, 427–433.
70. J. Enkerli, G. Bhatt, and S. F. Covert (1997) Mol. Plant-Microb. Interact. **10**, 742–749.
71. M. J. Daboussi, T. Langin, and Y. Brygoo (1992) Mol. Gen. Genet. **232**, 12–16.
72. C. Levis, D. Fortini, and Y. Brygoo (1997) Mol. Gen. Genet. **254**, 674–680.
73. P. Kachroo, S. A. Leong, and B. B. Chattoo (1994) Mol. Gen. Genet. **245**, 339–348.
74. P. Kachroo, M. Ahuja, S. A. Leong, and B. B. Chattoo (1997) Curr. Genet. **31**, 361–369.
75. M. L. Farman, Y. Tosa, N. Nitta, and S. A. Leong (1996) Mol. Gen. Genet. **251**, 665–674.
76. E. Nyysönen et al. (1996) Mol. Gen. Genet. **253**, 50–56.
77. D. G. Panaccione, J. W. Pitkin, J. D. Walton, and S. L. Annis (1996) Gene **176**, 103–109.
78. E. B. Cambareri, J. Helber, and J. A. Kinsey (1994) Mol. Gen. Genet. **242**, 658–665.
79. J. W. Taylor (1995) Arch. Med. Res. **26**, 304–307.

Fusion Gene, Fusion Protein

Fusion genes consist of unrelated genes, or gene fragments, that have been joined in-frame to produce a coding sequence that is **transcribed** and **translated** as a single unit. The resulting gene product is called a *fusion protein* (as well as a chimeric or hybrid protein). The fused gene elements most often encode functionally and structurally distinct protein **domains**.

In nature, several examples of fusion genes exist. Circumstantial evidence supports the hypothesis that the assembly of relatively small domains into functional proteins is an important factor in evolution (1). These natural gene fusion events result from processes such as gene duplication and

Signal Peptide

Signal peptides are cis-acting sequences that effect the transport of polypeptide chains from the cytoplasm to a membrane-bound cellular compartment (see Protein Targeting, Intracellular). There are various targeting signals present in eukaryotic cells, and they exhibit much diversity at the primary structure level, accounting for the specificity required in routing proteins to different organelles. Many signal peptides are cleaved after targeting is achieved, including the type found in precursors targeted to the endoplasmic reticulum (ER) membrane and the mitochondrial inner membrane. This type of signal peptide is cleaved by enzymes resident within these two organelles that are related functionally to the type I signal peptidases present in eubacteria. Unlike their eubacterial counterparts, however, the ER and mitochondrial signal peptidases exist as multisubunit complexes. It has also been shown that defects in the signal peptide cleavage event are linked to some human diseases.

1. Structures of Signal Peptides

1.1. Endoplasmic Reticulum

Signal peptides of protein precursors targeted to the ER membrane are cleaved by ER signal peptidase. As depicted by the example shown in Figure 1, targeting to and translocation across the ER membrane of the yeast pheromone precursor prepro- α -factor results in cleavage of its signal peptide, thereby liberating the cargo pro- α -factor. The signal peptide of this precursor, like many others targeted to the ER, is placed at the *N*-terminus and has a typical length of 19 amino acid residues, although signals containing 40 or more residues have also been observed (1). Consistent with this variation in length, there is only modest conservation in the primary structures of various signal peptides, leading to the idea that only common structural features may be important to their function and recognition. Indeed, a general motif is apparent that consists of three regions: (i) a positively charged stretch of amino acids (the *n*-region), (ii) a central **hydrophobic** core (the *h*-region), followed by (iii) a polar amino acid stretch that includes the cleavage site (the *c*-region) (Fig. 2).

Figure 1. The signal peptide cleavage event. The diagram depicts the precursor prepro- α -factor in the process of being cleaved by ER signal peptidase, also termed signal peptidase complex (SPC). Shown here is the cotranslational cleavage of a signal peptide, although some precursors, including prepro- α -factor, can also be cleaved post-translationally.

