



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE N°

06-13004

54. TÍTULO

"MOLECULAS DE LUBRICINA RECOMBINANTES Y USOS DE LAS MISMAS"

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

A61K 38/17

71. SOLICITANTE

WYETH

DOMICILIO

MADISON, ESTADO DE NEW JERSEY, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

74. REPRESENTANTE LEGAL

ALICIA LLOREDA RICAURTE
T.P. 53.215

22. BOGOTÁ, D.C.

2106

PETITORIO



SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
 Radicación : 06012004 00000000 Folios: 140
 Fecha (VIG): 2004-02-09 16:30:28
 Trámite : 011 PET-PATENT 378 FASE NACI 411 PRESENTAC
 Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

14-03-2006

①

SOLICITUD DE:



Patente de Invención



Patente de Modelo de Utilidad



Capítulo I.



Capítulo II.

②

SOLICITANTE
(71)

Nombre: **WYETH**

Dirección: Five Giralda Farms, Madison,
 Estado de New Jersey 07940, Estados Unidos
 de América.

Nacionalidad o Domicilio: Madison, Estado de
 New Jersey, Estados Unidos de América.

Lugar de Constitución: Estado de Delaware,
 Estados Unidos de América.

Teléfono: 3284270 Fax: 6069701

E-mail: jllico@lloredacamacho.com

IDENTIFICACION

C.C. ☐

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Cual _____

Número _____

③

REPRESENTANTE
APODERADO

Nombre: **ALICIA LLORED RICAURTE**

Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5º,
 Bogotá- Colombia

Teléfono: 3284270 Fax: 6069701

E-mail: jllico@lloredacamacho.com

C.C. ☒

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Cual _____

Número 39.890.713 TP 53.215

④

INVENTOR(ES)
(72)

Nombre: **FLANNERY, Carl Ralph; CORCORAN, Christopher John; FREEMAN,**
Bethany Annis y RACIE, Lisa Anne.

Dirección: 13 Brucewood Road, Acton, MA 01720; 170 E. Broadway, Apt. 3,
 Arlington, MA 02474; 52 Foster Street, Arlington, MA 02474 y 124 School Street,
 Acton, MA 01720.

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos de América.

⑤

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2004/026508

Fecha: 13/08/04

Publicación Internacional No. WO 2005/016130 A2

Fecha: 24/02/05

⑥

Título (54) **"MOLECULAS DE LUBRICINA RECOMBINANTES Y USOS DE LAS MISMAS"**

⑦

Clasificación Internacional (51) A61B- A61K38/17, 31/328, 39/395, C07K14/435
A61P19/02

⑧

Prioridad

SI ☒

NO ☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

14/08/03

(31) Número de Solicitud

80/495,741

⑨

Comprobante de Pago No. 08-8,615

Fecha: Febrero 8 de 2006

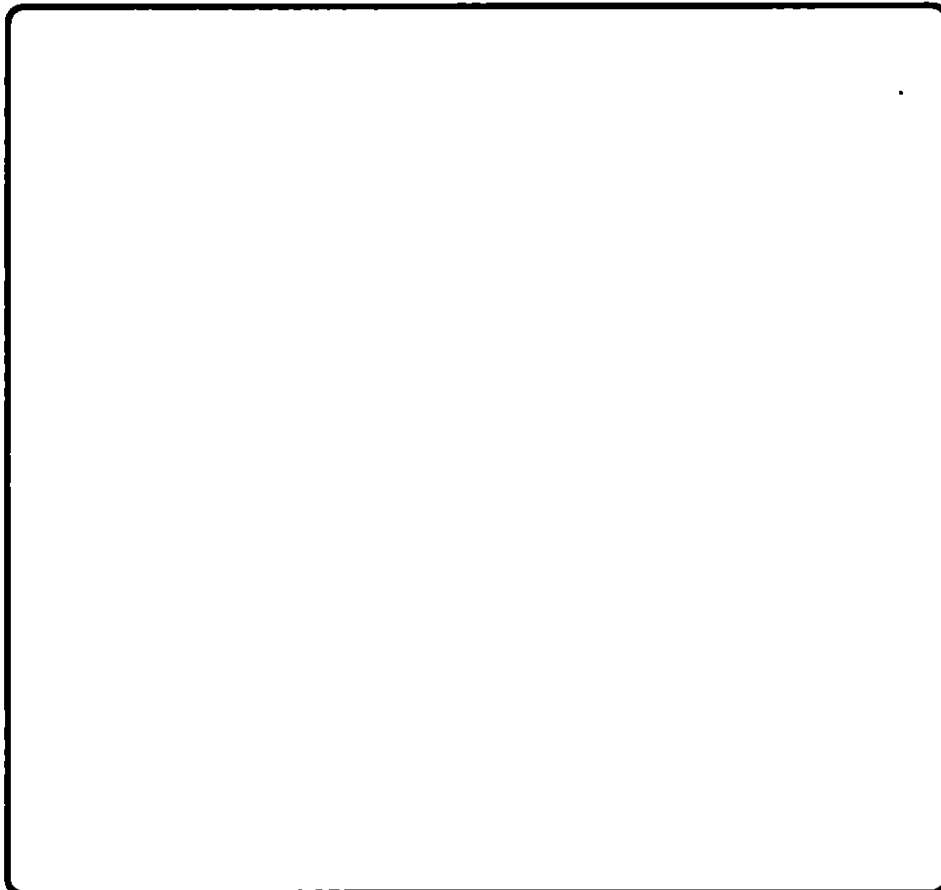
10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☒ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Documento de Representación Legal.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (resumen, descripción, reivindicaciones)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ Arte Final 12X12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros reportes de búsqueda internacional con su traducción, publicación con su traducción, opinión escrita de la autoridad de búsqueda internacional con su traducción y listado de secuencias.

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Señalar la posición de la figura característica

en la solicitud internacional de patente

Figura

Señalar la posición de la figura característica

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

MIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 9,615
FECHA : FEBRERO 6 DE 2006

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 06013004 00000000
Fecha (MM): 2006-02-09 16:30:28
Tramite : 011 PCT-PATENT 378 FASE NACT 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
Folios: 140

***** CONSIGNACION *****

ASITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	47523507	06/02/2006	9,330,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	463,000.00
	TOTAL :	\$ 463,000.

SOM: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ANEXO

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se está presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.


ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. No. 53.215

4

TRADUCCION OFICIAL No. 2004-11-09-582
DE UN DOCUMENTO PRESENTADO EN INGLES

PODER

Legalización de un Poder de Representación Legal, documento escrito en inglés y en español.

Certificado Notarial (sociedad), documento también escrito en inglés y en español.

Marilyn L. Mitchell
Notario Público, Estado de New Jersey
Mi Comisión Expira el 6 de febrero de 2005

APOSTILLA

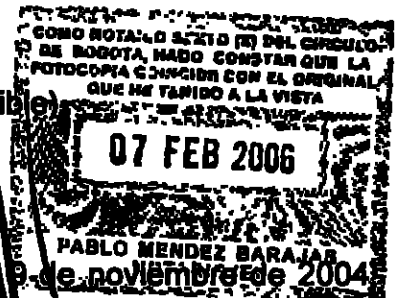
(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
2. Este documento público ha sido firmado por Marilyn L. Mitchell
3. actuando como Notario Público de New Jersey
4. lleva el sello/estampilla de Marilyn L. Mitchell, Notario

CERTIFICADO

5. en Trenton, New Jersey
 6. el día 7 de octubre de 2004
 7. por John E McCormac, CPA, Tesorero de New Jersey
 8. No. A210247
 9. Sello/Estampilla
 10. Firma: (ilegible)
- Hay un sello dorado.

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 9 de noviembre de 2004
en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo Traductora Oficial, Res.
2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.



TRADUCTOR OFICIAL
RESOLUCION 2177

Anita Escobar de Tamayo
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

*

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

283161
Anita Escobar
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DE SEMPERA
LAS FUNCIONES INDICADAS .

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2004 NOV 10 P 12:40

ucb
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.



5

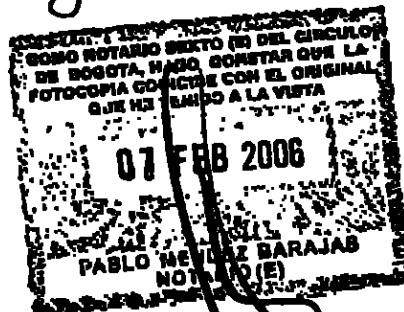
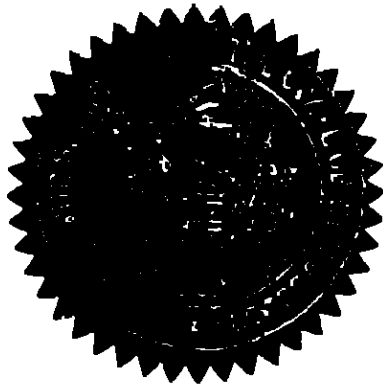
APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA
2. THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY:
MARILYN L MITCHELL
3. ACTING IN THE CAPACITY OF:
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
4. BEARS THE SEAL/STAMP OF:
MARILYN L MITCHELL, NOTARY

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY
6. THE 7TH DAY OF OCTOBER 2004
7. BY: John E McCormac, CPA, NEW JERSEY TREASURER
8. NO. A210247
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE



Los abajo firmados, WYETH, una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes del Estado de Delaware, Estados Unidos de América.

con domicilio en Five Giralda Farms, Madison, Estado de New Jersey 07940, Estados Unidos de América

nombramos por el presente a ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistír, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resultan necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

Asimismo, facultamos a los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado

6
The undersigned, WYETH, a corporation organized and existing under the laws of State of Delaware, United States of America.

domiciled at Five Giralda Farms, Madison, State of New Jersey 07940, United States of America

hereby appoint, ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, of Bogota, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of article 543 of decree 410 of 1971.

Doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, recourses and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications, file oppositions; file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests; and in case of opposition, where the proceedings be passed over to the courts, we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required, and we hereby declare from now on that said agents, or any one of them appointed may do for our benefit.

07 FEB 2006

We also authorize doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

Given and signed this: 6th day of October 2004 Wyeth


William H. Calnen
Assistant Secretary

X

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

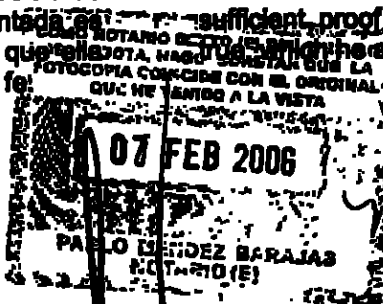
Estados Unidos de América
Estado de New Jersey {ss
Condado de Morris

Hoy 6 de Octubre de 2004 compareció
William H. Calnan, a quien conozco y
de quien me consta que firmó el anterior documento,
y quien debidamente juramentado declaró y dijo que
él es

de WYETH la compañía nombrada en el documento
que antecede, una sociedad debidamente organizada
y existente conforme a las leyes del Estado de
Delaware, Estados Unidos de América, domiciliada
en la ciudad de Madison, Condado de Morris,
Estado de New Jersey, Estados Unidos de América,
legalmente constituida para un periodo de duración
que aún no ha terminado, que ejerce su objeto social;
conforme a las leyes del Estado de Delaware,
Estados Unidos de América; que el declarante está
autorizado por dicha Compañía para conferir este
poder; que el sello estampado por él al pie de tal
poder, en nombre y en representación de la
expresada Compañía, es el sello oficial de ella; y que
el objeto para el cual se confiere este Instrumento
está comprendido dentro del de la sociedad.

El suscrito Notario ha visto los Estatutos de
Incorporación firmados en Madison, Estado de New
Jersey, con fecha 4 Febrero, 1926, y
certifica que de conformidad con la legislación de
dicho Estado la anterior declaración juramentada es
prueba suficiente de que los hechos sobre que se
versa son ciertos o verdaderos, de lo cual da fe:

Notary Public (Notario Público).



NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

United States of America
State of New Jersey {ss
County of Morris

On this 6th day of October 2004, personally
came, William H. Calnan
to me known, and known to me to be the person who
signed the foregoing instrument, who being by me
duly sworn did depose and say that he is the
Assistant Secretary of WYETH the company named
within, a Corporation organized and existing under
the laws of State of Delaware, United States of
America, domiciled at the City of Madison, County of
Morris, State of New Jersey, United States of
America, legally constituted for a period of tenure not
yet expired, which exercises its corporate purposes
according to the laws of State of Delaware, United
States of America; that the deponent is authorized by
said Company to confer this power of attorney; that
the seal affixed hereunto by the deponent in the
name and on behalf of said Corporation is the
corporate seal thereof; and that the purpose for which
this instrument is granted is included within the
corporate purposes of the Company.

The undersigned Notary Public has seen the articles
of Incorporation of said Corporation executed at
Wilmington, Delaware U.S.A. under date of
February 4, 1926, and hereby certifies that under the
laws of said State the foregoing acknowledgment is

sufficient proof that the facts therein contained are
true, which he attests.

Marilyn L. Mitchell

MARILYN L. MITCHELL
NOTARY PUBLIC, STATE OF NEW JERSEY
My Commission Expires February 6, 2005

RETIRO FOLIO 7 PARA PUBLICACION/
RETIRO FOLIOS 849 PARA TARGETERO.

47

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES
PCT
REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

(PCT Artículo 18 y Reglas 43 y 44)

Registro de referencia del solicitante o agente 50657-01404	PARA FUTURAS ACCIONES		ver Forma PCT/ISA/220 así como, donde aplique, el ítem 5 a continuación.
Solicitud internacional No. PCT/US04/26508	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 13 de Agosto de 2004 (13.08.2004)	Fecha de Prioridad (Primera) (día/mes/año) 13 de Agosto de 2003 (13.08.2003)	
Solicitante WYETH			

Este reporte de búsqueda internacional ha sido preparado por esta Autoridad de Búsqueda Internacional y es transmitido al solicitante según el Artículo 18. Una copia será transmitida a la Oficina Internacional.

Este reporte de búsqueda internacional consta de un total de 5 hojas.

☒ También está acompañado de una copia de cada documento técnico anterior citado en este reporte.

1. Bases del reporte

a. Respecto al lenguaje, la búsqueda internacional se llevó a cabo con base en:

☒ La solicitud internacional en el lenguaje en el cual se presentó.

☐ Una traducción de la solicitud internacional al _____, que es el lenguaje de una traducción entregada para propósitos de la búsqueda internacional (Reglas 12.3(a) y 23.1(b)).

b. ☒ Respecto a una secuencia de ácido nucleótico y/o amino revelado en la solicitud internacional, ver Casilla No. I.

2. ☒ Ciertas reivindicaciones no pudieron localizarse (Ver Casilla No. II).

3. ☒ Falta unidad de invención (ver Casilla No. III).

4. Respecto al título,

☒ El texto es aprobado según lo presenta el solicitante.

☐ Esta Autoridad ha establecido que el texto es lex así:

5. Respecto al resumen,

☒ El texto es aprobado según lo presenta el solicitante.

☐ Esta Autoridad ha establecido el texto de acuerdo con la Regla 38.2(b), según aparece en la Casilla No. IV. El solicitante puede, un mes después de la fecha de haber enviado por correo este reporte de búsqueda internacional, presentar comentarios a esta Autoridad.

6. Respecto a los dibujos,

a. La figura de los dibujos que se publicará con el resumen es la Figura No. _____

☐ como lo sugirió el solicitante.

☐ como lo seleccionó esta Autoridad, porque el solicitante no sugirió una figura.

☐ como lo seleccionó esta Autoridad, porque esta figura caracteriza mejor a la invención.

b. ☐ ninguna de las figuras es para ser publicada con el resumen.

10

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/US04/26508

Casilla No. I Secuencia(s) de ácido nucleótido y/o aminoácido (Continuación del ítem 1.b de la primera hoja)

1. Con respecto a cualquier nucleótido y/o secuencia de aminoácido revelados en la solicitud internacional y necesarios para la invención reivindicada, la búsqueda internacional se realizó sobre la base de:
 - a. tipo de material
 - ☒ un listado de secuencias
 - ☐ tabla(s) relacionada(s) con el listado de secuencia
 - b. formato del material
 - ☒ en formato escrito
 - ☒ en una forma legible para computadora
 - c. momento de presentación/suministro
 - ☒ contenido en la solicitud internacional tal como se presentó
 - ☒ presentado junto con la solicitud internacional en forma legible para computadora
 - ☐ suministrado subsecuentemente a esta Autoridad para el propósito de la búsqueda
2. ☐ Adicionalmente, en el caso de que más de una versión o copia de un listado de secuencias y/o tabla en relación con aquello haya sido presentada o suministrada, o se suministraron, tal como es apropiado, las afirmaciones requeridas de que la información en las copias subsecuentes o adicionales es idéntica a aquella en la solicitud tal como se presentó o no va más allá de la solicitud tal como se presentó.
3. Comentarios adicionales:

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONALSolicitud Internacional No.
PCT/US04/26508**Casilla II Observaciones donde ciertas reivindicaciones fueron inescrutables (Continuación del Item 2 de la primera hoja)**

Este reporte de búsqueda internacional no ha sido establecido respecto a ciertas reivindicaciones bajo el Artículo 17(2)(a) por las siguientes razones:

1. ☐ Reivindicaciones Nos.:

porque se relacionan con un asunto que no es necesario que esta Autoridad busque, a saber:

2. ☒ Reivindicaciones Nos.: 20 y 21
porque se relacionan con partes de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos prescritos hasta tal grado que no se puede llevar a cabo una búsqueda internacional significativa, específicamente:
Por Favor Ver Hoja a Continuación

3. ☐ Reivindicaciones Nos.:

porque son reivindicaciones dependientes y no están diseñadas de acuerdo con la segunda y tercera oración de la Regla 6.4(a).

Casilla III Observaciones donde falta unidad de invención (Continuación del Item 3 de la primera hoja)

Esta Autoridad de Búsqueda Internacional encontró invenciones múltiples en esta solicitud internacional, así:

1. ☐ Puesto que todos los derechos de búsqueda adicionales requeridos fueron pagados oportunamente por el solicitante, este informe de búsqueda internacional cubre todas las reivindicaciones investigables.
2. ☐ Puesto que todas las reivindicaciones investigables pudieron investigarse sin esfuerzo que justifique derechos adicionales, esta Autoridad no solicitó pago de derechos adicionales.
3. ☐ Puesto que sólo algunos de los derechos de búsqueda adicionales fueron pagados oportunamente por el solicitante, este informe de búsqueda internacional cubre únicamente aquellas reivindicaciones para las cuales se pagaron derechos, específicamente las reivindicaciones Nos.:
4. ☒ El solicitante no pagó oportunamente los derechos de búsqueda adicionales requeridos. Por consiguiente, este reporte de búsqueda internacional se restringe a la primera invención mencionada en las reivindicaciones; está cubierto por las reivindicaciones Nos.: 1 y 19-21 en la medida que se lean sobre la SEC ID NO: 9

Comentario sobre Protesta ☐ Los derechos de búsqueda adicionales estuvieron acompañados por la protesta del solicitante.

☐ El pago de los derechos de búsqueda adicionales no estuvo acompañado por una protesta.

Continuación de la Casilla II Razón 2:

Las reivindicaciones 20-21 no pueden ser buscadas porque no están soportadas por la descripción. Estas reivindicaciones recitan una cantidad terapéuticamente efectiva de una proteína de la reivindicación 19. La descripción no provee indicación de cuanta proteína de la reivindicación 19 es terapéuticamente efectiva en cualquier sujeto.

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/US04/26508

A. CLASIFICACION DE MATERIA OBJETO
IPC(7) : A61K 38/17, 31/728; C07K 14/435
US CL : 514/12, 54; 530/324; 930/20, DIG500

Según la Clasificación de Patente Internacional (IPC) o según la clasificación nacional y la IPC

B. CAMPOS BUSCADOS

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

U.S.: 514/12, 54; 530/324; 930/20, DIG500

Documentación buscada fuera de documentación mínima hasta donde dichos documentos se incluyan en los campos buscados

Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, donde sea práctico, buscar términos usados)

USPAT, USPGPUB, GENESEQ, UNIPROT, PIR. SEC ID NO: 9 fue la pregunta

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría *	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
A	WO 95/23861 A1 (GU y col.) 8 de Septiembre de 1995 (08.09.1995), ver Resultado 1, búsqueda de secuencia en Geneseq Protein Database, proteína megacariocitopoietina humana, identidad de secuencia 94%.	1, 19
A	WO92/13075 A1 (TURNER y col.) 6 de Agosto de 1992 (06.08.1992), ver Resultado 7, búsqueda de secuencia en Geneseq Protein Database, factor estimulante de megacariocito humano, identidad de secuencia 94%.	1, 19
A	WO 00/64930 A2 (JAY) 2 de Noviembre de 2000 (02.11.2000), ver Resultado 8, búsqueda de secuencia en Geneseq Protein Database, factor estimulante de megacariocito humano, identidad de secuencia 94%.	1, 19

☐ En el recuadro C se enumeran más documentos.

☐ En el anexo se enumeran miembros de la familia de patentes.

* Categorías especiales de documentos citados:

- 'A' documento que define el estado general de la técnica el cual no se considera de relevancia particular
- 'E' documento anterior pero publicado en o después de la fecha de presentación internacional
- 'L' documento que puede arrojar dudas sobre reivindicaciones de prioridad o que se cita para establecer la fecha de publicación de otra citación u otra razón especial (según se especifica)
- 'O' documento que se refiere a una revelación oral, uso, exhibición u otros medios
- 'P' documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero después de la fecha de prioridad reivindicada

'T' documento posterior publicado después de la fecha de presentación internacional o fecha de prioridad y que no está en conflicto con la solicitud pero citado para entender el principio o teoría que sustenta la invención

'X' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se toma solo

'Y' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se combina con uno o más documentos, siendo dicha combinación obvia para una persona experta en la técnica

'Z' documento miembro de la misma familia de patentes

Fecha de la terminación real de la búsqueda internacional

17 de Octubre de 2005 (17.10.2005)

Fecha de envío por correo del reporte de búsqueda internacional

22 NOVIEMBRE 2005

Nombre y dirección de correo de la ISA/US
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Comisionado para Patentes
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450
Fax No. (571) 273-3201

Funcionario autorizado

Rosanne Kosson

Teléfono No. 571-272-1600

PATENT COOPERATION TREATY

DEC 09 2005

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

RECEIVED

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

To: MARK J. GATSCHET JENKENS & GILCHRIST 1401 MCKINNEY SUITE 2600 HOUSTON, TX 77010	Date of mailing <i>(day/month/year)</i> 22 NOV 2004
Applicant's or agent's file reference 50657-01404	FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below
International application No. PCT/US04/26308	International filing date <i>(day/month/year)</i> 13 August 2004 (13.08.2004)
Applicant WYETH	

1.	☒	The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith. Filing of amendments and statement under Article 19: The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the international application (see Rule 46): When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the international search report. Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: (41-22) 338.82.70. For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.
2.	☐	The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.
3.	☐	With regard to the protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that: ☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices. ☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.
4.		Reminders Shortly after the expiration of 18 months from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication. The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. These comments would also be made available to the public but not before the expiration of 30 months from the priority date. Within 19 months from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase until 30 months from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, within 20 months from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices. In respect of other designated Offices, the time limit of 30 months (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months. See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the <i>PCT Applicant's Guide</i>, Volume II, National Chapters and the WIPO Internet site.
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1430 Alexandria, Virginia 22313-1430 Facsimile No. (571) 273-3201		Authorized officer Roseanne Kozan Telephone No. 703-272-1600

Form PCT/ISA/220 (January 2004)

(See notes on accompanying sheet)

75

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 50657-01404	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US04/26508	International filing date (day/month/year) 13 August 2004 (13.08.2004)	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 13 August 2003 (13.08.2003)
Applicant WYETH		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 1 sheets.



It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the Report

a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of:



the international application in the language in which it was filed.



a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☒ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☒ Certain claims were found unsearchable (See Box No. II)

3. ☒ Unity of invention is lacking (See Box No. III)

4. With regard to the title,



the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,



the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. With regard to the drawings,

a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. _____



as suggested by the applicant.



as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.



as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.

b. ☐

none of the figures is to be published with the abstract.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US04/26508

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of Item 1.b of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:

a. type of material



a sequence listing



table(s) related to the sequence listing

b. format of material



on paper



in electronic form

c. time of filing/furnishing



contained in the international application as filed



filed together with the international application in electronic form



furnished subsequently to this Authority for the purposes of search

2. ☐

In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3.

Additional comments:

14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US04/26508

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claims Nos.: 20 and 21
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
Please See Continuation Sheet
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1 and 19-21 to the extent that they read on SEQ ID NO: 9

- Remark on Protest
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
 - ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
 - ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet(2)) (April 2005)

78

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US04/26508

Continuation of Box II Reason 2:

Claims 20-21 could not be searched because they are not supported by the specification. These claims recite a therapeutically effective amount of a protein of claim 19. The specification provides no indication as to how much of the protein of claim 19 is therapeutically effective in any subject.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US04/26508

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(7) : A61K 38/17, 31/728; C07K 14/435

US CL : 514/12, 54; 530/324; 930/20, DIG500

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

U.S. : 514/12, 54; 530/324; 930/20, DIG500

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
USPAT, USPGPUB, GENESSEQ, UNIPROT, PIR. SEQ ID NO: 9 was the query.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 95/23861 A1 (GU et al.) 08 September 1995 (08.09.1995), see Result 1, sequence search in Geneseq Protein Database, human megakaryocytopoietin protein, 94% sequence identity.	1, 19
A	WO 92/13075 A1 (TURNER et al.) 06 August 1992 (06.08.1992), see Result 7, sequence search in Geneseq Protein Database, human megakaryocyte stimulating factor, 94% sequence identity.	1, 19
A	WO 00/64930 A2 (JAY) 02 November 2000 (02.11.2000), see Result 8, sequence search in Geneseq Protein Database, human megakaryocyte stimulating factor, 94% sequence identity.	1, 19

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"B" earlier application or patent published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 October 2005 (17.10.2005)

Date of mailing of the international search report

22 NOV 2005

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. (571) 273-3201

Authorized officer:

Rosanne Koesch

Telephone No. 571-272-1600

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA SEGÚN EL TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación Internacional
24 de Febrero de 2005 (24.02.2005)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2005/016130 A2

(51) Clasificación Internacional de Patentes:

A61B

(21) Número de Solicitud Internacional: PCT/US2004/026508

(22) Fecha de Registro Internacional: 13 de Agosto de 2004
(13.08.2004)

(25) Idioma de registro:

Inglés

(26) Idioma de Publicación:

Inglés

(30) Información de Prioridad:

60/495,741 14 de Agosto de 2003 (14.08.2003) US

(71) Solicitante (para todos los Estados designados excepto Estados Unidos de América): WYETH [US/US]; Five Giraldi Farms, Madison, NJ 07940 (US).

(81) Estados Designados (a menos que sea indicado de otra manera, para cada tipo de protección nacional disponible): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados Designados (a menos que sea indicado de otra manera, para cada tipo de protección regional disponible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

— sin reporte de búsqueda internacional y para ser republicada en el caso de recibo de ese reporte

(72) Inventores:

(75) Inventores/Solicitantes (para Estados Unidos de América solamente): FLANNERY, Carl Ralph [US/US]; 13 Brucewood Road, Acton, MA 01720 (US). CORCORAN, Christopher John [US/US]; 170 E. Broadway, Apt. 3, Arlington, MA 02474 (US). FREEMAN, Bethany Annis [US/US]; 52 Foster Street, Arlington, MA 02474 (US). RACIE, Lisa Anne [US/US]; 124 School Street, Acton, MA 01720 (US).

Para los códigos de dos letras y otras abreviaturas, véase a "Las Notas Guías sobre Códigos y Abreviaturas" que aparecen al comienzo de cada edición regular de la Gaceta PCT.

(74) Agente: GATSCHET, Mark J.; Jenkins & Gilchrist, 1401 McKinney, Suite 2600, Houston, TX 77010 (US).

(54) Título: MOLÉCULAS DE LUBRICINA RECOMBINANTES Y USOS DE LAS MISMAS

(57) Resumen: Se describen moléculas de lubricina recombinantes y usos de las mismas. Se proporcionan nuevas moléculas de lubricina recombinantes y sus usos como lubricantes, agentes anti-adhesivos y/o suplementos intra-articulares para, por ejemplo, articulaciones sinoviales, meniscos, tendones, peritoneo, pericardio y pleura.

24

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
24 February 2005 (24.02.2005)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/016130 A2

(51) International Patent Classification⁷: A61B
(21) International Application Number: PCT/US2004/026508
(22) International Filing Date: 13 August 2004 (13.08.2004)
(25) Filing Language: English
(26) Publication Language: English

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(30) Priority Data:
60495,741 14 August 2003 (14.08.2003) US

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Applicant (for all designated States except US): WYETH [US/US]; Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): FLANNERY, Carl Ralph [US/US]; 13 Brucewood Road, Acton, MA 01720 (US). CORCORAN, Christopher John [US/US]; 170 E. Broadway, Apt. 3, Arlington, MA 02474 (US). FREEMAN, Bethany Anne [US/US]; 52 Foster Street, Arlington, MA 02474 (US). RACIE, Lisa Anne [US/US]; 124 School Street, Acton, MA 01720 (US).

(74) Agent: GATSCHET, Mark J.; Jenkins & Gilchrist, 1401 McKinney, Suite 2600, Houston, TX 77010 (US).

Published:

— without international search report and to be republished upon receipt of that report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: RECOMBINANT LUBRICIN MOLECULES AND USES THEREOF

(57) Abstract: Recombinant lubricin molecules and uses thereof. Novel recombinant lubricin molecules and their uses as lubricants, anti-adhesive agents and/or intra-articular supplements for, e.g., synovial joints, meniscus, tendon, peritoneum, pericardium and pleura, are provided.

WO 2005/016130 A2

De la
AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Para:
MARK J. GATSCHET
JENKENS & GILCHRIST
1401 MCKINNEY
SUITE 2600
HOUSTON, TX 77010

PCT

OPINION ESCRITA DE LA
AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

(PCT Regla 43bis.1)

		Fecha de correo (día/mes/año)	
Registro de referencia del solicitante o agente 50657-01404		PARA FUTURAS ACCIONES Ver párrafo 2 a continuación	
Solicitud Internacional No. PCT/US04/26508	Fecha de registro internacional (día/mes/año) 13 de Agosto de 2004 (13.08.2004)	Fecha de prioridad (día/mes/año) 13 de Agosto de 2003 (13.08.2003)	
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC IPC(7): A61K 38/17, 31/728; C07K 14/435 y US CL.: 514/12, 54; 530/324; 930/20, DIG500			
Solicitante WYETH			
1. Esta opinión contiene indicaciones relacionadas con los siguientes ítems: ☒ Casilla No. I Bases de la opinión ☐ Casilla No. II Prioridad ☒ Casilla No. III No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial ☒ Casilla No. IV Falta de unidad de invención ☒ Casilla No. V Afirmación razonada de conformidad con la Regla 43bis.1(a)(i) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que sustentan dicha afirmación ☐ Casilla No. VI Ciertos documentos citados ☐ Casilla No. VII Ciertos defectos en la solicitud internacional ☒ Casilla No. VIII Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional 2. ACCIONES FUTURAS Si se hace una demanda para examen preliminar internacional, esta opinión generalmente será considerada como una opinión escrita de la Autoridad Examinadora Preliminar ("IPEA"). Sin embargo, esto no aplica cuando el solicitante escoge una Autoridad diferente a ésta para que sea la IPEA y la IPEA escogida le ha notificado a la Oficina Internacional de conformidad con la Regla 66.1bis(b) que no se considerarán las opiniones escritas de esta Autoridad de Búsqueda Internacional. Si esta opinión es, según se estipula anteriormente, considerada una opinión escrita de la IPEA, se invita al solicitante a presentar ante la IPEA una respuesta escrita junto, cuando sea apropiado, con modificaciones, antes de la fecha de expiración de tres meses desde la fecha de envío por correo de la Forma PCT/ISA/220 o antes de la fecha de expiración de 22 meses desde la fecha de prioridad, la que expire más tarde. Para opciones futuras, ver la Forma PCT/ISA/220. 3. Para detalles adicionales, ver las notas a la Forma PCT/ISA/220.			
Nombre y dirección de correo de la ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Comisionado para Patentes P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Fac No. (571) 273-3201		Fecha de finalización de esta opinión 17 de Octubre de 2005 (17.10.2005)	Funcionario Autorizado Rosanne Kosson Teléfono No. 571-272-1600

Forma PCT/ISA/237 (carátula) (Abril 2005)

21

**OPINION ESCRITA DE LA
AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL**

Solicitud Internacional No.
PCT/US04/26508

Casilla No. I Bases de esta opinión

1. Respecto al idioma, esta opinión se ha establecido con base en:
☒ La solicitud internacional en el idioma en el cual se presentó
☐ Una traducción de la solicitud internacional al _____, que es el lenguaje de una traducción entregada para propósitos de la búsqueda internacional (Reglas 12.3(a) y 23.1(b)).
2. Respecto a cualquier nucleótido y/o secuencia aminoácida revelada en la solicitud internacional y necesaria para la invención reivindicada, esta opinión se ha establecido según:
 - a. tipo de material:
☒ un listado de secuencia
☐ tabla(s) relacionada con el listado de secuencia
 - b. formato de material:
☒ en formato escrito
☒ en formato legible por computador
 - c. tiempo de presentación/suministro: .
☒ contenido en la solicitud internacional según se registró.
☒ registrada junto con la solicitud internacional en formato legible por computador.
☐ proporcionada subsiguientemente a esta Autoridad para la búsqueda..
3. ☐ Además, en el caso en que más de una versión o copia de un listado de secuencia y/o tabla relacionada con ello se haya registrado o proporcionado, las declaraciones requeridas de que la información en las copias subsiguientes o adicionales es idéntica a aquella en la solicitud según se presentó o no va más allá de la solicitud según se registró, según lo apropiado, fueron suministradas.
4. Comentarios adicionales:

OPINION ESCRITA DE LA
AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
PCT/US04/26508

Casilla No. III No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial

Las preguntas de si la invención reivindicada parece ser novedosa, comprender un nivel inventivo (ser no obvia) o ser aplicable industrialmente no se han examinado respecto a:

- ☐ toda la solicitud internacional
☒ reivindicaciones Nos. 20 y 21

porque:

- ☐ dicha solicitud internacional, o dichas reivindicaciones Nos. se refieren a la siguiente materia objeto la cual no requiere un examen preliminar internacional (*especifique*):
- ☐ la descripción, reivindicaciones o dibujos (*indique los elementos particulares a continuación*) o dichas reivindicaciones Nos. son tan poco claros que no se podría formar una opinión significativa (*especifique*):
- ☒ las reivindicaciones, o dichas reivindicaciones Nos. 20 y 21 son sustentadas tan inadecuadamente por la descripción que no se podría formar una opinión significativa (*especifique*):
Ver Casilla No. VIII (Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional).
- ☒ no se ha establecido ningún reporte de búsqueda internacional para dichas reivindicaciones Nos. 20-21
- ☐ no se puede formar una opinión significativa sin el listado de secuencias; dentro del límite de tiempo prescrito, el solicitante no:
- ☐ proporciona un listado de secuencias sobre papel cumpliendo con el estándar dispuesto en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas, y tal listado no estuvo disponible para la Autoridad de Búsqueda Internacional en una forma y manera aceptable para ello.
 - ☐ proporciona un listado de secuencias en forma electrónica cumpliendo con el estándar dispuesto en el Anexo C de las Instrucciones Administrativas, y tal listado no estuvo disponible para la Autoridad de Búsqueda Internacional en una forma y manera aceptable para ello.
 - ☐ paga la tasa de suministro posterior requerida para el suministro de un listado de secuencias en respuesta a una invitación bajo la Regla 13ter.1(a) o (b).
- ☐ no se puede formar una opinión significativa sin las tablas relacionadas con el listado de secuencias; dentro del límite de tiempo prescrito, el solicitante no proporciona tales tablas en forma electrónica cumpliendo con los requerimientos técnicos dispuestos en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas, y tales tablas no estuvieron disponibles para la Autoridad de Búsqueda Internacional en una forma y manera aceptable para ello.
- ☐ las tablas relacionadas con el nucleótido y/o lista de secuencia aminoácida, si están en formato legible por computador únicamente, no cumplen con los requerimientos técnicos proporcionados en el Anexo C-bis de las Instrucciones Administrativas.
- ☐ Ver Casilla Suplementaria para más detalles

**OPINION ESCRITA DE LA
AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL**

**Solicitud Internacional No.
PCT/US04/26508**

Casilla No. IV Falta de unidad de invención

1. ☒ En respuesta a la invitación (Forma PCT/ISA/206) para pagar derechos adicionales el solicitante ha, dentro del tiempo límite aplicable:
 - ☐ pagar tasas adicionales
 - ☐ pagar tasas adicionales bajo protesta y, cuando sea aplicable, la tasa de protesta
 - ☐ pagar tasas adicionales bajo protesta pero la tasa de protesta aplicable no se pagó
 - ☒ no pagar tasas adicionales
2. ☐ Esta Autoridad encontró que el requisito de unidad de invención no se ha cumplido y escogió no invitar al solicitante para pagar derechos adicionales.
3. Esta Autoridad considera que el requisito de unidad de invención de acuerdo con las Reglas 13.1, 13.2 y 13.3 es
 - ☐ se ha cumplido.
 - ☒ no se ha cumplido por las siguientes razones:
Ver la sección falta de unidad del Reporte de Búsqueda Internacional (Forma PCT/ISA/210).

4. Por consiguiente, las siguientes partes de la solicitud internacional han sido establecidas con respecto a esta opinión:
 - ☐ todas las partes.
 - ☒ las partes que se relacionan con las reivindicaciones Nos. 1 y 19

**OPINION ESCRITA DE LA
AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL**

**Solicitud Internacional No.
PCT/US04/26508**

Casilla No. V Afirmación razonada bajo la Regla 43bis.1(a)(i) respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación

1. Declaración

Novedad (N)	Reivindicaciones	<u>1 y 19</u>	SI
	Reivindicaciones	<u>NINGUNA</u>	NO
Nivel Inventivo (IS)	Reivindicaciones	<u>1 y 19</u>	SI
	Reivindicaciones	<u>NINGUNA</u>	NO
Aplicabilidad Industrial (IA)	Reivindicaciones	<u>1 y 19</u>	SI
	Reivindicaciones	<u>NINGUNA</u>	NO

2. Citaciones y explicaciones:

Las reivindicaciones 1 y 19 cumplen los criterios expuestos en el Artículo 33(2)-(3) del PCT, porque el arte anterior no enseña o sugiere totalmente una proteína que comprende la SECUENCIA ID NO: 9.

Las reivindicaciones 1 y 19 cumplen los criterios expuestos en el Artículo 33(4) del PCT, y por lo tanto tienen aplicabilidad industrial porque la materia objeto reivindicada puede ser hecha o utilizada en la industria.

25

**OPINION ESCRITA DE LA
AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL**

**Solicitud Internacional No.
PCT/US04/26508**

Casilla No. VIII Clertas observaciones sobre la solicitud internacional

Las siguientes observaciones sobre la claridad de las reivindicaciones, descripción, y dibujos o sobre las preguntas de si las reivindicaciones están completamente soportadas por la descripción, son hechas:

Las reivindicaciones 20-21 son objetadas por carecer de claridad bajo la Regla 66.2(a)(v) del PCT porque las reivindicaciones no están completamente soportadas por la descripción. La descripción no revela la invención reivindicada en una manera suficientemente clara y completa para que la invención reivindicada pueda ser realizada por una persona versada en la materia porque no proporciona indicación acerca de cuánto de la proteína de la reivindicación 19 es una cantidad terapéuticamente efectiva en cualquier sujeto.



PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:
MARK J. GATSCHET
JENKENS & GILCHRIST
1401 MCKINNEY
SUITE 2600
HOUSTON, TX 77010

PCT

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year)

22 NOV 2005

Applicant's or agent's file reference

50657-01404

FOR FURTHER ACTION

See paragraph 2 below

International application No.

PCT/US04/26508

International filing date (day/month/year)

13 August 2004 (13.08.2004)

Priority date (day/month/year)

13 August 2003 (13.08.2003)

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC

IPC(7): A61K 38/17, 31/728; C07K 14/035 and US Cl.: 514/12, 54; 530/324; 930/20, DIG500

Applicant

WYETH

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☒ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA/ US
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. (571) 273-3201

Date of completion of this opinion

17 October 2005 (17.10.2005)

Authorized officer

Rosanne Kelson

Telephone No. 571-272-1600

Form PCT/ISA/237 (cover sheet) (April 2005)

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.

PCT/US04/26508

Box No. 1 Basis of this opinion

1. With regard to the language, this opinion has been established on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b)).

2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequences disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:

a. type of material

- ☒ a sequence listing
☐ table(s) related to the sequence listing

b. format of material

- ☒ on paper
☒ in electronic form

c. time of filing/furnishing

- ☒ contained in the international application as filed.
☒ filed together with the international application in electronic form.
☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.

3. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table(s) relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

4. Additional comments:

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.

PCT/US04/26508

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non-obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application
☒ claims Nos. 20 and 21

because:

- ☐ the said international application, or the said claim Nos. _____ relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. _____ are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

- ☒ the claims, or said claims Nos. 20 and 21 are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

See Box No. VIII (Certain observations on the international application).

- ☒ no international search report has been established for said claims Nos. 20-21

- ☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

- ☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.
☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.
☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13ter.1(a) or (b).

- ☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

- ☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.

- ☐ See Supplemental Box for further details.

Form PCT/ISA/237 (Box No. III) (April 2005)

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.

PCT/US04/26508

Box No. IV Lack of unity of invention

1. ☒ In response to the invitation (Form PCT/ISA/206) to pay additional fees the applicant has, within the applicable time limit:
- ☐ paid additional fees
 - ☐ paid additional fees under protest and, where applicable, the protest fee
 - ☐ paid additional fees under protest but the applicable protest fee was not paid
 - ☒ not paid additional fees
2. ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose not to invite the applicant to pay additional fees.
3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rule 13.1, 13.2 and 13.3 is
- ☐ complied with
 - ☒ not complied with for the following reasons:
See the lack of unity section of the International Search Report (Form PCT/ISA/210).

4. Consequently, this opinion has been established in respect of the following parts of the international application:
- ☐ all parts.
 - ☒ the parts relating to claims Nos. 1 and 19

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US04/26508

Box No. V Reasoned statement under Rule 43 Aa.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims 1 and 19	YES
	Claims NONE	NO
Inventive step (IS)	Claims 1 and 19	YES
	Claims NONE	NO
Industrial applicability (IA)	Claims 1 and 19	YES
	Claims NONE	NO

2. Citations and explanations:

Claims 1 and 19 meet the criteria set out in PCT Article 33(2)-(3), because the prior art does not teach or fairly suggest a protein comprising the sequence of SEQ ID NO: 9.

Claims 1 and 19 meet the criteria set out in PCT Article 33(4), and thus have industrial applicability because the subject matter claimed can be made or used in industry.

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.

PCT/US04/26508

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the questions whether the claims are fully supported by the description, are made:

Claims 20 - 21 are objected to as lacking clarity under PCT Rule 66.2(a)(v) because the claims are not fully supported by the description. The description does not disclose the claimed invention in a manner sufficiently clear and complete for the claimed invention to be carried out by a person skilled in the art because it provides no indication as to how much of the protein of claim 19 is a therapeutically effective amount in any subject.

MOLÉCULAS DE LUBRICINA RECOMBINANTES Y USOS DE LAS MISMAS

RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

5 Se describen moléculas de lubricina recombinantes y
' usos de las mismas. Se proporcionan nuevas moléculas de
lubricina recombinantes y sus usos como lubricantes, agentes
antiadhesivos y/o suplementos intra-articulares para, por
ejemplo, articulaciones sinoviales, meniscos, tendones,
10 peritoneo, pericardio y pleura.

MOLÉCULAS DE LUBRICINA RECOMBINANTES Y USOS DE LAS MISMAS

Campo de la invención

La invención se refiere a nuevas moléculas de lubricina recombinantes y a sus usos como lubricantes, agentes antiadhesivos y/o suplementos intra-articulares para, por ejemplo, articulaciones sinoviales, meniscos, tendones, peritoneo, pericardio y pleura.

Antecedentes de la invención

La funcionalidad óptima de las articulaciones sinoviales depende de coeficientes de fricción extremadamente bajos entre los tejidos articulares. Normalmente, una superficie bien lubricada y contigua se mantiene sobre el cartílago articular. Durante la osteoartritis (OA), sin embargo, una lubricación reducida contribuye a la degradación y fibrilación de la matriz de cartílago; esto a su vez contribuye a una disfunción y dolor de las articulaciones. La lubricación reducida lleva también a una disfunción y dolor de las articulaciones en otras formas de artritis, incluyendo artritis reumatoide (RA).

Para otros tejidos (por ejemplo, tendones), una superficie lubricada contribuye también a una funcionalidad óptima. Además de requerir una superficie lubricada, la función normal de los tendones requiere de la prevención de la adherencia celular a la superficie del tendón. En la

lesión y reparación de tendones flexores, por ejemplo, la formación de adhesiones entre tendones es la complicación más común.

La proteína lubricina nativa está relacionada con la proteína precursora de factor estimulador de megacariocitos (MSF).

5 PRG4 (proteoglucana 4) es el nombre para MSF que ha sido aceptado para la base de datos de la Nomenclatura Génica Humana UCL/HGNC/HUGO. La proteína PRG4 (es decir, la proteína precursora de MSF) se describe en US6433142 y US20020137894 (todas las patentes y solicitudes de patente citadas en este documento se
10 incorporan a manera de referencia en su totalidad). El polipéptido codificado por el exón 6 del gen PRG4 es fuertemente glicosilado y parece necesario para que una proteína relacionada con PRG4 sirva como un lubricante, p r ejemplo, entre superficies de cartílago articular.

15 Estudios indican que la glicoproteína PRG4 también es sintetizada por los sinoviocitos íntimos que recubren las cubiertas de los tendones; es altamente probable que la glicoproteína también se origine a partir de tenocitos (Rees et al., 2002). La glicoproteína está presente prominentemente en regiones
20 fibrocartilaginosas del tendón. De una manera complementaria a su función de fluido sinovial, la glicoproteína podría jugar un papel citoprotector importante para tendones al prevenir la adhesión celular a superficies del tendón, así como al proporcionar lubricación durante una función normal del
25 tendón.

El exón 6 del gen PGR4 (también llamado "lubricina") codifica para aproximadamente 76-78 repeticiones de secuencias similares a KEPAPTT y 6 repeticiones de secuencias tipo XXXTTX. Al variar el número de secuencias de repetición comparables en proteínas lubricina recombinantes de acuerdo con la presente invención se permite el desarrollo de bioterapéuticos mejorados para incrementar la lubricación en articulaciones y para contrarrestar la indeseable adherencia entre tejidos.

10

Breve descripción de la invención

La presente invención se refiere a nuevas moléculas de lubricina recombinantes y a su uso como lubricantes, agentes antiadhesivos y/o suplementos intra-articulares.

Para optimizar los parámetros de expresión e investigar la necesidad funcional de todas las aproximadamente 76-78 secuencias similares a KEPAPTT, se diseñaron construcciones de expresión de lubricina que hicieron posible la síntesis de proteínas lubricina recombinantes con grados variables de sustitución de oligosacáridos O-enlazados. Esto se logra al incorporar números variables de las secuencias tipo KEPAPTT en una construcción de ADNc de "núcleo" que comprende los exones 1 a 5, regiones de flanco 5' y 3' del exón 6, y los exones 7 a 12. La inserción iterativa de "casetes de ADNc sintéticos" que codifican para varias secuencias tipo KEPAPTT facilita la

25

generación de construcciones de lubricina recombinantes de tamaños diferentes. El foco inicial de estos estudios fue la construcción PRG4-Lub:1 (que contiene ADN de "casete-1 de ADNc sintético" (SEQ ID NO: 1) la cual codifica para cuatro secuencias KEPAPTT).

Las proteínas lubricina recombinantes de la presente invención comparten una estructura primaria con varias isoformas de lubricina humana nativa (véase US6743774, US20040072741 y WO0064930). Entre las isoformas caracterizadas, cada isoforma difiere en la composición de los exones del gen PRG4 que codifican para la estructura primaria de la isoforma. Por ejemplo, los exones 1 a 12 del gen PRG4 codifican para la isoforma V0, la cual representa a isoforma de longitud completa, mientras que los exones 1 a 4 y 6 a 12 codifican para la isoforma V1, la cual carece sólo de un segmento codificado por el exón 5. Los exones 1 a 3 y 6 a 12 codifican para la isoforma V2, la cual carece de segmentos codificados por los exones 4 y 5. Finalmente, los exones 1, 3 y 6 a 12 codifican para la isoforma V3, la cual carece de segmentos codificados por los exones 2, 4 y 5. Probablemente existen otras isoformas, y algunas proteínas mutantes relacionadas han sido descritas (véase US20020086824).

En particular, la presente invención proporciona una proteína lubricina recombinante que comprende secuencias tipo KEPAPTT repetitivas. En modalidades preferidas, la invención proporciona una proteína aislada que comprende SEQ ID NOS: 9, 13, 17, 21 ó 25. La invención proporciona en modalidades relacionadas una proteína aislada que comprende SEQ ID NOS: 7, 11, 15, 19 ó 23. En modalidades relacionadas adicionales, la invención proporciona un polinucleótido aislado que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para proteína lubricina recombinante. En modalidades preferidas, la invención proporciona un polinucleótido aislado que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para la proteína. En otras modalidades relacionadas adicionales, la invención proporciona un polinucleótido aislado que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% o 99% de identidad con SEQ ID NOS: 6, 10, 14, 18 ó 22 sobre la longitud completa de la secuencia.

En aspectos relacionados, la presente invención proporciona también una proteína aislada que comprende SEQ ID NO: 26 unida a (N menos 2) repeticiones de SEQ ID NO: 27, en donde N es igual a un entero de 3 a 200. En otras modalidades relacionadas adicionales, la presente invención proporciona una proteína aislada que comprende SEQ ID NO: 26 más SEQ ID NO: 28 más [(N menos 2) repeticiones de SEQ ID NO: 27] más SEQ ID NO: 29, en donde N es igual a un entero de 3 a

200. En modalidades de l s aspect s relaci nados con la invención indicadas en este párrafo, de manera muy preferible N es igual a un entero de 5 a 50, y aún más preferible N es igual a un entero de 10 a 30.

5

Tabla 1

Identificación de secuencias que tienen identificadores de secuencia

10

15

20

SEQ ID NO:	Identificación
1	Secuencia de nucleótidos de casete de ADNc sintético-1: 155 bases
2	Traducción de SEQ ID NO: 1: 51aminoácidos
3	Secuencia de nucleótidos de casete de ADNc sintético-2: 125 bases
4	Traducción de SEQ ID NO: 3: 41 aminoácidos
5	Vector pTmed2 que contiene construcción de ADNc PRG4-Lub:1 recombinante: 8049 bases
6	construcción de ADNc PRG4-Lub:1 recombinante: 2946 bases
7	Secuencia de aminoácidos de proteína PRG4-LUB:1 completa: 981 aminoácidos
8	Inserto de ADN Lub: 1 de casete-1 de ADNc sintético: 157 bases

25

5

10

15

20

SEQ ID NO:	Identificación
9	51 aminoácidos codificados por inserto de ADN Lub:1 (4 secuencias KEPAPTT entre S373 a E425 en SEQ ID NO: 7)
10	construcción de ADNc PRG4-Lub:2 recombinante: 3024 bases
11	Secuencia de aminoácidos de proteína PRG4-LUB:2 completa: 1007 aminoácidos
12	Inserto de ADN Lub:2 de casete-1 de ADNc sintético y una secuencia de casete-2 de ADNc sintético: 235 bases
13	77 aminoácidos codificados por inserto de ADN Lub:2 (6 secuencias KEPAPTT entre S373 y E451 en SEQ ID NO: 11)
14	construcción de ADNc PRG4-Lub:3 recombinante: 3117 bases
15	Secuencia de aminoácidos de proteína PRG4-LUB:3 completa: 1038 aminoácidos
16	Inserto de ADN Lub:3 de casete-1 de ADNc sintético y dos secuencias de casete-2 de ADNc sintético: 328 bases
17	108 aminoácidos codificados por inserto de ADN Lub:3 (9 secuencias KEPAPTT entre S373 y E482 en SEQ ID NO: 15)
18	construcción de ADNc PRG4-Lub:4 recombinante: 3210 bases
19	Secuencia de aminoácidos de proteína PRG4-LUB:4 completa: 1069 aminoácidos

25

SEQ ID NO:	Identificación
20	Inserto de ADN Lub:4 de casete-1 de ADNc sintético y tres secuencias de casete-2 de ADNc sintético: 421 bases
21	139 aminoácidos codificados por inserto de ADN Lub:4 (12 secuencias KEPAPTT entre S373 y E513 en SEQ ID NO: 19)
22	construcción de ADNc PRG4-Lub:5 recombinante: 3303 bases
23	Secuencia de aminoácidos de proteína PRG4-LUB:5 completa: 1100 aminoácidos
24	Inserto de ADN Lub:5 de casete-1 de ADNc sintético y cuatro secuencias de casete-2 de ADNc sintético: 514 bases
25	170 aminoácidos codificados por inserto de ADN Lub:5 (15 secuencias KEPAPTT entre S373 y E544 en SEQ ID NO: 23)
25	construcción de ADNc PRG4-Lub:4 recombinante: 3210 bases
26	secuencia de aminoácidos "APTTPKEPAPTTTKSAPTTPKEPAPTTTKEPAPTTTPKEPAPTTTK" (45 aminoácidos) en proteína PRG4-LUB:N preferida

5

10

15

SEQ ID NO:	Identificación
27	secuencia de aminoácidos "KEPAPTTTKEPAPTTTKSAPTTTPKEPAPTTTP" (31 aminoácidos) repetida N-1 veces en proteína PRG4-LUB:N preferida
28	secuencia de aminoácidos "EPAPTTTKSAPTTTPKEPAPTTTP" (22 aminoácidos) que une SEQ ID NO: 26 a (N-2) repeticiones de SEQ ID NO: 27 en proteína PRG4-LUB:N preferida, en donde N≥3.
29	Secuencia de aminoácidos "KEPKPAPTTTP" (10 aminoácidos) en proteína PRG4-LUB:N preferida, en donde N≥2

La invención proporciona también en modalidades relacionadas una composición que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de una proteína lubricina recombinante en un vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, la composición comprende además hialuronano o hilano.

La invención proporciona además un método para tratar un sujeto que comprende: obtener una composición de proteína lubricina recombinante y administrar la composición a un tejido del sujeto. En modalidades relacionadas de este

método de la invención, el tejido se selecciona del grupo que consiste en cartílago, sinovio, menisco, tendón, peritoneo, pericardio y pleura. En modalidades relacionadas adicionales de este método de la invención, el método comprende además
5 una etapa seleccionada del grupo que consiste en: proporcionar un anestésico al sujeto; proporcionar un fármaco anti-inflamatorio al sujeto; proporcionar un antibiótico al sujeto; aspirar fluido del sujeto; lavar tejido del sujeto y crear imágenes del tejido del sujeto. En otras modalidades
10 relacionadas, el sujeto se selecciona del grupo que consiste en un ratón, una rata, un gato, un perro, un caballo y un humano.

En otras modalidades la invención proporciona también un vector de expresión que comprende un
15 polinucleótido que codifica para una proteína lubricina recombinante, en donde el polinucleótido está ligado operablemente a una secuencia de control de presión. En modalidades relacionadas, la invención proporciona un método para producir proteína lubricina recombinante que comprende:
20 cultivar células transformadas con el vector de expresión en medio de cultivo líquido y recoger proteína lubricina recombinante del medio. La etapa de recoger proteínas puede comprender además: concentrar la proteína al filtrar el medio a través de una membrana; recoger la proteína retenida de la
25 membrana y solubilizar la proteína colectada en una solución

salina de pH regulado que contenga clorhidrato de L-arginina que varíe en concentración de 0.1 a 2.0 M.

En otra modalidad relacionada, la invención proporciona un anticuerpo aislado específico para una
5 proteína lubricina recombinante.

Otras características y ventajas de la invención serán aparentes a partir de la siguiente descripción de las modalidades preferidas de la misma, y de las reivindicaciones.

10 Descripción detallada de la invención

La construcción de ADN base utilizada para generar las proteínas lubricina recombinantes puede incluir disposiciones variables de secuencias 5' y 3' del exón 6 del gen PRG4. Por ejemplo, la construcción de ADN base puede
15 incluir disposiciones variables de secuencias que codifiquen para dominios tipo somatomedina B (exones 2 a 4) o dominios tipo hemopexina (exones 7 a 9).

Las modalidades de la construcción de ADN base que tienen varias disposiciones de exones 3' del exón 6 pueden
20 incluir construcciones de ADN base que incluyan sólo el exón 7, 8, 9, 10, 11 ó 12 individualmente, o pares de exones (7 y 8), (7 y 9), (7 y 10), (7 y 11), (7 y 12), (8 y 9), (8 y 10), (8 y 11), (8 y 12), (9 y 10), (9 y 11), (9 y 12), (10 y 11), (10 y 12) o (11 y 12), o triplete de exones (7, 8 y 9), (7,
25 8 y 10), (7, 8 y 11), (7, 8 y 12), (7, 9 y 10), (7, 9 y 11),

(7, 9 y 12), (7, 10 y 11), (7, 10 y 12), (7, 11 y 12), (8, 9 y 10), (8, 9 y 11), (8, 9 y 12), (8, 10 y 11), (8, 10 y 12), (8, 11 y 12), (9, 10 y 11), (9, 10 y 12), (9, 11 y 12), (10, 11 y 12) o cuádrupletes de exones (7, 8, 9 y 10), (7, 8, 9 y 11), (7, 8, 9 y 12), (7, 8, 10 y 11), (7, 8, 10 y 12), (7, 8, 11 y 12), (7, 9, 10 y 11), (7, 9, 10 y 12), (7, 9, 11 y 12), (7, 10, 11 y 12), (8, 9, 10 y 11), (8, 9, 10 y 12), (8, 9, 11 y 12), (8, 10, 11 y 12) o (9, 10, 11 y 12) quintetos de exones (7, 8, 9, 10 y 11), (7, 8, 9, 10 y 12), (7, 8, 9, 11 y 12), (7, 8, 10, 11 y 12), (7, 9, 10, 11 y 12) o (8, 9, 10, 11 y 12) o sextetos de exones (7, 8, 9, 10, 11 y 12).

Además, las modalidades de la construcción de ADN base que tienen varias disposiciones de exones 5' del exón 6 pueden incluir construcciones de ADN base que incluyan sólo el exón 1, 2, 3, 4 ó 5 individualmente, o los pares de exones (1 y 2), (1 y 3), (1 y 4), (1 y 5), (2 y 3), (2 y 4), (2 y 5), (3 y 4), (3 y 5) o (4 y 5) o triplete de exones (1, 2 y 3), (1, 2 y 4), (1, 2 y 5), (1, 3 y 4), (1, 3 y 5), (1, 4 y 5), (2, 3 y 4), (2, 3 y 5), (2, 4 y 5) o (3, 4 y 5) o cuádrupletes de exones (1, 2, 3 y 4), (1, 2, 3 y 5), (1, 2, 4 y 5), (1, 3, 4 y 5), o (2, 3, 4 y 5) o quintetos de exones (1, 2, 3, 4 y 5).

La presente invención abarca también proteínas codificadas por construcciones de ADN base, es decir, en

donde parte o todo el polipéptido codificado por una secuencia de 6 exones es suprimido y ningún aminoácido codificado por insertos a partir de casetes de ADNc sintéticos ha sido añadido.

5 La presente invención abarca también polinucleótidos que son homólogos a las modalidades específicas descritas en la presente, por ejemplo, que tienen al menos 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% ó 99% de identidad de secuencia con las secuencias de ADN especificadas. La
10 invención incluye además polinucleótidos que tienen una secuencia de ácido nucleico capaz de hibridar sobre la longitud de un dominio funcional al complemento de las secuencias de ADN especificadas bajo condiciones de alta severidad. La invención incluye también proteínas
15 codificadas por estos polinucleótidos homólogos o hibridadores.

Para poder delinear más claramente las modalidades de la presente invención, se proporcionan las siguientes definiciones.

20 Definiciones

La frase "secuencia tipo KEPAPTT repetitiva" significa una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90%, 93%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 o mayor identidad con: (a) la secuencia "APTTPKEPAPTTTKSAPTTPKEPAPTTTKEPAPTTTPKEPAPTTTK"
25 (SEQ ID NO: 26; 45 aminoácidos) y que tiene al menos una

sustitución O-enlazada; (b) la secuencia "KEPAPTTTKEPAPTTTKSAPTTTPKEPAPTTTP" (SEQ ID NO: 27; 31 aminoácidos) y que tiene al menos una sustitución O-enlazada o (c) la secuencia "EPAPTTTKSAPTTTPKEPAPTTTP" (SEQ ID NO: 28; 5 22 aminoácidos) y que tiene al menos una sustitución O-enlazada. Una secuencia tipo KEPAPTT repetitiva puede tener de preferencia dos, tres, cuatro o más sustituciones O-enlazadas.

Aunque existe un número de métodos para medir la 10 identidad entre dos secuencias de polinucleótidos o polipéptidos, el término "identidad" se conoce bien por las personas capacitadas en la técnica y tiene un significado definitivo con respecto a un método específico dado. La identidad de secuencia descrita en la presente se mide usando 15 la herramienta BLAST 2 SEQUENCES disponible a través de NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>; véase también Tatusova y Madden (1999)). Para secuencias de aminoácidos, los parámetros usados son expectativa = 1000; tamaño de palabra = 2; filtro = apagado; y otros parámetros establecidos a 20 valores por omisión. Estos mismos parámetros se usan para secuencias de ácido nucleico, excepto tamaño de palabra = 8. Los valores por omisión para comparaciones entre secuencias de aminoácidos son: Matriz = BLOSUM62; espacio abierto = 11; espacio de extensión = 1 penalidades y espacio x pérdida = 25 50. Los valores por omisión para comparaciones entre

secuencias de ácido nucleico son: premio por una coincidencia = 1; penalidad por una no coincidencia = -2; opción de hebra = ambas hebras; espacio abierto = 5; espacio de extensión = 2 penalidades y espacio x pérdida = 50.

5 Una sustitución O-enlazada de lubricina recombinante puede ser una sustitución con el oligosacárido lubricante β -(1-3)-Gal-GalNac, o con otras porciones, incluyendo porciones de carbohidrato artificiales o que se originen naturalmente (tales como sulfato de queratán

10 sulfato de condroitina). En algunas modalidades, la sustitución O-enlazada puede ser con porciones que contribuyan a una capacidad de la lubricina recombinante para actuar como un portador de fosfolípidos tensioactivos (SAPL) o agentes tensioactivos (Hills, 2002). El porcentaje de

15 glicosilación o sustitución se determina en peso (peso seco).

Las condiciones de alta severidad, cuando se usan en referencia a la hibridación ADN:ADN, comprenden condiciones equivalentes a unión o hibridación a 42°C en una solución que consiste en 5X SSPE (43.8 g/l de NaCl, 6.9 g/l

20 de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y 1.85 g/l de EDTA, pH ajustado a 7.4 con NaOH), 0.5% de SDS, 5X de reactivo de Denhardt y 100 $\mu\text{g/ml}$ de ADN de esperma de salmón desnaturalizado seguidos por lavado en una solución que comprende 0.1X SSPE, 1.0% de SDS a 42°C cuando se emplea una sonda de aproximadamente 500 nucleótidos

25 de longitud.

Los polipéptidos u otros compuestos descritos en la presente se dice que son "aislados" cuando están dentro de preparaciones que son al menos 50% en peso (peso seco) el compuesto de interés. Los polipéptidos u otros compuestos descritos en la presente se dice que son "sustancialmente puros" cuando están dentro de preparaciones que son al menos 80% en peso (peso seco) el compuesto de interés. Los polipéptidos u otros compuestos descritos en la presente se dice que son "homogéneos" cuando están dentro de preparaciones que son al menos 95%, y de preferencia 99% en peso (peso seco) el compuesto de interés. La pureza se mide al reducir en electroforesis con gel de poliacrilamida y tinción con azul de coomassie incrementada, seguida por rastros de densidad óptica de las bandas (es decir, la pureza de la proteína se mide a través de densitometría óptica).

"Libre de pirógenos" significa libre de contaminantes que causen fiebre, incluyendo endotoxinas. La medición de los contaminantes se lleva a cabo por las pruebas estándares aplicables establecidas por la Dirección de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos.

Según se usa en la presente, el término "cantidad terapéuticamente efectiva" significa la cantidad total de cada componente activo de la composición farmacéutica método relevante que sea suficiente para mostrar un beneficio significativo en el paciente, es decir, tratamiento,

curación, prevención reducción de la condición médica relevante, o un incremento en la velocidad de tratamiento, curación, prevención o disminución de estas condiciones. Cuando se aplica a un ingrediente activo individual, 5 administrado solo, el término se refiere a ese ingrediente solo. Cuando se aplica a una combinación, el término se refiere a cantidades combinadas de los ingredientes activos que dan como resultado el efecto terapéutico, ya sea administradas en combinación, en serie o simultáneamente.

10 Las modalidades de la presente invención pueden usarse como suplementos intra-articulares. La suplementación intra-articular con compuestos no derivados de lubricina ha sido llevada a la práctica como una terapia de articulaciones. Por ejemplo, la "viscosuplementación" con 15 hialuronano polimérico (HA) e hilanos de peso molecular más alto (tales como fluido elastoviscoso SYNVISCO® "Hylan G-F 20" - distribuido por WYETH® Pharmaceuticals) se usa clínicamente para tratar dolor de rodilla asociado con OA. Esta viscosuplementación ha mostrado tener un valor terapéutico 20 significativo, particularmente para reducir el dolor por soporte de peso en pacientes (Wobig et al., 1998).

Hylan G-F 20 se genera mediante el entrelazamiento de varias moléculas de HA obtenidas a partir de crestas de gallo o pollo. La viscosuplementación con Hylan G-F 20 puede 25 ser significativamente más eficaz para aliviar el dolor que

50

la viscosuplementación con HA de peso molecular más bajo (Wobig et al., 1999). Además, el alivio del dolor mediante la viscosuplementación con Hylan G-F 20 puede ser particularmente preferible a la administración de NSAIDs para aquellos pacientes que no toleren NSAIDs (por ejemplo, en pacientes con un alto riesgo de complicaciones gastrointestinales; Espallargues y Pons, 2003). Aunque la viscosuplementación con Hylan G-F 20 es una terapia segura y bien tolerada que proporciona una reducción a corto plazo (es decir, hasta 3-6 meses postratamiento) en los síntomas de dolor mejorando al mismo tiempo la función de las articulaciones, la terapia podría no impedir significativamente la necesidad eventual de un reemplazo de rodilla en pacientes de OA (Espallargues y Pons, 2003).

15

Ejemplo 1

Clonación de lubricina recombinante

Construcciones. En algunas modalidades, la construcción de ADN base para la generación de moléculas de lubricina recombinantes está compuesta del codón Met (ATG) a través del sitio de restricción *BssHII* (G[^]CGCGC) de SEQ ID NO: 6 (es decir, nos. de base 1 a 1123) y el sitio de restricción *BspEI* (T[^]CCGGA) a través del codón de detención (TAA) de SEQ ID NO: 6 (es decir, nos. de base 1269 a 2946). Estas secuencias, es decir, nos. de base 1 a 1123 y 1269 a 2946 de SEQ ID NO: 6, codifican para los aminoácidos M1 a

25

53

S373 (codificados por los exones 1 a 5 y aproximadamente 174 codones 5' de flaqueo del exón 6) y E848 a P1404 (codificados por aproximadamente 293 codones 3' de flaqueo del exón 6 y exones 7 a 14) de la lubricina de longitud completa nativa (es decir, PRG4). La porción del exón 6 ausente de la construcción de ADN base corresponde a una secuencia de ADN que codifica para los aminoácidos A374 a P847 de PRG4 nativo (474 aminoácidos ausentes de aproximadamente 940 aminoácidos codificados por el exón 6).
10 Esta secuencia de aminoácidos ausente es rica en secuencias tipo KEPAPTT.

La secuencia de ADN del casete-1 de ADNc sintético (SEQ ID NO: 1) se añade *BssHII/BspEI* a la construcción base para hacer la construcción de ADNc PRG4-Lub:1 recombinante
15 (SEQ ID NO: 6). SEQ ID NO: 6 está compuesta del insert de ADN Lub:1 (SEQ ID NO: 8; que codifica para los 51 aminoácidos de SEQ ID NO: 9 con sus cuatro secuencias KEPAPTT) entre el ADN que codifica para los aminoácidos M1 a S373 y ADN que codifica para E848 a P1404 de PRG4 nativo. En otras
20 palabras, en lugar de A374 a P847 (474 aminoácidos) de PRG4 nativo, la lubricina recombinante PRG4-LUB:1 incluye 51 aminoácidos que forman cuatro secuencias KEPAPTT perfectas y aproximadamente tres secuencias KEPAPTT imperfectas.

La secuencia de ADN del casete-2 de ADNc sintético
25 (SEQ ID NO: 3) se añade *Bsu36I/BspEI* a la construcción PRG4-

52

Lub:1 para hacer la construcción de ADNc PRG4-Lub:2 (SEQ ID NO: 10). La construcción de ADNc PRG4-Lub:1 tiene un sitio de restricción *Bsu36I* (CC[^]TNAGG, es decir, CC[^]TAAGG; nos. de base 1225 a 1231 de SEQ ID NO: 6). Cuando el casete-2 de

5 ADNc sintético se añade a la construcción de ADNc PRG4-Lub:1, este sitio *Bsu36I* es destruido, pero el casete-2 sintético contiene otro sitio de restricción *Bsu36I* interno (CC[^]TNAGG, es decir, CC[^]TAAGG; nos. de base 92 a 98 de SEQ ID NO: 3). En consecuencia, una construcción PRG4-Lub:N+1 puede hacerse al añadir

10 *Bsu36I/BspEI* del casete-2 de ADNc sintético a la construcción PRG4-Lub:N anterior en este sitio de restricción *Bsu36I* interno proporcionado por el casete-2 de ADNc sintético.

Los casetes de ADNc se sintetizan como oligonucleótidos de una sola hebra y se hibridan juntos para

15 producir un fragmento de ADN de doble hebra con extremos pegajosos. Esta es la razón por la cual los sitios *BssHII*, *Bsu36I* y *BspEI* terminales parecen incompletos. En el casete-1 de ADNc sintético (SEQ ID NO: 1), una secuencia limitada por los sitios de restricción *BssHII* (G[^]CGCGC) y *BspEI*

20 (T[^]CCGGA) de flanqueo restantes incluye un sitio de restricción *Bsu36I* interno (CC[^]TNAGG, es decir, CC[^]TAAGG); los sitios de restricción se subrayan abajo:

CGCGCCCACTCCAAAAGAGCCCGCACCTACCACGACAAAGTCAGCTCCTACTACGCCC
AAAGAGCCAGCGCCGACGACTACTAAAGAACCGGCACCCACCACGCCTAAGGAGCCAGCTC
 25 CTACTACAACGAAACCGGCACCAACCACTCCGG

55

SEQ ID NO: 2, la cual es una traducción de SEQ ID NO: 1, incluye cuatro secuencias KEPAPTT que son coincidencias perfectas (resaltadas abajo):

5
1 A P T T P K E P A P T T T K S A P T T P
CGCGCCCACTCCAAAGAGCCCGCACCTACCACGACAAAGTCAGCTCCTACTACGCCC
21 K E P A P T T T K E P A P T T P K E P A
AAAGAGCCAGCGCCGACGACTACTAAAGAACCGGCACCCACCACGCCTAAGGAGCCAGCT
41 P T T T K P A P T T P
CCTACTACAACGAAACCGGCACCAACCACTCCGG

El casete-2 de ADNc sintético (SEQ ID NO: 3) tiene
10 similarmente un sitio de restricción Bsu36I 5'-terminal
restante (es decir, CC[^]TNAGG, evidenciado solamente por la
secuencia TAA), un sitio de restricción BspEI restante 3'-
terminal (T[^]CCGGA) y un sitio de restricción Bsu36I interno
(CC[^]TNAGG); los sitios de restricción subrayan abajo:

15 TAAAGAACCAGCCCCTACTACGACAAAGGAGCCTGCACCCACAACCACGAAGAGCGCACCC
ACAACACCAAAGGAGCCGGCCCCCTACGACTCCTAAGGAACCCAAACCGGCACCAACCACTC
CGG

SEQ ID NO: 4, la cual es una traducción de SEQ ID NO: 3, incluye tres secuencias KEPAPTT que son coincidencias
20 perfectas (resaltadas abajo):

1 K E P A P T T T K E P A P T T T K S A P
TAAAGAACCAGCCCCTACTACGACAAAGGAGCCTGCACCCACAACCACGAAGAGCGCACCC
21 T T P K E P A P T T P K E P K P A P T T
ACAACACCAAAGGAGCCGGCCCCCTACGACTCCTAAGGAACCCAAACCGGCACCAACCACT
41 P
CCGG
25

54

La construcción de ADNc PRG4-Lub:1 recombinante (SEQ ID NO: 6) en el vector pTmed2 (construcción más vector igual a SEQ ID NO: 5) es flanqueada por sitios de restricción *SaII* (G[^]TCGAC; nos. de base 1027 a 1032 de SEQ ID NO: 5) y

5 *NotI* (GC[^]GGCCGC; nos. de base 3984 a 3991 de SEQ ID NO: 5). El sitio *SaII* incorpora una secuencia de inicio de traducción de Kozak modificada (CCCACC; nos. de base 1032 a 1037 de SEQ ID NO: 5) antes del codón de inicio de traducción ATG (nos. de base 1038 a 1040 de SEQ ID NO: 5). Entre los sitios de

10 restricción *BssHII* (G[^]CGCGC; nos. de base 2155 a 2160 de SEQ ID NO: 5) y *BspEI* (T[^]CCGGA; nos. de base 2306 a 2311 de SEQ ID NO: 5) se encuentra el sitio de clonación *Bsu36I* interno (CC[^]TNAGG, es decir, CC[^]TAAGG; nos. de base 2262 a 2268 de SEQ ID NO: 5).

La construcción de ADNc PRG4-Lub:1 (SEQ ID NO: 6)

15 se traduce en la proteína PRG4-LUB:1 (SEQ ID NO: 7). El inserto entre S373 y E425 (es decir, E848 de PRG4 nativo) de la proteína PRG4-LUB:1 completa (SEQ ID NO: 7) es los 51 aminoácidos de SEQ ID NO: 9. Éstos se traducen a partir del inserto de ADN Lub:1 (SEQ ID NO: 8) e incluyen cuatro

20 secuencias KEPAPTT perfectas. Entre el sitio de restricción *BssHII* (G[^]CGCGC; nos. de base 1118 a 1123 de SEQ ID NO: 6) y el sitio de restricción *BspEI* (T[^]CCGGA; nos. de base 1269 a 1274 de SEQ ID NO: 6) se encuentra el sitio de clonación *Bsu36I* interno (CC[^]TNAGG, es decir, CC[^]TAAGG; nos. de base

25 1225 a 1231 de SEQ ID NO: 6).

57

Al igual que en la construcción PRG4-Lub:1 recombinante en el vector pTmed2, la construcción de ADNc PRG4-Lub:2 recombinante (SEQ ID NO: 10) en el vector pTmed2 es flanqueada por los sitios de
 5 restricción *SaII* (G[^]TCGAC) y *NotI* (GC[^]GGCCGC); el sitio *SaII* incorpora una secuencia de inicio de traducción de Kozak modificada (CCCACC) antes del codón de inicio de traducción ATG (nos. de base 1 a 3 de SEQ ID NO: 10). En forma similar, la construcción
 10 de ADNc PRG4-Lub:3 recombinante (SEQ ID NO: 14), la construcción de ADNc PRG4-Lub:4 recombinante (SEQ ID NO: 18) y la construcción de ADNc PRG4-Lub:5 recombinante (SEQ ID NO: 22) en el vector pTmed2 son cada una flanqueadas por sitios de restricción *SaII*
 15 (G[^]TCGAC) y *NotI* (GC[^]GGCCGC); el sitio *SaII* incorpora una secuencia de inicio de traducción de Kozak modificada (CCCACC) antes del codón de inicio de traducción ATG (nos. de base 1 a 3 de SEQ ID NOS: 14, 18 y 22, respectivamente).

20 Dentro de la construcción de ADNc PRG4-Lub:2, el sitio de clonación *Bsu36I* interno (CC[^]TNAGG, es decir, CC[^]TAAGG; nos. de base 1318 a 1324 de SEQ ID NO: 10) se encuentra entre los sitios de restricción *BssHII* (G[^]CGCGC; nos. de base 1118 a 1123) y *BspEI*
 25 (T[^]CCGGA; nos. de base 1347 a 1352). La construcción

56

PRG4-Lub:2 (SEQ ID NO: 10) se traduce en la proteína PRG4-LUB:2 (SEQ ID NO: 11). El inserto entre S373 y E451 (es decir, E848 de PRG4 nativo) de la proteína PRG4-LUB:2 completa (SEQ ID NO: 11) es los 77 aminoácidos de SEQ ID NO: 5 13. Estos son traducidos a partir del inserto de ADN Lub:2 (SEQ ID NO: 12). En lugar de A374 a P847 (474 aminoácidos) del PRG4 nativo, los 77 aminoácidos de la lubricina recombinante PRG4-LUB:2 forman seis secuencias KEPAPTT perfectas y aproximadamente cuatro secuencias KEPAPTT 10 imperfectas.

Dentro de la construcción de ADNc PRG4-Lub:3, el sitio de clonación *Bsu36I* interno (CC[^]TNAGG, es decir, CC[^]TAAGG; nos. de base 1411 a 1417 de SEQ ID NO: 14) se encuentra entre los sitios de restricción *BssHII* (G[^]CGCGC; 15 nos. de base 1118 a 1123) y *BspEI* (T[^]CCGGA; nos. de base 1440 a 1445). La construcción PRG4-Lub:3 (SEQ ID NO: 14) se traduce en la proteína PRG4-LUB:3 (SEQ ID NO: 15). El inserto entre S373 y E482 (es decir, E848 de PRG4 nativo) de la proteína PRG4-LUB:3 completa (SEQ ID NO: 15) es los 108 20 aminoácidos de SEQ ID NO: 17. Estos son traducidos a partir del inserto de ADN Lub:3 (SEQ ID NO: 16). En lugar de A374 a P847 (474 aminoácidos) del PRG4 nativo, los 108 aminoácidos de la lubricina recombinante PRG4-LUB:3 forman nueve secuencias KEPAPTT perfectas y aproximadamente cinco 25 secuencias KEPAPTT imperfectas.

37

Dentr de la construcción de ADNc PRG4-Lub:4, el sitio de clonacion *Bsu36I* interno (CC[^]TNAGG, es decir, CC[^]TAAGG; nos. de base 1504 a 1510 de SEQ ID NO: 18) se encuentra entre los sitios de restricción *BssHII* 5 (G[^]CGCGC; nos. de base 1118 a 1123) y *BspEI* (T[^]CCGGA; nos. de base 1533 a 1538). La construcción PRG4-Lub:4 (SEQ ID NO: 18) se traduce en la proteína PRG4-LUB:4 (SEQ ID NO: 19). El inserto entre S373 y E513 (es decir, E848 de PRGE4 nativo) de la proteína PRG4-10 LUB:4 completa SEQ ID NO: 19) es los 139 aminoácid s de SEQ ID NO: 21. Estos se traducen a partir del inserto de ADN de Lub:4 (SEQ ID NO: 20). En lugar de A374 a P847 (474 aminoácidos) del PRG4 nativo, l s 139 aminoácidos de la lubricina recombinante PRG4-15 LUB:4 forman doce secuencias KEPAPTT perfectas y aproximadamente seis secuencias KEPAPTT imperfectas.

Dentro de la construcción de ADNc PRG4-Lub:5, el sitio de *Bsu36I* interno (CC[^]TNAGG, es decir, CC[^]TAAGG; nos. de base 1597 a 1603 de SEQ ID NO: 22) 20 se encuentra entre los sitios de restricción *BssHII* (G[^]CGCGC; nos. de base 1118 a 1123) y *BspEI* (T[^]CCGGA; nos. de base 1626 a 1631). La construcción PRG4-Lub:5 (SEQ ID NO: 22) se traduce en la proteína PRG4-LUB:5 (SEQ ID NO: 23). El inserto entre S373 y E544 25 (es decir, E848 de PRGE4 nativo) de la proteína PRG4-

58

LUB:5 completa SEQ ID NO: 23) es la 170 aminoácidos de SEQ ID NO: 25. Estos se traducen a partir del inserto de ADN de Lub:5 (SEQ ID NO: 24). En lugar de A374 a P847 (474 aminoácidos) del PRG4 nativo, la 5 170 aminoácidos de la lubricina recombinante PRG4-LUB:5 forman quince secuencias KEPAPTT perfectas y aproximadamente siete secuencias KEPAPTT imperfectas.

En forma importante, el proceso de insertar el casete-2 de ADNc sintético se puede iterar 10 indefinidamente. Cada iteración da como resultado la adición de tres secuencias KEPAPTT perfectas. Al igual que las lubricinas recombinantes PRG4-LUB:2 a PRG4-LUB:5 se construyen de esta manera a través del uso de secuencias de inserto, se construyen lubricinas 15 recombinantes PRG4-LUB:6 a PRG4-LUB:N. La tabla 2 proporciona un resumen de las secuencias de inserto BssHII/BspEI.

Tabla 2
Secuencias de inserto BssHII/BspEI

20

INSERTO LUB	SEQ ID NO:	Secuencias (sitios de restricción subrayados en insertos de ADN; las secuencias KEPAPTT están resaltadas en los insertos de proteína)
Lub:1	8	<u>GCGCGCCCACTCCAAAAGAGCCCGCACCTACCAGACAAAGTCAGCTCCT</u> <u>ACTACGCCCAAGAGCCAGCGCCGACGACTACTAAAGAACCGGCACCCACCAC</u> <u>GCCTAAGGAGCCAGCTCCTACTACAACGAAACCGGCACCAACCACTCCGGA</u>
LUB:1	9	APTTP <u>KEPAPTTT</u> KSAPTTP <u>KEPAPTTT</u> <u>KEPAPTTT</u> <u>KEPAPTTT</u> <u>KEPAPTTT</u> KEPAPTTT

25

59

INSERTO LUB	SEQ ID NO:	Secuencias (sitios de restricción subrayados en insertos de ADN; las secuencias <u>KEPAPTT</u> están resaltadas en los insertos de proteína)
Lub:2	12	<u>GCGCGCCCACTCCAAAAGAGCCCGCACCTACCACGACAAAGTCAGCTCCT</u> <u>ACTACGCCCAAGAGCCAGCGCCGACGACTACTAAAGAACCGGCACCCACCAC</u> <u>GCCTAAAGAACCAGCCCCCTACTACGACAAAGGAGCCTGCACCCACAACCACGA</u> <u>AGAGCGCACCCACAACACCAAGGAGCCGGCCCCCTACGACTCCTAAGGAACCC</u> <u>AAACCGGCACCAACCACTCCGGA</u>
LUB:2	13	<u>APTTPKKPAPTTTKSAPTTPKKPAPTTTKKPAPTTTKKPAPTTTKKPAPTTTK</u> <u>BPAPTTPKKPAPTTTKPKPAPTTT</u>
Lub:3	16	<u>GCGCGCCCACTCCAAAAGAGCCCGCACCTACCACGACAAAGTCAGCTCCT</u> <u>ACTACGCCCAAGAGCCAGCGCCGACGACTACTAAAGAACCGGCACCCACCAC</u> <u>GCCTAAAGAACCAGCCCCCTACTACGACAAAGGAGCCTGCACCCACAACCACGA</u> <u>AGAGCGCACCCACAACACCAAGGAGCCGGCCCCCTACGACTCCTAAGGAACCA</u> <u>GCCCCCTACTACGACAAAGGAGCCTGCACCCACAACCACGAAGAGCGCACCCAC</u> <u>AACACCAAGGAGCCGGCCCCCTACGACTCCTAAGGAACCCAAACCGGCACCAA</u> <u>CCACTCCGGA</u>
LUB:3	17	<u>APTTPKKPAPTTTKSAPTTPKKPAPTTTKKPAPTTTKKPAPTTTKKPAPTTTK</u> <u>BPAPTTPKKPAPTTTKKPAPTTTKBPAPTTTKSAPTTPKKPAPTTTKPKPAPTT</u> <u>TP</u>
Lub:4	20	<u>GCGCGCCCACTCCAAAAGAGCCCGCACCTACCACGACAAAGTCAGCTCCT</u> <u>ACTACGCCCAAGAGCCAGCGCCGACGACTACTAAAGAACCGGCACCCACCAC</u> <u>GCCTAAAGAACCAGCCCCCTACTACGACAAAGGAGCCTGCACCCACAACCACGA</u> <u>AGAGCGCACCCACAACACCAAGGAGCCGGCCCCCTACGACTCCTAAGGAACCA</u> <u>GCCCCCTACTACGACAAAGGAGCCTGCACCCACAACCACGAAGAGCGCACCCAC</u> <u>AACACCAAGGAGCCGGCCCCCTACGACTCCTAAGGAACCAGCCCCCTACTACGA</u> <u>CAAAGGAGCCTGCACCCACAACCACGAAGAGCGCACCCACAACCAAGGAG</u> <u>CCGGCCCCCTACGACTCCTAAGGAACCCAAACCGGCACCAACCACTCCGGA</u>
LUB:4	21	<u>APTTPKKPAPTTTKSAPTTPKKPAPTTTKKPAPTTTKKPAPTTTKKPAPTTTK</u> <u>BPAPTTPKKPAPTTTKKPAPTTTKBPAPTTTKSAPTTPKKPAPTTTKBPAPTTTK</u> <u>KPAPTTTKSAPTTTKBPAPTTTKPKPAPTTT</u>
Lub:5	24	<u>GCGCGCCCACTCCAAAAGAGCCCGCACCTACCACGACAAAGTCAGCTCCT</u> <u>ACTACGCCCAAGAGCCAGCGCCGACGACTACTAAAGAACCGGCACCCACCAC</u> <u>GCCTAAAGAACCAGCCCCCTACTACGACAAAGGAGCCTGCACCCACAACCACGA</u> <u>AGAGCGCACCCACAACACCAAGGAGCCGGCCCCCTACGACTCCTAAGGAACCA</u> <u>GCCCCCTACTACGACAAAGGAGCCTGCACCCACAACCACGAAGAGCGCACCCAC</u> <u>AACACCAAGGAGCCGGCCCCCTACGACTCCTAAGGAACCAGCCCCCTACTACGA</u> <u>CAAAGGAGCCTGCACCCACAACCACGAAGAGCGCACCCACAACCAAGGAG</u> <u>CCGGCCCCCTACGACTCCTAAGGAACCAGCCCCCTACTACGACAAAGGAGCCTGC</u> <u>ACCCACAACCACGAAGAGCGCACCCACAACACCAAGGAGCCGGCCCCCTACGA</u> <u>CTCCTAAGGAACCCAAACCGGCACCAACCACTCCGGA</u>
LUB:5	25	<u>APTTPKKPAPTTTKSAPTTPKKPAPTTTKKPAPTTTKKPAPTTTKKPAPTTTK</u> <u>BPAPTTPKKPAPTTTKBPAPTTTKBPAPTTTKSAPTTPKKPAPTTTKBPAPTTTK</u> <u>KPAPTTTKSAPTTTKBPAPTTTKBPAPTTTKBPAPTTTKSAPTTPKKPAPTTTK</u> <u>PKPAPTTT</u>

5

10

15

20

25

Aunque se ha ejemplificado la construcción de ADN base con PRG4 de longitud completa que contiene todos los 12 exones (menos una porción central del exón 6), las variantes de empalme de PGR4 también pueden emplearse, dependiendo de las diferentes actividades y longitud deseadas. Además, diferentes enzimas de restricción pueden emplearse en una estrategia análoga, siempre y cuando su ubicación se localice convenientemente dentro de la secuencia de ácido nucleico que codifique para la proteína PRG4. En otras modalidades, la construcción de ADN base carece de la secuencia de exón 6 nativa, pero incluye una o más secuencias del exón 1 al exón 5 o del exón 7 al exón 12 del gen PRG4 nativo. En otras modalidades, la construcción de ADN base es idéntica a las secuencias de MSF recombinante descritas en US6433142 o US20020137894 excepto que parte o todas las secuencias del exón 6 están ausentes.

La invención proporciona construcciones de ADNc que codifican para lubricinas recombinantes que son clonadas en sitios de restricción *SaII* (G[^]TCGAC; nos. de base 1027 a 1032 de SEQ ID NO: 5) y *NotI* (GC[^]GGCCGC; nos. de base 3984 a 3991 de SEQ ID NO: 5) en el vector de expresión eucariótico pTmed2 como una modalidad preferida (por ejemplo, la construcción de ADNc PRG4-Lub:1 recombinante en el vector de expresión pTmed2 se localiza en SEQ ID NO: 5 en los nos. de base 1038 a 3983). El sitio *SaII* incorpora la primera base de una secuencia de

inici de traducción de Kozak modificada (CCCACC; no. de base 1032 de SEQ ID NO: 5) antes del codón de inicio de metionina (ATG; nos. de base 1038 a 1040 de SEQ ID NO: 5). Otras modalidades de la invención incluyen otras combinaciones de 5 sitios de restricción y otros vectores de expresión.

En una modalidad preferida, el proceso iterativo hace uso del casete-1 de ADNc sintético (SEQ ID NO: 1) en el vector de expresión pTmed2, el cual es flanqueado por los sitios de restricción para *BssHII* (G[^]CGCGC) y *BspEI* (T[^]CCGGA), y el casete-1 de ADNc sintético, el cual incluye un sitio de restricción *Bsu36I* interno (CC[^]TNAGG, es decir, CC[^]TAAGG; nos. de base 107 a 113 de SEQ ID NO: 1). Para la generación iterativa de construcciones de lubricina recombinantes que contienen secuencias tipo KEPAPTT en esta 15 modalidad preferida, el casete-2 de ADNc sintético (SEQ ID NO: 3) se inserta entre los sitios *Bsu36I* y *BspEI* de la construcción recombinante. El casete-2 de ADNc sintético (SEQ ID NO: 3) es flanqueado por un sitio *Bsu36I* restante modificado (TAAAG) y un sitio *BspEI* restante (ACTCCGG). Incluye también un siti 20 *Bsu36I* interno (CC[^]TNAGG, es decir, CC[^]TAAGG; nos. de base 92 a 98 de SEQ ID NO: 3). Después de la clonación del casete-2 de ADNc sintético en los sitios *Bsu36I* y *BspEI* de una construcción de lubricina recombinante, el sitio de clonación *Bsu36I* de la construcción original se destruye dejando un 25 sitio de clonación *Bsu36I* único en la nueva construcción.

6A

- En esta modalidad preferida, la secuencia de aminoácidos **"AP~~TT~~P~~KEPAPTTT~~KSAP~~TT~~P~~KEPAPTTT~~~~KEPAPTT~~P~~KEPAPTTT~~K"** (SEQ ID NO: 26; 45 aminoácidos) permanece como parte de cada proteína PRG4-LUB:N (en donde N = un entero de 1 o más).
- 5 Además, la secuencia de aminoácidos **"~~KEPAPTTT~~~~KEPAPTTT~~KSAP~~TT~~P~~KEPAPTT~~P"** (SEQ ID NO: 27; 31 aminoácidos) es codificada por el inserto de ADN que se vuelve parte de cada construcción de ADNc PRG4-Lub:N+1 a través de la adición del casete-2 de ADNc sintético
- 10 *Bsu36I/BspEI* a una construcción de ADNc PRG4-Lub:N. Para la proteína PRG4-LUB:N en donde N es un entero de más de o igual a 3, la secuencia de aminoácidos **"~~EPAPTTT~~KSAP~~TT~~P~~KEPAPTT~~P"** (SEQ ID NO: 28; 22 aminoácidos) une SEQ ID NO: 26 a (N menos 2) repeticiones de SEQ ID NO: 27 en modalidades preferidas.
- 15 Más aún, la secuencia de aminoácidos **"KEPKAP~~TT~~P"** (SEQ ID NO: 29; 10 aminoácidos) sigue inmediatamente la última repetición de inserto de SEQ ID NO: 27 en modalidades preferidas de la proteína PRG4-LUB:N en donde N es un entero de más de o igual a 2.
- 20 Debido a que forman por lo menos dos secuencias KEPAPTT, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 y SEQ ID NO: 28 son cada una designadas en la presente como una "secuencia tipo KEPAPTT repetitiva" (el término N de SEQ ID 28 se enlaza a un residuo K por lo que SEQ ID NO: 28 forma dos secuencias
- 25 KEPAPTT en las proteínas PRG4-LUB:N).

En consecuencia, para la proteína lubricina recombinante PRG4-LUB:N (en donde N es igual a un entero de 1 o más), la proteína PRG4-LUB:N comprende SEQ ID NO: 26 en una modalidad preferida. Además, para la proteína lubricina
5 recombinante PRG4-LUB:N (en donde N es igual a un entero de 2 o más), la proteína PRG4-LUB:N comprende también SEQ ID NO: 27 en una modalidad preferida. SEQ ID NO: 27 se repite (N menos 1) veces dentro de cada proteína PRG4-LUB:N en estas modalidades
10 preferidas. En PRG4-LUB:2, SEQ ID NO: 26 y SEQ ID NO: 27 se traslapan (es decir, comparten una secuencia KEPAPTT).

En otras modalidades preferidas en donde N es un entero de más de o igual a 3 (por ejemplo, cuando N es igual
15 a un entero de 3 a 200, o en las modalidades que más se prefieren cuando N es un entero de 5 a 50, o en las modalidades que se prefieren todavía más cuando N es igual a un entero de 10 a 30), la proteína de lubricina recombinante comprende los 22 aminoácidos de SEQ ID NO: 28 que unen a los
20 45 aminoácidos orientados hacia la N-terminal de SEQ ID NO: 26 (N menos 2) repeticiones de los 31 aminoácidos de SEQ ID NO: 27, en donde los 10 aminoácidos de SEQ ID NO: 29 son C-terminales a los últimos 31 aminoácidos de la repetición de SEQ ID NO: 27.

Tabla 3

Frecuencias de secuencia en las proteínas PRG4-LUB preferidas

5	Proteína	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:	Repeti-
	PRG4-LUB	26	28	27	29	ciones de
		inserto de	> - - <	>- -<	inserto de	KEPAPTT
		extremo N			extremo C	
	-LUB:1	1	0	0	0	4
	-LUB:2	1	0	1	1	6
	-LUB:3	1	1	1	1	9
10	-LUB:4	1	1	2	1	12
	-LUB:5	1	1	3	1	15
	-LUB:N	1	1	N-2	1	3 x N

Las proteínas PRG4-LUB:N tienen en general (3 veces
15 N) repeticiones de la secuencia KEPAPTT en modalidades
preferidas en donde N es igual al número de secuencias tipo
KEPAPTT repetitivas. La lubricina recombinante PRG4-LUB:5
(que tiene $3 \times N = 3 \times 5 = 15$ copias de la secuencia KEPAPTT
en modalidades preferidas) es la lubricina recombinante PRG4-
20 LUB:N más grande cuya secuencia se detalla en la presente.
Para la lubricina recombinante de la presente invención, sin
embargo, el valor N puede ser de más de 5, tal como 7, 10,
12, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 100, 150, 200 o más.

En particular, las proteínas PRG4-LUB:1, PRG4-LUB:2, PRG4-LUB:3, PRG4-LUB:4 y PRG4-LUB:5 se detallan en la

~~87~~

presente c n 4, 6, 9, 12 y 15 secuencias KEPAPTT perfectas, respectivamente. Sin embargo, es posible agregar números cada vez más altos de secuencias KEPAPTT al continuar el procedimiento de insertos de Lub:N iterativo descrito en la
5 presente. Los presentes inventores han proporcionado una descripción detallada para lubricinas recombinantes PRG4-LUB:N con números relativamente bajos de secuencias KEPAPTT o tipo KEPAPTT en comparación con la proteína PRG4/lubricina nativa debido a que proteínas más pequeñas son más fáciles de
10 sintetizar y manipular.

También puede ser deseable incrementar el número de secuencias tipo KEPAPTT sobre aquél observado en la proteína PRG4 nativa. Esto se puede lograr ya sea al continuar el procedimiento de inserto de Lub:N iterativo descrito en la
15 presente de tal manera que haya más de 78 secuencias tipo KEPAPTT en la proteína PRG4-LUB:N de lubricina recombinante, o al empezar con un ADNc de PRG4 intacto, en lugar de una versión de exón 6 suprimido o de exón 6 reducido del ADNc de PRG4. Así, cualquier secuencia tipo KEPAPTT añadida está en
20 exceso del número encontrado en la proteína PRG4 nativa. Los procedimientos de inserto usados para la generación de proteínas de lubricina recombinantes más grandes a partir de un ADNc de PGR4 intacto, así como procedimientos de insert que usan una versión de exón 6 suprimido o exón 6 disminuido
25 de ADNc de PRG4, se abarcan dentro de la invención.

Ejemplo 2

Expresión y purificación de la proteína 'LUB'

La construcción de ANDc PRG4-Lub:1 (SEQ ID NO: 6; que contiene la secuencia del casete-1 de ADNc sintético) fue expresada en una línea de células CHO DUKX preadaptativa y transfectada de manera estable, purificada a partir de medios acondicionados y solubilizada en PBS que contenía 500 mM de clorhidrato de L-arginina como sigue.

La construcción de ADNc PRG4-Lub:1 se expresó en una línea de células CHO KUKX establemente transfectada y el medio acondicionado fue recogido. Un volumen de dos litros de este medio acondicionado se concentró por filtro bajo gas nitrógeno comprimido (2.81 kg/cm^2) usando una unidad de filtración AMICON® M2000™ equipada ya sea con un límite de peso molecular nominal (NMWL) de 10 kDa, una membrana de disco de 30 kDa NMWL o 100 kDa NMWL PALL FILTRON® OMEGA™. El medio se concentró hasta aproximadamente un volumen de 100 ml, el cual fue aspirado de la membrana de disco. La membrana de disco se removió después de la unidad de filtración AMICON® M2000™. El retenido "mucinoso", el cual se había acumulado en la superficie de la membrana de disco, se cosechó usando un raspador de células y se transfirió a tubos microcentrífugos. Las muestras en los tubos microcentrífugos se centrifugaron a aproximadamente $12,000 \times g$ durante 10 minutos, y se removió el sobrenadante acuoso.

Las pellas "enriquecidas c n lubricina" restantes se disolvieron en solución salina de pH regulado con fosfato (PBS) que contenía 500 mM de clorhidrato de L-arginina. La concentración de clorhidrato de L-arginina puede variar de 5 100 mM a 2.0 M.

Usando el procedimiento anterior, las glicoproteínas PRG4-LUB:2 a PRG4-LUB:5 (y las proteínas PRG4-LUB:N en donde N = un entero no negativo de 6 o más, así como otras glicoproteínas que contenían secuencias tipo KEPAPTT) 10 se cosechan directamente de las membranas de disco, es decir, sin purificación del concentrado que permanece sobre las membranas de disco. Es decir, estas glicoproteínas de lubricina recombinantes se aíslan directamente de las membranas de disco de unidades de filtración de 10 kDa NMWL, 15 30 kDa NMWL o 100 kDa NMWL PALL FILTRON® OMEGA™. En algunos casos, estas glicoproteínas también pueden ser purificadas a partir del concentrado que permanezca sobre las membranas de disco a través de técnicas cromatográficas o técnicas electroforéticas o ambas. Las proteínas y glicoproteínas de 20 lubricina recombinantes también pueden ser purificadas usando cromatografía y otras técnicas conocidas en la técnica (tales como, por ejemplo, descritas en US6433142 para proteínas MSF; véase también: Deutscher, 1990 y Scopes, 1994).

Ejemplo 3

Immunohistoquímica

La fuente de células de lubricina en articulaciones normales y osteoartríticas se investigó más usando técnicas
5 inmunohistoquímicas. Además, la presencia de lubricina sobre otras superficies tisulares, incluyendo pleura, pericardi, peritoneo y meninges, se examinó de acuerdo con los siguientes métodos.

Cartílago y sinovio osteoartríticos fueron
10 obtenidos mediante consentimiento informado de pacientes que se estaban sometiendo a cirugía de reemplazo de rodilla. Otros tejidos examinados fueron sinovio humano normal y sinovio, cartílago, pleura, pericardio, peritoneo, meninges, cerebro, tendón y ligamentos de primate no humano (NHP)
15 normal, y menisco, cartílago, sinovio, ligamento y tendones de canino normales y osteoartríticos. Los tejidos fueron fijados en paraformaldehído al 4% inmediatamente después de la cosecha o después de 24 horas de incubación en medio sin y con monensina suplemental (5 μ M). Para los estudios inmunohistoquímicos
20 los tejidos se fijaron en paraformaldehído al 4% durante 24 horas y se obtuvieron secciones de parafina de 6-8 micras. Un subconjunto de tejidos se congeló en un compuesto de congelamiento de tomografía de coherencia óptica (OCT) y se cortaron a intervalos de 5 a 10 micras seguidos por la
25 fijación en acetona.

Los análisis inmunohistoquímicos e inmunofluorescentes utilizaron un anticuerpo de lubricina anti-humano de conejo policlonal purificado (Ab 06A10) generado mediante inmunización con una forma truncada de lubricina recombinante y purificación sobre una columna de proteína A. Se usó el anticuerpo CD16 (NEOMARKERS[®], Fremont CA) para identificar macrófagos (receptor III de Fcγ). Se usó el anticuerpo CD106/VCAM-1 (NEOMARKERS[®]) para marcar fibroblastos dentro de secciones de criostato. Para las secciones de control, una concentración equivalente de RIGG (VECTOR LABS[™], CA), MIGG₁ (DAKO[®]) y MIGG_{2a} (DAKO[®]) se usó consecutivamente. Se usó el Sistema de Tecnología de Dextrano (ENVISION+[™]; DAKO[®]) para visualizar la unión de anticuerpos y las secciones fueron contrateñidas con alum-hematoxilina de Mayer. Se llevó a cabo la inmunofluorescencia usando los anticuerpos primarios anteriores y sondeando con anticuerpos secundarios (Alexa Dyes - MOLECULAR PROBES[™], Oregon) colorante Alexa anti-conejo de cabra a 546 nm y colorante Alexa anti-ratón de cabra a 488 nm. La unión fluorescente del anticuerpo se detectó con un microscopio fluorescente NIKON[®].

La lubricina se detectó a lo largo de las superficies de cartílago y sinovio articular humano normal y osteoartrítico. Una gruesa capa de lubricina recubrió completamente la superficie osteoartrítica fibrilada. La

inmunofluorescencia con CD106 mostró una fuerte tinción de la membrana celular de los fibroblastos íntimos del sinovio; la proteína lubricina también fue visualizada como tiñendo dentro de células sinoviales. La doble inmunotinción para
5 CD106+lubricina, mostró claramente la co-localización dentro de los fibroblastos íntimos del sinovio. La tinción con CD16 de los macrófagos sinoviales demostró la presencia de estas células a lo largo de las capas del sinovio, pero no hubo co-localización con lubricina.

10 La tinción de NHP y tejidos articulares caninos (normales y OA) con el anticuerpo de lubricina mostró que la lubricina recubría la capa superficial del sinovio, cartílago, menisco y tendones. El cartílago NHP también mostró una fuerte inmunorreactividad no sólo en las células
15 de la zona superficial sino también en las células de la zona transicional sin la adición de monesina para incrementar los depósitos intracelulares de la glicoproteína. Las células que recubrían el peritoneo, pericardio y pleura también exhibieron expresión de lubricina, aunque no se observó
20 inmunorreactividad alguna en las meninges o cerebro.

En resumen, sinovio, tendón, menisco y cartílago tanto normal como osteoartrítico fueron recubiertos por una capa sustancial de lubricina. La glicoproteína está claramente presente sobre tejidos dentro de articulaciones
25 OA. La tinción inmunofluorescente doble de sinovio OA humano

demostró que los sinovi cit s de fibroblasto íntimos eran responsables de la síntesis de lubricina.

La localización de la proteína de lubricina fuera del tejido de articulaciones no se ha descrito previamente.

5 Una capa superficial de lubricina se demostró claramente sobre pleura pulmonar, pericardio y peritoneo. La lubricina tiene la reputación de tener una función lubricante dentr de la articulación sinovial, pero puede jugar varios papeles incluyendo, pero no limitados a, funciones de lubricación y
10 anti-adherencia en otros tejidos. La suplementación de est s otros tejidos con lubricina es una bioterapia abarcada dentro de esta invención.

Ejemplo 4

Lubricina recombinante como un lubricante mecánico

15 La lubricina recombinante se podría usar como un lubricante generalmente, por ejemplo, con sellos y cojinetes y similares. Por ejemplo, US3973781 titulado "Sello autolubrificante", US4491331 titulada "Sello superficial mecánico ranurado", US4560174 titulada "Sello de vari s
20 rebordes" y US4973068 titulada "Sellos y cojinetes dinámic s de aspereza de superficie diferencial", describen cada uno sellos de diseños variables. La lubricina recombinante se podría usar como un lubricante con estos sellos.

En particular, la lubricina recombinante podría
25 usarse como un lubricante para dispositivos médicos, prótesis

e implantes, particularmente cuando se requiera un lubricante biocompatible. Además, las aplicaciones no tienen que ser médicas, sino que pueden incluir aplicaciones en contextos ambientalmente sensibles en los que pueda ser deseable un lubricante biocompatible.

Ejemplo 5

Composiciones de lubricina recombinante

Una lubricina recombinante de la presente invención puede usarse en una composición farmacéutica cuando se le combine con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Esta composición puede contener también (además de proteína y vehículo) diluyentes, rellenos, sales, reguladores de pH, estabilizadores, solubilizadores y otros materiales bien conocidos en la técnica. El término "farmacéuticamente aceptable" significa un material no tóxico que no interfiere con la efectividad de la actividad biológica de los ingredientes activos. Las características del vehículo dependerán de la ruta de administración. La composición farmacéutica de la invención también puede contener citocinas, linfoquinas u otros factores hematopoyéticos tales como M-CSF, GM-CSF, TNF, IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, TNF1, TNF2, G-CSF, Meg-CSF, trombopoyetina, factor de células madre y eritropoyetina. La composición farmacéutica puede contener además otros agentes que incrementen la actividad de

la proteína o complementen su actividad us en tratamiento. Estos factores y/o agentes adicionales pueden incluirse en la composición farmacéutica para producir un efecto sinérgico con la proteína de la invención, o para minimizar los efectos secundarios. De manera inversa, la proteína de la presente invención puede incluirse en formulaciones de la citocina, linfocina, otro factor hematopoyético, factor trombolítico o anti-trombótico, o agente anti-inflamatorio particular, para reducir al mínimo los efectos secundarios.

10 Se prefiere particularmente el uso de la proteína lubricina recombinante para suplementación intra-articular en combinación con el hialuronano (HA) polimérico descrito arriba e hilanos de peso molecular más alto. Otras combinaciones preferidas para usarse en suplementación intra-
15 articular incluyen el uso de la proteína lubricina recombinante con anestésicos (por ejemplo, lidocaína), esteroides (por ejemplo, hexacetónido de triamcinolona) o radioisótopos (por ejemplo, itrio). Otras combinaciones preferidas para usarse en suplementación intra-articular
20 pueden incluir preparaciones celulares autólogas o heterólogas (por ejemplo, de condrocitos, sinoviocitos o células madre cultivados, ya sea derivados autólogamente o heterológamente).

Una lubricina recombinante de la presente invención
25 puede ser activa en multímeros (por ejemplo, heterodímeros u

homodímeros) complej s con ella misma u tras proteínas. Como resultado, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden comprender una proteína de la invención en esta forma multimérica o acomplexada.

5 Una composición farmacéutica de la invención puede estar en forma de un complejo de las proteínas lubricina recombinantes de la presente invención junto con antígenos de proteína o péptido. El antígeno de proteína y/o péptido suministrará una señal estimuladora tanto a linfocitos B como
10 T. Los linfocitos B responderán al antígeno a través de su receptor de inmunoglobulina de superficie. Los linfocit s T responderán al antígeno a través del receptor de células T (TCR) después de la presentación del antígeno por proteínas MHC. MHC y las proteínas estructuralmente emparentadas
15 incluyendo aquellas codificadas por genes MHC clase I y clase II sobre celulas hospederas servirán para presentar los antígenos péptidos a linfocitos T. Los componentes del antígeno también pueden ser suministrados como complejos MHC-péptido purificados solos o con moléculas co-estimuladoras
20 que puedan señalar directamente células T. Como alternativa, los anticuerpos capaces de unirse a inmunoglobulinas de superficie y otras moléculas sobre células B así como anticuerpos capaces de unirse al TCR y otras moléculas sobre células T pueden combinarse con la
25 composición farmacéutica de la invención.

Una composición farmacéutica de la invención puede estar en forma de un liposoma en el cual la proteína de la presente invención se combine, además de otros vehículos farmacéuticamente aceptables, con agentes anfifáticos tales como lípidos que existan en forma agregada tales como micelas, monocapas insolubles, cristales líquidos o capas laminares en solución acuosa. Los lípidos adecuados para la formulación liposómica incluyen, sin limitación, monoglicéridos, diglicéridos, sulfátidos, lisolecitina, fosfolípidos, saponina, ácidos biliares y similares. La preparación de estas preparaciones liposómicas está dentro del nivel de capacidad en la técnica, como se describe, por ejemplo, en US4235871, US4501728, US4837028 y US4737323.

En la práctica el método de tratamiento o uso de la presente invención, una cantidad terapéuticamente efectiva de la proteína de la presente invención se administra a un sujeto (por ejemplo, un mamífero) que tiene una condición que será tratada. La proteína de la presente invención se puede administrar de acuerdo con el método de la invención ya sea sola o en combinación con otras terapias tales como tratamientos que empleen citocinas, linfoquinas, otros factores hematopoyéticos o suplementos a base de células. Cuando se co-administra con una o más citocinas, linfoquinas, otros factores hematopoyéticos o suplementos a base de células, la proteína de la presente invención puede

95

administrarse ya sea simultáneamente con las citocinas, linfocinas, otros factores hematopoyéticos, factores trombolíticos o antitrombóticos o suplementos a base de células, o secuencialmente. Si se administra
5 secuencialmente, el médico que atienda decidirá sobre la secuencia adecuada de administración de la proteína de la presente invención en combinación con citocinas, linfocinas, otros factores hematopoyéticos, factores trombolíticos antitrombóticos, o suplementos a base de células.

10 La administración de la proteína de la presente invención usada en la composición farmacéutica o para llevar a la práctica el método de la presente invención se puede llevar a cabo en una variedad de formas convencionales, tales como inyección cutánea, subcutánea, intraperitoneal,
15 parenteral o intravenosa, o, en algunos casos, ingestión oral, inhalación, aplicación tópica. Se prefiere generalmente la administración a un paciente mediante inyección en el tejido de la articulación (Schumacher, 2003).

Cuando una cantidad terapéuticamente efectiva de la
20 proteína de la presente invención se administra oralmente, la proteína de la presente invención estará en forma de una tableta, cápsula, polvo, solución o elixir. Cuando se administra en forma de tableta, la composición farmacéutica de la invención puede contener además un vehículo sólido tal
25 como una gelatina o un adyuvante. La tableta, cápsula y

77

polvo contiene alrededor de 5 a 95% de proteína de la presente invención, y de preferencia alrededor de 25 a 90% de la proteína de la presente invención. Cuando se administra en forma líquida, puede añadirse un vehículo líquido tal como

5 agua, petróleo, aceites de origen animal o de origen vegetal tales como aceite de cacahuate, aceite mineral, aceite de soya o aceite de ajonjolí, o aceites sintéticos. La forma líquida de la composición farmacéutica puede contener además una solución salina fisiológica, dextrosa u otra solución de

10 sacáridos, o glicoles tales como etilenglicol, propilenglicol o polietilenglicol. Cuando se administra en forma líquida, la composición farmacéutica contiene alrededor de 0.5 a 90% en peso de la proteína de la presente invención, y de preferencia alrededor de 1 a 50% de la proteína de la

15 presente invención.

Cuando una cantidad terapéuticamente efectiva de la proteína de la presente invención se administra mediante inyección intravenosa, cutánea o subcutánea, la proteína de la presente invención estará en forma de una solución acuosa

20 parenteralmente aceptable y libre de pirógenos. La preparación de estas soluciones de proteínas parenteralmente aceptables, en lo que se refiere a pH, isotonicidad, estabilidad y similares, está dentro de la capacidad de la técnica. Una composición farmacéutica preferida para

25 inyección intravenosa, cutánea o subcutánea debe contener,

además de la proteína de la presente invención, un vehículo isotónico tal como inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer, inyección de dextrosa e inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer lactada u otro vehículo conocido
5 en la técnica. La composición farmacéutica de la presente invención también puede contener estabilizadores, conservadores, reguladores de pH, antioxidantes y otros aditivos conocidos por los capacitados en la técnica. Por ejemplo, la inyección en asociación con, o en combinación
10 con, lidocaína u otro anestésico local, esteroides adrenocorticoideos, HA y/o hilanos, o radioisótopos son todas abarcadas dentro de la presente invención.

La cantidad de proteína de la presente invención en la composición farmacéutica de la presente invención
15 dependerá de la naturaleza y severidad de la condición que se esté tratando, y de la naturaleza de tratamientos anteriores a los que haya sido sometido el paciente. Finalmente, el médico a cargo decidirá la cantidad de proteína de la presente invención con la cual tratar cada paciente
20 individual. Inicialmente, el médico a cargo administrará dosis bajas de la proteína de la presente invención y observará la respuesta del paciente. Dosis más grandes de la proteína de la presente invención pueden administrarse hasta que se obtenga el efecto terapéutico óptimo para el paciente,
25 y en ese punto la dosis ya no se incrementa más. Se

79

contempla que las diferentes composiciones farmacéuticas usadas para llevar a la práctica el método de la presente invención deben contener alrededor de 0.01 μg a aproximadamente 100 mg (de preferencia alrededor de 0.1 μg a 5 aproximadamente 10 mg, muy preferiblemente alrededor de 0.1 μg a aproximadamente 1 mg) de la proteína de la presente invención por kg de peso corporal dependiendo del método de administración y del curso terapéutico exacto implementado.

Si se administra intravenosamente, la duración de 10 la terapia intravenosa usando una composición farmacéutica que comprenda la lubricina recombinante de la presente invención variará, dependiendo de la severidad de la condición y de la enfermedad que se esté tratando y de la respuesta idiosincrásica potencial de cada paciente 15 individual. Se contempla que la duración de cada aplicación de la proteína de la presente invención puede estar en la escala de 12 a 24 horas de administración intravenosa continua. Finalmente, el médico a cargo decidirá acerca de la duración adecuada de la terapia intravenosa usando la 20 composición farmacéutica de la presente invención.

Para composiciones de la presente invención que sean útiles para terapia de huesos, cartílagos, tendones o ligamentos, el método terapéutico incluye administrar la composición tópicamente, sistemáticamente o localmente como 25 un implante o dispositivo. Cuando se administra, la

82

composición terapéutica para usarse en esta invención está, por supuesto, en una forma libre de pirógenos y fisiológicamente aceptable. Además, la composición deseablemente puede ser encapsulada o inyectada en una forma viscosa para su suministro al sitio del daño en hueso, cartílago o tejido. La administración tópica puede ser adecuada en algunos contextos de curación de heridas y reparación de tejidos. Los agentes terapéuticamente útiles que también pueden incluirse opcionalmente en la composición descrita arriba, pueden como alternativa o además, administrarse simultánea o secuencialmente con la composición que comprenda la proteína lubricina recombinante de la invención en los métodos de la invención. De preferencia, la composición incluiría una matriz capaz de suministrar la composición que contenga proteína al sitio de daño en hueso y/o cartílago, posiblemente capaz de proporcionar una estructura para el desarrollo de hueso y cartílago, y óptimamente capaz de ser resorbida en el cuerpo. Estas matrices se pueden formar a partir de materiales actualmente en uso para otras aplicaciones médicas implantadas.

Si se usa una matriz, la elección del material de la matriz se basa en la biocompatibilidad, biodegradabilidad, propiedades mecánicas, apariencia cosmética y propiedades interfaciales. La aplicación particular de las composiciones definirá la formulación adecuada. Las matrices potenciales

para las composiciones pueden ser sulfato de calcio, fosfato tricálcico, hidroxiapatita, ácido poliláctico, ácido poliglicólico y polianhídridos biodegradables y definidos químicamente. Otros materiales potenciales son

5 biodegradables y biológicamente bien definidos, tales como colágeno óseo o dérmico. Las matrices adicionales comprenden proteínas puras o componentes de matriz extracelular. Otras matrices potenciales son no biodegradables y químicamente definidas, tales como hidroxiapatita sinterizada, biocristal,

10 aluminatos u otras cerámicas. Las matrices pueden comprender combinaciones de cualquiera de los tipos de materiales mencionados arriba, tales como ácido poliláctico e hidroxiapatita o colágeno y fosfato tricálcico. La biocerámica puede alterarse en composición, tal como en

15 calcio-aluminato-fosfato y procesarse para alterar el tamaño de poro, tamaño de partícula, forma de la partícula y biodegradabilidad.

En composiciones adicionales, las proteínas de la invención pueden combinarse con otros agentes benéficos para

20 el tratamiento del defecto o herida en hueso y/o cartílago o tejido en cuestión. Esos agentes incluyen varios factores de crecimiento tales como factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factores de crecimiento por transformación (TGF- α y TGF- β) y

25 factor de crecimiento tipo insulina (IGF).

Las composiciones terapéuticas también son actualmente valiosas para aplicaciones veterinarias. Particularmente los animales domésticos tales como gatos y perros, animales de laboratorio tales como ratones y ratas, así como caballos, además de humanos, son sujetos o pacientes particularmente deseados para este tratamiento con las proteínas de lubricina recombinantes de la presente invención.

El régimen de dosificación de una composición farmacéutica que contenga proteínas que se usará en la regeneración de tejidos será determinado por el médico a cargo considerando varios factores que modifiquen la acción de las proteínas, por ejemplo, cantidad de peso de tejido que se desee formar, el sitio del daño, la condición del tejido dañado, el tamaño de una herida, el tipo de tejido dañado (por ejemplo, cartílago o tendón), la edad, sexo y dieta del paciente, la severidad de cualquier infección, el tiempo de administración y otros factores clínicos. La dosis puede variar con el tipo de matriz usada en la reconstitución y con la inclusión de otras proteínas en la composición farmacéutica. Por ejemplo, la adición de otros factores de crecimiento conocidos, tales como IGF I (factor de crecimiento tipo insulina I) o, a la composición final, también puede efectuar la dosis. El progreso puede monitorearse mediante la evaluación periódica del crecimiento

y/o reparación del tejido y/ hueso, por ejemplo, rayos X, determinaciones histomorfométricas y marcado con tetraciclina.

Los polinucleótidos de la presente invención
5 también se pueden usar para terapia génica. Estos polinucleótidos pueden introducirse ya sea *in vivo* o *ex vivo* en células para su expresión en un sujeto (por ejemplo, un mamífero). Los polinucleótidos de la invención también se pueden administrar mediante otros métodos de introducción
10 conocidos para la introducción del ácido nucleico en una célula u organismo (incluyendo, sin limitación, en forma de vectores virales o ADN desnudo).

Las células también pueden cultivarse *ex vivo* en presencia de ácidos nucleicos o proteínas de la presente
15 invención para de esta manera proliferar o para producir un efecto o actividad deseado en estas células. Las células tratadas después se pueden introducir *in vivo* para propósitos terapéuticos.

Ejemplo 6

20 Anticuerpos anti-lubricina

La proteína lubricina recombinante de la invención también se puede usar para inmunizar animales y obtener anticuerpos policlonales y monoclonales que reaccionen específicamente con la proteína o, en algunas modalidades,
25 sus contrapartes nativas. Estos anticuerpos pueden obtenerse

usand ya sea proteína lubricina recombinante completa o fragmentos de la misma como un inmunógeno. Los inmunógenos péptidos pueden contener además un residuo de cisteína en el término carboxilo, y se conjugan a hapteno tal como hemocianina de lapa en forma de cerradura (KLH). Los métodos para sintetizar estos péptidos se conocen en la técnica (por ejemplo, como en Merrifield, 1963 y Krstenansky et al., 1987). Los anticuerpos monoclonales que se unen a la proteína lubricina recombinante de la invención pueden ser agentes de diagnóstico útiles para la inmunodetección de proteínas relacionadas. La neutralización de los anticuerpos monoclonales que se unen a estas proteínas relacionadas también puede ser un procedimiento terapéutico útil para ambas condiciones asociadas con lubricina o, en algunos casos, en el tratamiento de algunas formas de cáncer en las que pueda estar implicada una expresión anormal de lubricina (por ejemplo, en sinoviomias).

Además de los anticuerpos que están dirigidos al núcleo del polipéptido de una proteína lubricina recombinante, un anticuerpo dirigido a una porción de azúcar o a un complejo de glicoproteína de proteína lubricina recombinante es deseable. Para poder generar anticuerpos que se unan a lubricina recombinante glicosilada (pero no a una forma desglicosilada), el inmunógeno es de preferencia un glicopéptido, cuya secuencia de aminoácidos abarca una

85

porción altamente glicosilada de la lubricina recombinante, por ejemplo, una secuencia tipo KEPAPTT repetitiva. Los glicopéptidos más cortos, por ejemplo, de 8-15 aminoácidos de longitud, dentro de la misma región altamente glicosilada también se usan como
5 inmunógenos. Los métodos para generar anticuerpos para biomoléculas altamente glicosiladas se conocen en la técnica (por ejemplo, como se describe por Schneerson et al., 1980).

Ejemplo 7

Suministro de lubricina recombinante

10 Se usan los métodos estándares para el suministro de lubricina recombinante. Para administración intra-articular, la lubricina recombinante se suministra a la cavidad sinovial a una concentración en la escala de 20-500 $\mu\text{g/ml}$ en un volumen de aproximadamente 0.1-2 ml por
15 inyección. Por ejemplo, 1 ml de una lubricina recombinante a una concentración de 200-300 $\mu\text{g/ml}$ se inyecta en una articulación de rodilla usando una aguja fina (por ejemplo, calibre 14-30, de preferencia calibre 18-26). Las composiciones de la invención también son útiles para
20 administración parenteral, tal como administración intravenosa, subcutánea, intramuscular o intraperitoneal y, en modalidades preferidas, sobre las superficies de la pared peritoneal, pericardio o pleura.

La colocación adecuada de la aguja es crítica para
25 la eficacia de la lubricina recombinante que se suministre

88

mediante inyección en terapias de articulaciones (Schumacher, 2003). Una colocación adecuada de la aguja puede facilitarse a través del uso de tecnología de ultrasonido. Las inyecciones exitosas son más comunes después de la aspiración exitosa del fluido. Un enfoque supralateral al interior del saco suprapatelar ha sido sugerido para proporcionar el acceso más confiable al espacio de la articulación de la rodilla. Además de suministrar lubricina recombinante mediante inyección intra-articular, los ácidos nucleicos que codifiquen para lubricina recombinante (por ejemplo, en aplicaciones de terapia génica) pueden administrarse a una cavidad sinovial mediante la inyección intra-articular.

Para la prevención de adhesiones quirúrgicas, las lubricinas recombinantes descritas en la presente se administran en forma de gel, espuma, fibra o tela. Una lubricina recombinante formulada de esta manera se coloca sobre y entre tejido dañado o expuesto y en las interfases para prevenir la formación de adherencias entre las superficies que se empalman. Para ser efectivo, el gel o película deben permanecer en su lugar y evitar el contacto del tejido durante un tiempo lo suficientemente largo como para que cuando el gel finalmente se disperse y los tejidos entren en contacto, ya no tengan una tendencia a adherirse. La lubricina recombinante formulada para la inhibición o prevención de la formación de adherencia (por ejemplo, en

forma de una membrana, tela, espuma o gel) se evalúa para la
prevención de adherencias posquirúrgicas en un modelo de
abrasión cecal de rata (Goldberg et al., 1993). Las
composiciones se colocan alrededor de ciegos de rata
5 quirúrgicamente expuestos, y se les compara con controles no
tratados (animales cuyos ciegos fueron expuestos pero no
recibieron ningún tratamiento). Una reducción en la cantidad
de la formación de adherencia en el modelo de rata en
presencia de la formulación de lubricina recombinante
10 comparada con la cantidad en ausencia de la formulación
indica que la formulación es clínicamente efectiva para
reducir la formación de adherencia tisular. En contextos en
los que la adherencia tisular se desee (por ejemplo, cuando
se desee la curación de fisuras en cartílago), sin embargo,
15 se puede evitar mejor el uso de la lubricina recombinante.
El proporcionar lubricación a superficies de cartílago
deteriora la integración entre cartílagos (Schaefer et al.,
2004).

Las lubricinas recombinantes se usan también para
20 recubrir extremidades y articulaciones artificiales antes de
su implante en un mamífero. Por ejemplo, estos dispositivos
pueden ser sumergidos o bañados en una solución de lubricina
recombinante, por ejemplo, siguiendo métodos descritos en
US5709020 o US5702456. Sin embargo, se debe tener cuidado en
25 el uso *in vivo* de la lubricina recombinante al proporcionar

una lubricación cerca de una prótesis. Una s bre-regulación marcada en la expresión del gen PRG4 (es decir, la expresión del gen MSF) se ha reportado que está asociada con el aflojamiento de la prótesis; la lubricina podría alterar la
5 interacción hermética entre el hueso y prótesis y de esta manera contribuir al aflojamiento de la prótesis (Morawietz et al., 2003).

Ejemplo 8

Modelo de OA

10 Para evaluar la eficacia de la administración intra-articular de preparaciones de lubricina, se prepara un modelo de murino con osteoartritis/erosión de cartílago. Para la inducción quirúrgica de la osteoartritis, los ratones son anestesiados con 250 mg/kg de tribromometanol
15 intraperitoneal (SIGMA® Chemical), y las rodillas se preparan para cirugía aséptica. Se practica una incisión longitudinal media al ligamento rotuliano, la cápsula de la articulación se abre y el ligamento meniscotibial (que fija el menisco medio a la planicie tibial) se identifica. En un subconjunto
20 de animales, no se lleva a cabo manipulación adicional, y este grupo es considerado operado en falso. En el grupo experimental el ligamento meniscotibial medio es transeccionado dando como resultado la desestabilización del menisco medio (DMM). En ambos animales falsos como DMM, la
25 cápsula de la articulación y la capa subcutánea se cierran

por sutura p r separad y la piel se cierra mediante la aplicación del adhesivo tisular NEXABAND® S/C (Abbott, N rth Chicago, IL). Se administra buprenorfina (BUPRENEX®; Reckitt & Colman, Kingston-upon-Hull, Reino Unido) antes y después de
5 la operación.

Las preparaciones de lubricina recombinantes se administran mediante inyección intra-articular usando una aguja calibre 30. Inyecciones de 5-10 microlitros por articulación de rodilla se administran una semana después de
10 la cirugía. Las inyecciones adicionales se administran opcionalmente sobre una base semanal. Los animales se sacrifican con dióxido de carbono 4 semanas después de la operación y 8 semanas después de la operación.

Para evaluar la progresión y severidad de la
15 osteoartritis, las articulaciones de rodilla intactas se colocan en paraformaldehído al 4% durante 24 horas, luego se descalcifican en EDTA/polivinilpirrolidona durante cinco días. Las articulaciones son incrustadas en parafina y secciones frontales de 6 µm se obtienen a través de la
20 articulación completa. Portaobjetos se tiñen con verde Safranin O-fast y se gradúan a intervalos de 70 µm a través de la articulación usando una modificación de un sistema de puntuación semicuantitativa (Chambers et al., 2001) en el cual "0" = cartílago normal, "0.5" = pérdida de Safranin O
25 sin cambios estructurales; "1" = superficie articular áspera

y fibrilaciones pequeñas; "2" = fibrilación hasta la capa inmediatamente debajo de la capa superficial y cierta pérdida de láminas de superficie; "3" = leve (<20%); "5" = moderada (20-80%) y "6" = severa (>80%) pérdida de cartílago no calcificado. Las puntuaciones de "4" (erosión en el hueso) no son una característica de este modelo. Todos los cuadrantes de la articulación (planicie tibial media, cóndil femoral medio, planicie tibial lateral y cóndilo femoral lateral) se califican por separado. Un mínimo de 12 niveles se califican por observadores ciegos para cada articulación de rodilla. Las puntuaciones se expresan como la puntuación histológica máxima encontrada en cada articulación o las puntuaciones histológicas sumadas. La puntuación sumada representa las puntuaciones aditivas para cada cuadrante de la articulación en cada corte histológico a través de la articulación. Este método de análisis hace posible la evaluación de la severidad de lesiones así como el área superficial del cartílago afectada con lesiones tipo OA (Glasson et al., 2004).

20

Referencias

- (1) Chambers et al., 2001, *Arthritis Rheum.* 44; 1455-65;
- (2) Deutscher, 1990, *Methods in Enzymology*, vol. 182: *Guide to Protein Purification*, Academic Press;
- (3) Espallargues y Pons, 2003, *Int'l J. Tech.*

25

Assess. Health Care 19:41-56;

(4) Flannery et al., 1999, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 254: 535-41;

(5) Glasson et al., 2004, *Arthritis Rheum.* 50:2547-58;

(6) Goldberg et al., 1993, en: *Gynecologic Surgery and Adhesion Prevention*, Willey-Liss, págs. 191-204;

(7) Hills, 2002, *J. Rheumatology* 29:200-01;

(8) Ikegawa et al., 2000, *Cytogenet. Cell Genet.* 90:291-297;

(9) Jay et al., 2001, *J. Orthopaedic Research* 19: 677-87;

(10) Jay et al., 2002, *Glycoconjugate Journal* 18:807-15;

(11) Krstenansky et al., 1987, *FEBS Lett.* 211:10-16;

(12) Marcelino et al., 1999, *Nature Genetics* 23:319-322;

(13) Merberg et al., 1993, *Biology of Vitronectins and their Receptors*, Pressner et al. (eds.): Elsevier Science Publishers, págs. 45-53;

(14) Merrifield, 1963, *J. Amer. Chem. Soc.* 85: 2149-54;

(15) Morawietz et al., 2003, *Virchows Arch.* 443:57-66;

- (16) Rees et al., 2002, *Matrix Biology* 21:593-602;
- (17) Schneerson et al., 1980, *J. Exp. Med.* 152:
361-76;
- (18) Scopes, 1994, *Protein Purification: Principles
5 and Practice* (3ª edición), Springer Verlag;
- (19) Schaefer et al., 2004, *Biorheology* 41:503-508;
- (20) Schumacher, 2003, *Arthritis & Rheumatism*
49:413-20;
- (21) Tatusova y Madden, 1999, *FEMS Microbiol Lett.*
10 174:247-50;
- (22) Wobig et al., 1998, *Clin. Ther.* 20:410-23 y
- (23) Wobig et al., 1999, *Clin. Ther.* 21:1549-62.

REIVINDICACIONES

1. Una proteína aislada caracterizada porque comprende SEQ ID NOS: 9, 13, 17, 21 ó 25.
- 5 2. Una proteína aislada caracterizada porque comprende SEQ ID NO: 26 enlazada a N-2 repeticiones de SEQ ID NO: 27, en donde N es igual a un entero de 3 a 200.
3. La proteína de conformidad con la reivindicación 2, caracterizada porque N es igual a un entero de 5 a 50.
- 10 4. La proteína de conformidad con la reivindicación 2, caracterizada porque N es igual a un entero de 10 a 30.
5. Una proteína aislada caracterizada porque comprende SEQ ID NO: 26 más SEQ ID NO: 28 más [N-2 repeticiones de SEQ ID NO: 27] más SEQ ID NO: 29, en donde N
15 es igual a un entero de 10 a 30.
6. Un polinucleótido aislado caracterizado porque comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para la proteína de conformidad con la reivindicación 1.
7. Un polinucleótido aislado caracterizado porque
20 comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para la proteína de conformidad con la reivindicación 2.
8. Un polinucleótido aislado caracterizado porque comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para la proteína de conformidad con la reivindicación 3.
- 25 9. Un polinucleótido aislado caracterizado porque

comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para la proteína de conformidad con la reivindicación 4.

10. Un polinucleótido aislado caracterizado porque comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para la proteína de conformidad con la reivindicación 5.

11. Una proteína aislada caracterizada porque comprende SEQ ID NOS: 7, 11, 15, 19 ó 23.

12. Un polinucleótido aislado caracterizado porque comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica para la proteína de conformidad con la reivindicación 11.

13. El polinucleótido de conformidad con la reivindicación 6, caracterizado porque comprende SEQ ID NOS: 8, 12, 16, 20 ó 24.

14. El polinucleótido de conformidad con la reivindicación 12, caracterizado porque comprende SEQ ID NOS: 6, 10, 14, 18 ó 22.

15. Un polinucleótido aislado caracterizado porque comprende un polinucleótido que tiene al menos 80% de identidad con SEQ ID NOS: 6, 10, 14, 18 ó 22 sobre la longitud completa de la secuencia.

16. El polinucleótido de conformidad con la reivindicación 15, caracterizado porque comprende un polinucleótido que tiene al menos 90% de identidad.

17. El polinucleótido de conformidad con la reivindicación 15, caracterizado porque comprende un

polinucleótido que tiene al menos 95% de identidad.

18. El polinucleótido de conformidad con la reivindicación 15, caracterizado porque comprende un polinucleótido que tiene al menos 99% de identidad.

5 19. La proteína de conformidad con las reivindicaciones 1 ó 2, caracterizada porque es O-enlazada con β -(1-3)-Gal-GalNac.

20. Una composición caracterizada porque comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de la proteína de
10 conformidad con la reivindicación 19 en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

21. La composición de conformidad con la reivindicación 20, caracterizada porque comprende además hialuronano o hilano.

15 22. Un método para tratar a un sujeto, caracterizado porque comprende:

obtener la composición de conformidad con la reivindicación 20 y

administrar la composición a un tejido del sujeto .

20 23. El método de conformidad con la reivindicación 22, caracterizado porque el tejido se selecciona del grupo que consiste en cartílago, sinovio, menisco, tendón, peritoneo, pericardio y pleura.

24. El método de conformidad con la reivindicación
25 23, caracterizado porque el tejido es cartílago.

25. El método de conformidad con la reivindicación 22, caracterizado porque comprende además una etapa seleccionada del grupo que consiste en: proporcionar un anestésico al sujeto; proporcionar un fármaco anti-
5 inflamatorio al sujeto; proporcionar un antibiótico al sujeto; aspirar fluido del sujeto; lavar tejido del sujeto y formar imágenes del tejido del sujeto.

26. El método de conformidad con la reivindicación 22, caracterizado porque el sujeto se selecciona del grupo
10 que consiste en un ratón, una rata, un gato, un perro, un caballo y un humano.

27. El método de conformidad con la reivindicación 26, caracterizado porque el sujeto es un humano.

28. Un vector de expresión caracterizado porque
15 comprende el polinucleótido de conformidad con las reivindicaciones 6 ó 7 enlazado operablemente a una secuencia de control de expresión.

29. Un método para producir una proteína recombinante, caracterizado porque comprende:
20 cultivar células transformadas con el vector de expresión de conformidad con la reivindicación 28 en medio de cultivo líquido y

recoger la proteína recombinante del medio.

30. El método de conformidad con la reivindicación
25 29, caracterizado porque recoger la proteína comprende:

concentrar la proteína al filtrar el medio a través de una membrana;

recoger la proteína retenida de la membrana y

solubilizar la proteína colectada en una solución
5 salina de pH regulado que contenga clorhidrato de L-arginina que varía en concentración de 0.1 a 2.0 M.

31. El método de conformidad con la reivindicación 30, caracterizado porque la concentración de clorhidrato de L-arginina es de 0.5 M.

10 32. Un anticuerpo aislado caracterizado porque es específico para la proteína de conformidad con las reivindicaciones 1 ó 2.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Wyeth
Flannery, Carl
R Corcoran, Christopher J
Freeman, Bethany A
Racie, Lisa A

<120> MOLÉCULAS DE LUBRICINA RECOMBINANTES Y USOS DE LAS MISMAS

<130> 50657-01404WOPT

<160> 29

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1
<211> 155
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia de nucleótidos de casete-1 de ADNc sintético.

<400> 1	
cgcgcccaaca actccaaaag agcccgccacc taccacgaca aagtcagctc ctactacgcc	60
caaagagcca gcgcgcgacga ctactaaaga accggcacc accacgccta aggagccagc	120
tcctactaca acgaaaccgg caccaaccac tccgg	155

<210> 2
<211> 51
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Traducción de SEQ ID NO: 1.

<400> 2

Ala	Pro	Thr	Thr	Pro	Lys	Glu	Pro	Ala	Pro	Thr	Thr	Thr	Lys	Ser	Ala
1				5					10					15	
Pro	Thr	Thr	Pro	Lys	Glu	Pro	Ala	Pro	Thr	Thr	Thr	Lys	Glu	Pro	Ala
			20					25				30			
Pro	Thr	Thr	Pro	Lys	Glu	Pro	Ala	Pro	Thr	Thr	Thr	Lys	Pro	Ala	Pro
			35					40				45			
Thr	Thr	Pro													
		50													

<210> 3
<211> 125
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia de nucleótidos of casete-2 de ADNc sintético.

<400> 3
taaagaacca gcccctacta cgacaaagga gcctgcaccc acaaccacga agagcgcacc' 60
cacaacacca aaggagccgg cccctacgac tcctaaggaa cccaanccgg caccanccac 120
tccgg 125

<210> 4
<211> 41
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Traducción de SEQ ID NO: 3.

<400> 4

Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr
1 5 10 15

Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys
20 25 30

Glu Pro Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro
35 40

<210> 5
<211> 8049
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> vector pTmed2 que contiene construcción de ADNc PRG4-Lub:1 recombinante.

<400> 5
catatgcggt gtgaaatacc gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat caggcgtact 60
gagtcattag ggactttcca atgggttttg cccagtacat aaggtaata ggggtgaatc 120
aacaggaaag tccattgga gccaagtaca ctgagtcaat agggactttc cattgggttt 180
tgcccagtac aaaaggtaa taggggggtga gtcaatgggt ttttccatt attggcacgt 240
acataaggtc aataggggtg agtcattggg tttttccagc caatttaatt aaaacgccat 300
gtactttccc accattgacg tcaatgggct attgaaacta atgcaacgtg acctttaaac 360
ggtactttcc catagctgat taatgggaaa gtacogttct cgagccaata cagtcfaatg 420
ggaagtgaaa gggcagcaa aacgtaacac cgcccoggtt tttccctgga aattccatat 480
tggcacgcat tctattggct gagctgcgtt ctacgtgggt ataagaggcg cgaccagcgt 540

cggtacogtc	gcagtcttcg	gtctgaccac	cgtagaacgc	agagctcttc	gctgcagccc	600
aagctctgtt	gggctcgcgg	ttgaggacaa	actcttcgcg	gtctttccag	tactcttgga	660
toggaaaccc	gtcggcctcc	gaaoggtact	cgcgcaccga	gggacctgag	cgagtcgcga	720
togaccggat	cggaacacct	ctcgactgtt	gggggtgagta	ctccctctca	aaagcgggca	780
tgactttctg	gctaagattg	tcagtttcca	aaaacgagga	ggatttgata	ttcacctggc	840
cogcggtgat	gcctttgagg	gtggccgcgt	ccatctggtc	agaaaagaca	atctttttgt	900
tgtcaagctt	gaggtgtggc	aggcttgaga	tctggccata	cacttgagtg	acaatgacat	960
ccactttgcc	tttctctcca	caggtgtcca	ctcccaggtc	caactgcaga	cttogaattc	1020
tactgagtcg	accaccatg	gcatggaaaa	cacttcccat	ttacctgttg	ttgctgctgt	1080
ctgttttctg	gattcagcaa	gtttcatctc	aagatttata	aagctgtgca	gggagatgtg	1140
gggaagggtg	ttctagagat	gccacctgca	actgtgatta	taactgtcaa	cactacatgg	1200
agtgtctccc	tgatttcaag	agagtctgca	ctgcggagct	ttcctgtaaa	ggcogctgct	1260
ttgagtcctt	cgagagaggg	agggagtgtg	actgcgacgc	ccaatgtaag	aagtatgaca	1320
agtgtctgtc	cgattatgag	agttttctgt	cagaagtgca	taatcccaca	tcaccaccat	1380
cttcaaagaa	agcacctcca	ccttcaggag	catctcaaac	catcaaatca	acaaccaaac	1440
gttcacccaa	accaccaaac	aagaagaaga	ctaagaaagt	tatagaatca	gaggaaataa	1500
cagaagaaca	ttctgtttct	gaaaatcaag	agtcctcttc	cagtagcagt	tcaagtagtt	1560
cgtcgtogac	aattttgaaa	atcaagtctt	ccaaaaattc	agctgctaata	agagaattac	1620
agaagaact	caaagtaaaa	gataacaaga	agaacagAAC	taaaaagaaa	cctacccccca	1680
aaccaccagt	tgtagatgaa	gctggaagtg	gattggacaa	tggtagcttc	aaggtcacaa	1740
ctcctgacac	gtctaccacc	caacacaata	aagtcagcac	atctoccaaag	atcaccaacag	1800
caaaaccaat	aaatcccaga	cccagtcctc	cacctaattc	tgatacatct	aaagagacgt	1860
ctttgacagt	gaataaagag	acaacagttg	aaactaaaga	aactactaca	acaaataaac	1920
agacttcaac	tgatggaaaa	gagaagacta	cttcgcgtaa	agagacacaa	agtatagaga	1980
aaacatctgc	taaagattta	gcacccacat	ctaaagtgtc	ggctaaacct	acacccaaag	2040
ctgaaactac	aaccaaaggc	cctgctctca	ccactcccaa	ggagcccacg	cccaccactc	2100
ccaaggagcc	tgcattctacc	acacccaaag	agcccacacc	taccaccatc	aagagcgcgc	2160
ccacaactcc	aaaagagccc	gcacctacca	cgacaaagtc	agctcctact	acgcccacag	2220
agccagcgcc	gacgactact	aaagaaccgg	caccacccac	gcctaaggag	ccagctccta	2280
ctacaacgaa	acoggcacca	accactccgg	aaacacctcc	tccaaccact	tcagaggtct	2340

ctactccaac	taccaccaag	gagcctacca	ctatccacaa	aagccctgat	gaatcaactc	2400
ctgagctttc	tgcagaaccc	acacccaaaag	ctcttgaaaa	cagtcccaag	gaacctgggtg	2460
tacctacaac	taagacgccg	gcggcgacta	aacctgaaat	gactacaaca	gctaaagaca	2520
agacaacaga	aagagactta	cgtactacac	ctgaaactac	aactgctgca	cctaagatga	2580
caaaagagac	agcaactaca	acagaaaaaa	ctacogaatc	caaaataaca	gctacaacca	2640
cacaagtaac	atctaccaca	actcaagata	ccacaccatt	caaaattact	actcttaaaa	2700
caactactct	tgcacccaaa	gtaactacaa	caaaaaagac	aattactacc	actgagatta	2760
tgaacaaacc	tgaagaaaca	gctaaaccaa	aagacagagc	tactaattct	aaagcgacaa	2820
ctcctaaacc	tcáaaagcca	accaaagcac	ccaaaaaacc	cacttctacc	aaaaagccaa	2880
aaacaatgcc	tagagtgaga	aaaccaaaaga	cgacaccaac	tccccgcaag	atgacatcaa	2940
caatgccaga	attgaaccct	acctcaagaa	tagcagaagc	catgctccaa	accaccacca	3000
gacctaacca	aaotccaaac	tcctaaactag	ttgaagtaaa	tccaagaggt	gaagatgcag	3060
gtggtgctga	aggagaaaca	cctcatatgc	ttctcaggcc	ccatgtgttc	atgcctgaag	3120
ttactccoga	catggattac	ttaccgagag	tacccaatca	aggcattatc	atcaatccca	3180
tgctttccga	tgagaccaat	atatgcaatg	gtaagccagt	agatggactg	actactttgc	3240
gcaatgggac	attagttgca	ttcogaggtc	attattttctg	gatgctaagt	ccattcagtc	3300
caccatctcc	agctcgcaga	attactgaag	tttgggggtat	tccttcccccc	attgatactg	3360
tttttactag	gtgcaactgt	gaaggaaaaa	ctttcttctt	taaggattct	cagtactggc	3420
gttttaccaa	tgatataaaa	gatgcagggc	accccaaacc	aattttcaaa	ggatttggag	3480
gactaactgg	acaaatagtg	gcagcgcttt	caacagctaa	atataagaac	tggcctgaat	3540
ctgtgtattt	tttcaagaga	ggtggcagca	ttcagcagta	tatttatataa	caggaacctg	3600
tacagaagtg	ccotggaaga	aggcctgctc	taaattatcc	agtgtatgga	gaaatgacac	3660
aggtagggag	acgtcgcttt	gaacgtgcta	taggaccttc	tcaaacacac	accatcagaa	3720
ttcaatattc	acctgccaga	ctggcttatc	aagacaaagg	tgtccttcat	aatgaagtta	3780
aagtgagtat	actgtggaga	ggacttccaa	atgtgggttac	ctcagctata	tcactgocca	3840
acatcagaaa	acctgacggc	tatgattact	atgccttttc	taaagatcaa	tactataaca	3900
ttgatgtgcc	tagtagaaca	gcaagagcaa	ttactactcg	ttctgggcag	accttatcca	3960
aagtctggta	caactgtcct	taagcggccg	cgcgaatttc	taacgtta.ct	ggcogaagcc	4020
gcttgggaata	aggcgggtgt	gcgtttgtct	atatgtttatt	ttccaccata	ttgcgtcttt	4080

ttggcaatgt	gagggcccg	aaacctggcc	ctgtcttctt	gaogagcatt	cctaggggtc	4140
tttccctct	cgccaaagga	atgcaaggtc	tgttgatgt	cgtgaaggaa	gcagttcctc	4200
tggaaagcttc	ttgaagacaa	acaacgtctg	tagcgaccct	ttgcaggcag	cggaaccccc	4260
cacctggcga	caggtgcctc	tgcggccaaa	agccacgtgt	ataagataca	cctgcaaagg	4320
cggcacaacc	ccagtgcac	gttgtgagtt	ggatagttgt	ggaaagagtc	aaatggctct	4380
cctcaagcgt	attcaacaag	gggtgaagg	atgccagaa	ggtaccccat	tgtatgggat	4440
ctgatctggg	gcctcggtc	acatgcttta	catgtgttta	gtcgaggtta	aaaaacgtct	4500
agggccccc	aaccacggg	acgtggtttt	cctttgaaa	acacgattgc	tcgagccatc	4560
atggttcgac	cattgaactg	catogtcgc	gtgtcccaa	atatggggat	tggaagaac	4620
ggagacctac	cctggcctcc	gctcaggaac	gagttcaagt	acttccaaag	aatgaccaca	4680
acctcttcag	tggaaagtaa	acagaatctg	gtgattatgg	gtaggaâaac	ctggttctcc	4740
attcctgaga	agaatcgacc	tttaaaggac	agaattaata	tagttctcag	tagagaactc	4800
aaagaaccac	cacgaggagc	tcattttctt	gccaaaagt	tggatgatgc	cttaagactt	4860
attgaacaac	cggaaattggc	aagtaaagta	gacatggttt	ggatagtcgg	aggcagttct	4920
gtttaccagg	aagccatgaa	tcaaccaggc	cacctcagac	tctttgtgac	aaggatcatg	4980
caggaatttg	aaagtgcac	gtttttccca	gaaattgatt	tggggaata	taaacttctc	5040
ccagaatacc	caggcgtcct	ctctgaggtc	caggaggaaa	aaggcatcaa	gtataagttt	5100
gaagtctacg	agaagaaaga	ctaacaggaa	gatgctttca	agttctctgc	tccctccta	5160
aagctatgca	ttttttataa	gaccatggga	cttttgctgg	cttttagatca	taatcagcca	5220
taccacattt	gtagagggtt	tacttgcttt	aaaaaacctc	ccacacctcc	ccctgaacct	5280
gaaacataaa	atgaatgcaa	ttgttggtgt	taacttgttt	attgcagctt	ataatggtta	5340
caaataaagc	aatagcatca	caaatttcac	aaataaagca	tttttttcac	tgcatcttag	5400
ttgtggtttg	tccaaactca	tcaatgtatc	ttatcatgtc	tggatccccg	gccaacggtc	5460
tggtgaccog	gctgcgagag	ctcgggtgtac	ctgagacgcg	agtaagccct	tgagtcaaag	5520
acgtagtcgt	tgcaagtccg	caccaggtao	tgatcatcga	tgctagaccg	tgcaaaagga	5580
gagcctgtaa	gogggcactc	ttccgtggtc	tggtggataa	attogcaagg	gtatcatggc	5640
ggacgaccgg	ggttcgaacc	cgggatccgg	cgtccgcgcg	tgatccatcc	ggttaccgcc	5700
cgcgtgtcga	accaggtgt	gcgacgtcag	acaacggggg	agcgtctcct	ttggcttctc	5760
tccaggogcg	goggtgctg	cgctagcttt	tttgcgagc	togaattaat	tctgcattaa	5820
tgaatcggcc	aacgcgcggg	gagaggcgg	ttgcgtattg	ggcgtctctc	cgcttctctg	5880

ctcactgact	cgctgcgctc	ggtcggttcgg	ctgcggcgag	cggtatcagc	tcactcaaag	5940
gcggtaatac	ggttatccac	agaatcaggg	gataacgcag	gaaagaacat	gtgagcaaaa	6000
ggccagcaaa	aggccaggaa	ccgtaaaaag	gccgcggttc	tggcggttttt	ccataggctc	6060
cgccccctg	acgagcatca	caaaaatoga	cgctcaagtc	agaggtggcg	aaaccogaca	6120
ggactataaa	gataccaggc	gtttccccct	ggaagctccc	tcgtgcgctc	tcctgttccg	6180
acctgcgcg	ttaccggata	cctgtccgcc	tttctccctt	cgggaagcgt	ggcgctttct	6240
caatgctcac	gctgtaggta	tctcagttog	gtgtaggtog	ttcgctccaa	gctgggctgt	6300
gtgcacgaac	ccccggttca	gcccgacgcg	tgogccttat	ccggtaaacta	tcgtcttgag	6360
tccaaccocg	taagacacga	cttatogcca	ctggcagcag	ccactggtaa	caggattagc	6420
agagcgagg	atgtagggcg	tgctacagag	ttcttgaagt	ggtggcctaa	ctacggctac	6480
actagaagga	cagtatttgg	tatctgcgct	ctgctgaagc	cagttacctt	cggaaaaaga	6540
gttggtagct	cttgatccgg	caaacaacc	acogctggta	goggtgggtt	ttttgtttgc	6600
aagcagcaga	ttacgcgcag	aaaaaaagga	tctcaagaag	atcctttgat	cttttctacg	6660
gggtctgacg	ctcagtggaa	cgaaaactca	cgttaaggga	ttttgggtcat	gagattatca	6720
aaaaggatct	tcacctagat	ccttttaaat	taaaaatgaa	gttttaaatc	aatctaaagt	6780
atatatgagt	aaacttggtc	tgacagttac	caatgcttaa	tcagtgaggc	acctatctca	6840
gcgatctgtc	tatttcgttc	atccatagtt	gcctgactcc	cogtcgtgta	gataactacg	6900
atacgggagg	gcttaccatc	tggccccagt	gctgcaatga	taccgcgaga	cccacgctca	6960
ccggctccag	atttatcagc	aataaaccag	ccagccggaa	gggccgagcg	cagaagtgg	7020
cctgcaactt	tatcgcgcct	catccagtct	attaattgtt	gccgggaagc	tagagtaagt	7080
agtcgccag	ttaatagttt	gogcaaogtt	gttgccattg	ctacaggcat	cgtgggtgtca	7140
cgctcgctgt	ttggtatggc	ttcattcagc	tccggttccc	aacgatcaag	gcgagttaca	7200
tgatcccca	tgttgtgcaa	aaaagcgggt	agctccttcg	gtcctccgat	cgttgtcaga	7260
agtaagttgg	ccgcagtggt	atcactcatg	gttatggcag	cactgcataa	ttctcttact	7320
gtcatgccat	ccgtaagatg	cttttctgtg	actggtgagt	actcaaccaa	gtcattctga	7380
gaatagtgt	tgccggcgacc	gagttgctct	tgcccgcggt	caatacggga	taataccgcg	7440
ccacatagca	gaactttaaa	agtgtcatc	attggaaaac	gttcttcggg	gcgaaaactc	7500
tcaaggatct	tacgcgtgtt	gagatccagt	tcgatgtaac	ccactcgtgc	acccaactga	7560
tcttcagcat	cttttacttt	caccagcggt	tctgggtgag	caaaaacagg	aaggcaaat	7620

104

gcgcacaaaa	aggggaataag	ggcgacacgg	aatgttgaa	tactcatact	cttccttttt	7680
caatattatt	gaagcattta	tcagggttat	tgtctcatga	gcggatacat	atttgaatgt	7740
athtagaaaa	ataaacaat	aggggttcog	cgcacatttc	cccgaaggt	gccacctgac	7800
gtctaagaaa	ccattattat	catgacatta	acctataaaa	ataggcgtat	cacgaggccc	7860
tttcgtctcg	cgogtttcgg	tgatgacgg	gaaaacctct	gacacatgca	gctcccggag	7920
acggtcacag	cttgtctgta	agcggatgcc	gggagcagac	aagcccgta	gggcgcgtca	7980
gcgggtgttg	gcgggtgtcg	gggctggctt	aactatgcgg	catcagagca	gattgtactg	8040
agagtgcac						8049

<210> 6
<211> 2946
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Construcción de ADNc PRG4-Lub:1 recombinante.

<400> 6						
atggcatgga	aaacacttcc	catttacctg	ttgttgctgc	tgtctgtttt	cgtgattcag	60
caagtttcat	ctcaagattt	atcaagctgt	gcagggagat	gtggggaagg	gtattctaga	120
gatgccacct	gcaactgtga	ttataactgt	caacactaca	tggagtgtctg	ccctgatttc	180
aagagagtct	gcactgcgga	gctttcctgt	aaaggccgct	gctttgagtc	cttcgagaga	240
gggagggag	gtgactgcga	cgcccaatgt	aagaagtatg	acaagtgtctg	tcccgattat	300
gagagtttct	gtgcagaagt	gcataatccc	acatcaccac	catcttcaaa	gaaagcacct	360
ccaccttcag	gagcatctca	aaccatcaa	tcaacaacca	aacgttcacc	caaaccacca	420
aacaagaaga	agactaagaa	agttatagaa	tcagaggaaa	taacagaaga	acattctgtt	480
tctgaaaatc	aagagtcttc	ctccagtagc	agttcaagta	gttcgtctgc	gacaatttgg	540
aaaatcaagt	cttccaaaa	ttcagctgct	aatagagaat	tacagaagaa	actcaaagta	600
aaagataaca	agaagaacag	aactaaaaag	aaacctaccc	ccaaaccacc	agttgtagat	660
gaagctggaa	gtggattgga	caatgggtgac	ttcaagggtca	caactcctga	cacgtctacc	720
acccaacaca	ataaagtcag	cacatctccc	aagatcacia	cagcaaaacc	aataaatccc	780
agacccagtc	ttccacctaa	ttctgatata	tctaaagaga	ogtctttgac	agtgaataaa	840
gagacaacag	ttgaaactaa	agaaactact	acaacaata	aacagacttc	aactgatgga	900
aaagagaaga	ctacttccgc	taaagagaca	caaagtatag	agaaaacatc	tgctaaagat	960
ttagcaccca	catctaaagt	gctggctaaa	cctacaccca	aagctgaaac	tacaaccaa	1020

104

ggccctgctc	tcaccactcc	caaggagccc	acgcccacca	ctcccaagga	gcctgcatct	1080
accacaccca	aagagcccac	acctaccacc	atcaagagcg	cgcccacaac	tccaaaagag	1140
cccgcaccta	ccacgacaaa	gtcagctcct	actacgccc	aagagccagc	gccgacgact	1200
actaaagaac	cggcaccac	cacgcctaag	gagccagctc	ctactacaac	gaaaccggca	1260
ccaaccactc	cggaaacacc	tcctccaacc	acttcagagg	tctctactcc	aactaccacc	1320
aaggagccta	ccactatcca	caaaagccct	gatgaatcaa	ctcctgagct	ttctgcagaa	1380
cccacaccaa	aagctcttga	aaacagtccc	aaggaacctg	gtgtacctac	aactaagaag	1440
ccggcggcga	ctaaacctga	aatgactaca	acagctaaag	acaagacaac	agaaagagac	1500
ttacgtacta	cacctgaaac	tacaactgct	gcacctaa	tgacaaaaga	gacagcaact	1560
acaacagaaa	aaactaccga	atccaaaata	acagctacaa	ccacacaagt	aacatctacc	1620
acaactcaag	ataccacacc	attcáaaatt	actactctta	aaacaactac	tcttgcaccc	1680
aaagtaacta	caacaaaaaa	gacaattact	accactgaga	ttatgaacaa	acctgaagaa	1740
acagctaaac	caaaagacag	agctactaat	tctaaagcga	caactcctaa	acctcaaaag	1800
ccaaccaaa	cacccaaaaa	accactttct	accaaaaagc	caaaaacaat	gcctagagt	1860
agaaaaccaa	agacgacacc	aactccccgc	aagatgacat	caacaatgcc	agaattgaac	1920
cctacctcaa	gaatagcaga	agccatgctc	caaaccacca	ccagacctaa	ccaaactcca	1980
aactccaaac	tagttgaagt	aaatccaaag	agtgaagatg	caggtggtgc	tgaaggagaa	2040
acacotcata	tgcttctcag	gccccatgtg	ttcatgcctg	aagttaactcc	cgacatggat	2100
taottaccga	gagtacccaa	tcaaggcatt	atcatcaatc	ccatgctttc	cgatgagacc	2160
aatatatgca	atggtaagcc	agtagatgga	ctgactactt	tgcgcaatgg	gacattagtt	2220
gcattccgag	gtcattatct	ctggatgcta	agtccattca	gtccaccatc	tccagctcgc	2280
agaattactg	aagtttgggg	tattccttcc	cccattgata	ctgtttttac	taggtgcaac	2340
tgtgaaggaa	aaactttctt	ctttaaggat	tctcagtact	ggcgtttttac	caatgatata	2400
aaagatgcag	ggtaccccaa	accaattttc	aaaggatttg	gaggactaac	tggacaaata	2460
gtggcagcgc	tttcaacagc	taaataataag	aactggcctg	aatctgtgta	ttttttcaag	2520
agaggtggca	gcattcagca	gtatatattat	aaacaggaac	ctgtacagaa	gtgccctgga	2580
agaaggcctg	ctctaaatta	tccagtgtat	ggagaaatga	cacagggttag	gagacgtcgc	2640
tttgaacgtg	ctataggacc	ttctcaaaaca	cacaccatca	gaattcaata	ttcacctgcc	2700
agactggcct	atcaagacaa	aggtgtcctt	cataatgaag	ttaaagttag	tatactgtgg	2760

agaggacttc caaatgtggt tacctcagct atatcactgc ccaacatcag aaaacctgac 2820
ggctatgatt actatgcctt ttctaaagat caatactata acattgatgt gcctagtaga 2880
acagcaagag caattactac tcgttctggg cagaccttat ccaaagtctg gtacaactgt 2940
ccttaa 2946

<210> 7
<211> 981
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia de aminoácidos de proteína PRG4-LUB:1 completa.

<400> 7

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

210	215	220
Gly Leu Asp Asn Gly Asp Phe Lys Val Thr Thr Pro Asp Thr Ser Thr		
225	230	240
Thr Gln His Asn Lys Val Ser Thr Ser Pro Lys Ile Thr Thr Ala Lys		
	245	250
Pro Ile Asn Pro Arg Pro Ser Leu Pro Pro Asn Ser Asp Thr Ser Lys		
	260	270
Glu Thr Ser Leu Thr Val Asn Lys Glu Thr Thr Val Glu Thr Lys Glu		
	280	285
Thr Thr Thr Thr Asn Lys Gln Thr Ser Thr Asp Gly Lys Glu Lys Thr		
	295	300
Thr Ser Ala Lys Glu Thr Gln Ser Ile Glu Lys Thr Ser Ala Lys Asp		
305	310	315
Leu Ala Pro Thr Ser Lys Val Leu Ala Lys Pro Thr Pro Lys Ala Glu		
	325	330
Thr Thr Thr Lys Gly Pro Ala Leu Thr Thr Pro Lys Glu Pro Thr Pro		
	340	345
Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Ser Thr Thr Pro Lys Glu Pro Thr Pro		
	355	360
Thr Thr Ile Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr		
	370	375
Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr		
385	390	395
Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr		
	405	410
Thr Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro Glu Thr Pro Pro Pro Thr Thr Ser		
	420	425
Glu Val Ser Thr Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Thr Thr Ile His Lys		
	435	440
Ser Pro Asp Glu Ser Thr Pro Glu Leu Ser Ala Glu Pro Thr Pro Lys		
	450	455
Ala Leu Glu Asn Ser Pro Lys Glu Pro Gly Val Pro Thr Thr Lys Thr		
465	470	475
Pro Ala Ala Thr Lys Pro Glu Met Thr Thr Thr Ala Lys Asp Lys Thr		
	485	490
Thr Glu Arg Asp Leu Arg Thr Thr Pro Glu Thr Thr Thr Ala Ala Pro		
	500	505
Lys Met Thr Lys Glu Thr Ala Thr Thr Thr Glu Lys Thr Thr Glu Ser		
	515	520

Lys Ile Thr Ala Thr Thr Thr Gln Val Thr Ser Thr Thr Thr Gln Asp
 530 535 540
 Thr Thr Pro Phe Lys Ile Thr Thr Leu Lys Thr Thr Thr Leu Ala Pro
 545 550 555 560
 Lys Val Thr Thr Thr Lys Lys Thr Ile Thr Thr Thr Glu Ile Met Asn
 565 570 575
 Lys Pro Glu Glu Thr Ala Lys Pro Lys Asp Arg Ala Thr Asn Ser Lys
 580 585 590
 Ala Thr Thr Pro Lys Pro Gln Lys Pro Thr Lys Ala Pro Lys Lys Pro
 595 600 605
 Thr Ser Thr Lys Lys Pro Lys Thr Met Pro Arg Val Arg Lys Pro Lys
 610 615 620
 Thr Thr Pro Thr Pro Arg Lys Met Thr Ser Thr Met Pro Glu Leu Asn
 625 630 635 640
 Pro Thr Ser Arg Ile Ala Glu Ala Met Leu Gln Thr Thr Thr Arg Pro
 645 650 655
 Asn Gln Thr Pro Asn Ser Lys Leu Val Glu Val Asn Pro Lys Ser Glu
 660 665 670
 Asp Ala Gly Gly Ala Glu Gly Glu Thr Pro His Met Leu Leu Arg Pro
 675 680 685
 His Val Phe Met Pro Glu Val Thr Pro Asp Met Asp Tyr Leu Pro Arg
 690 695 700
 Val Pro Asn Gln Gly Ile Ile Ile Asn Pro Met Leu Ser Asp Glu Thr
 705 710 715 720
 Asn Ile Cys Asn Gly Lys Pro Val Asp Gly Leu Thr Thr Leu Arg Asn
 725 730 735
 Gly Thr Leu Val Ala Phe Arg Gly His Tyr Phe Trp Met Leu Ser Pro
 740 745 750
 Phe Ser Pro Pro Ser Pro Ala Arg Arg Ile Thr Glu Val Trp Gly Ile
 755 760 765
 Pro Ser Pro Ile Asp Thr Val Phe Thr Arg Cys Asn Cys Glu Gly Lys
 770 775 780
 Thr Phe Phe Phe Lys Asp Ser Gln Tyr Trp Arg Phe Thr Asn Asp Ile
 785 790 795 800
 Lys Asp Ala Gly Tyr Pro Lys Pro Ile Phe Lys Gly Phe Gly Gly Leu
 805 810 815
 Thr Gly Gln Ile Val Ala Ala Leu Ser Thr Ala Lys Tyr Lys Asn Trp
 820 825 830
 Pro Glu Ser Val Tyr Phe Phe Lys Arg Gly Gly Ser Ile Gln Gln Tyr
 835 840 845

TAA

Ile Tyr Lys Gln Glu Pro Val Gln Lys Cys Pro Gly Arg Arg Pro Ala
850 855 860

Leu Asn Tyr Pro Val Tyr Gly Glu Met Thr Gln Val Arg Arg Arg Arg
865 870 875 880

Phe Glu Arg Ala Ile Gly Pro Ser Gln Thr His Thr Ile Arg Ile Gln
885 890 895

Tyr Ser Pro Ala Arg Leu Ala Tyr Gln Asp Lys Gly Val Leu His Asn
900 905 910

Glu Val Lys Val Ser Ile Leu Trp Arg Gly Leu Pro Asn Val Val Thr
915 920 925

Ser Ala Ile Ser Leu Pro Asn Ile Arg Lys Pro Asp Gly Tyr Asp Tyr
930 935 940

Tyr Ala Phe Ser Lys Asp Gln Tyr Tyr Asn Ile Asp Val Pro Ser Arg
945 950 955 960

Thr Ala Arg Ala Ile Thr Thr Arg Ser Gly Gln Thr Leu Ser Lys Val
965 970 975

Trp Tyr Asn Cys Pro
980

<210> 8
<211> 157
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Inserto de ADN Lub:1 de casete-1 de ADNc sintético.

<400> 8
gcgcgccac aactccaaa gagccgcac ctaccacgac aaagtcagct cctactacgc 60
ccaaagagcc agcgccgacg actactaaag aaccggcacc caccacgcct aaggagccag 120
ctcctactac aacgaaaccg gcaccaacca ctccgga 157

<210> 9
<211> 51
<212> FRT
<213> Artificial

<220>
<223> 51 aminoácidos codificados por inserto de ADN Lub:1 (4 secuencias KEPAPTT entre S373 a E425 en SEQ ID NO: 7).

<400> 9

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala
1 5 10 15

Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala
20 25 30

Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Pro Ala Pro
35 40 45

Thr Thr Pro
50

<210> 10
<211> 3024
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Construcción de ADNc PRG4-Lub:2 Recombinante.

<400> 10

atggcatgga aaacacttcc catttaacctg ttgttgctgc tgtotgtttt cgtgattcag	60
caagtttcat ctcaagattt atcaagctgt gcagggagat gtggggaagg gtattctaga	120
gatgccacct gcaactgtga ttataactgt caacactaca tggagtgtcg cctgatttc	180
aagagagtct gcactgcgga gctttcctgt aaaggcogct gctttgagtc cttcgagaga	240
gggaggaggat gtgactgcga cycccaatgt aagaagtatg acaagtgtcg tcccgattat	300
gagagtttct gtgcagaagt gcataatccc acatcaccac catcttcaaa gaaagcacct	360
ccaccttcag gagcatctca aaccatcaaa tcaacaacca aacgttcacc caaaccacca	420
aacaagaaga agactaagaa agttatagaa tcagaggaaa taacagaaga acattctgtt	480
tctgaaaatc aagagtcctc ctccagtagc agttcaagta gttcgtcgtc gacaatttgg	540
aaaatcaagt cttccaaaaa ttcagctgct.aatagagaat tacagaagaa actcaaagta	600
aaagataaca agaagaacag aactaaaaag aaacctaccc ccaaaccacc agttgtagat	660
gaagctggaa gtggattgga caatggtgac ttcaaggtca caactcctga cacgtctacc	720
acccaacaca ataaagtcag cacatctccc aagatcacia cagcaaaacc aataaatccc	780
agaccagtc ttccacctaa ttctgataca tctaaagaga cgtctttgac agtgaataaa	840
gagacaacag ttgaaactaa agaaactact acaacaata aacagacttc aactgatgga	900
aaagagaaga ctacttcgc taaagagaca caaagtatag agaaaacatc tgctaaagat	960
ttagcaccca catctaaagt gctggctaaa cctacacca aagctgaaac tacaaccaa	1020
ggccctgctc tcaccactcc caaggagccc acqcccacca ctcccaagga gctgcatct	1080
accacacca aagagcccac acctaccacc atcaagagcg cgcacacaac tccaaaagag	1140
ccgcaccta ccacgacaaa gtcagctcct actacgcca aagagccagc gccgacgact	1200

111

actaaagaac	eggcacccac	cacgcctaaa	gaaccagccc	ctactacgac	aaaggagcct	1260
gcacccacaa	ccacgaagag	cgcacccaca	acaccaaggg	agcoggcccc	tacgactcct	1320
aaggaaacca	aacoggcacc	aaccactccg	gaaacacctc	ctccaaccac	ttcagaggtc	1380
tctactccaa	ctaccaccaa	ggagcctacc	actatccaca	aaagccctga	tgaatcaact	1440
cctgagcttt	ctgcagaacc	cacaccaaaa	gctcttgaaa	acagtoccaa	ggaacctggg	1500
gtacctacaa	ctaagacgcc	ggcggcgact	aaacctgaaa	tgactacaac	agctaaagac	1560
aagacaacag	aaagagactt	acgtactaca	cctgaaacta	caactgctgc	acctaagatg	1620
acaaaagaga	cagcaactac	aacagaaaaa	actacogaat	ccaaaataac	agctacaacc	1680
acacaagtaa	catctaccac	aactcaagat	accacaccat	tcaaaattac	tactcttaaa	1740
acaactactc	ttgcacccaa	agtaactaca	acaaaaaaga	caattactac	cactgagatt	1800
atgaacaaac	ctgaagaaac	agctaaacca	aaagacagag	ctattaattc	taaagcgaca	1860
actcctaaac	ctcaaaagcc	aaccaaagca	cccaaaaaac	ccactttctac	caaaaagcca	1920
aaaacaatgc	ctagagtggag	aaaaccaaaag	acgacaccaa	ctccccgcaa	gatgacatca	1980
acaatgccag	aattgaaccc	tacctcaaga	atagcagaag	ccatgctcca	aaccaccacc	2040
agacctaacc	aaactccaaa	ctccaaaacta	gttgaagtaa	atocaaagag	tgaagatgca	2100
ggggtgtgtg	aaggagaaac	acctcatatg	cttctcaggc	cccatgtgtt	catgcctgaa	2160
gttaotcccg	acatggatta	cttaccgaga	gtacccaatc	aaggcattat	catcaatccc	2220
atgctttccg	atgagaccaa	tatatgcaat	ggtaagccag	tagatggact	gactactttg	2280
cgcaatggga	cattagttgc	attccgaggt	cattatttct	ggatgctaag	tccattcagt	2340
ccaccatctc	cagctcgag	aattactgaa	gtttggggta	ttccttcccc	cattgatact	2400
cgttttacca	atgatataaa	agatgcaggg	taccccaaac	caattttcaa	aggatttggg	2460
ggactaactg	gacaaatagt	ggcagcgctt	tcaacagcta	aatataagaa	ctggcctgaa	2520
tctgtgtatt	ttttcaagag	aggtggcagc	attcagcagt	atatttataa	acaggaacct	2580
gtacagaagt	gccctggaag	aaggcctgct	ctaaattatc	cagtgtatgg	agaaatgaca	2640
cagggttagga	gaogtogctt	tgaacgtgct	ataggacctt	ctcaaacaaa	caccatcaga	2700
attcaatatt	cacctgccag	actggcttat	caagacaaag	gtgtccttca	taatgaagtt	2760
aaagtgagta	tactgtggag	aggacttcca	aatgtggtta	cctcagctat	atcactgccc	2820
aacatcagaa	aacctgacgg	ctatgattac	tatgcctttt	ctaaagatca	atactataac	2880
attgatgtgc	ctagtagaac	agcaagagca	attactactc	gttctgggca	gaccttatcc	2940
						3000

AA

aaagtctggt acaactgtcc ttaa 3024

<210> 11
<211> 1007
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia de aminoácidos de proteína PRG4-LUB:2 completa.

<400> 11

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

Thr Gln His Asn Lys Val Ser Thr Ser Pro Lys Ile Thr Thr Ala Lys
245 250 255

Pro Ile Asn Pro Arg Pro Ser Leu Pro Pro Asn Ser Asp Thr Ser Lys
260 265 270

Glu Thr Ser Leu Thr Val Asn Lys Glu Thr Thr Val Glu Thr Lys Glu
275 280 285

Thr Thr Thr Thr Asn Lys Gln Thr Ser Thr Asp Gly Lys Glu Lys Thr
290 295 300

Thr Ser Ala Lys Glu Thr Gln Ser Ile Glu Lys Thr Ser Ala Lys Asp
305 310 315 320

Leu Ala Pro Thr Ser Lys Val Leu Ala Lys Pro Thr Pro Lys Ala Glu
325 330 335

Thr Thr Thr Lys Gly Pro Ala Leu Thr Thr Pro Lys Glu Pro Thr Pro
340 345 350

Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Ser Thr Thr Pro Lys Glu Pro Thr Pro
355 360 365

Thr Thr Ile Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr
370 375 380

Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr
385 390 395 400

Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr
405 410 415

Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro
420 425 430

Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Lys Pro Ala Pro Thr
435 440 445

Thr Pro Glu Thr Pro Pro Pro Thr Thr Ser Glu Val Ser Thr Pro Thr
450 455 460

Thr Thr Lys Glu Pro Thr Thr Ile His Lys Ser Pro Asp Glu Ser Thr
465 470 475 480

Pro Glu Leu Ser Ala Glu Pro Thr Pro Lys Ala Leu Glu Asn Ser Pro
485 490 495

Lys Glu Pro Gly Val Pro Thr Thr Lys Thr Pro Ala Ala Thr Lys Pro
500 505 510

Glu Met Thr Thr Thr Ala Lys Asp Lys Thr Thr Glu Arg Asp Leu Arg
515 520 525

Thr Thr Pro Glu Thr Thr Thr Ala Ala Pro Lys Met Thr Lys Glu Thr
530 535 540

Ala Thr Thr Thr Glu Lys Thr Thr Glu Ser Lys Ile Thr Ala Thr Thr
545 550 555 560

Thr Gln Val Thr Ser Thr Thr Thr Gln Asp Thr Thr Pro Phe Lys Ile
565 570 575

Thr Thr Leu Lys Thr Thr Thr Leu Ala Pro Lys Val Thr Thr Thr Lys
580 585 590

Lys Thr Ile Thr Thr Thr Glu Ile Met Asn Lys Pro Glu Glu Thr Ala
595 600 605

Lys Pro Lys Asp Arg Ala Thr Asn Ser Lys Ala Thr Thr Pro Lys Pro
610 615 620

Gln Lys Pro Thr Lys Ala Pro Lys Lys Pro Thr Ser Thr Lys Lys Pro
625 630 635 640

Lys Thr Met Pro Arg Val Arg Lys Pro Lys Thr Thr Pro Thr Pro Arg
645 650 655

Lys Met Thr Ser Thr Met Pro Glu Leu Asn Pro Thr Ser Arg Ile Ala
660 665 670

Glu Ala Met Leu Gln Thr Thr Thr Arg Pro Asn Gln Thr Pro Asn Ser
675 680 685

Lys Leu Val Glu Val Asn Pro Lys Ser Glu Asp Ala Gly Gly Ala Glu
690 695 700

Gly Glu Thr Pro His Met Leu Leu Arg Pro His Val Phe Met Pro Glu
705 710 715 720

Val Thr Pro Asp Met Asp Tyr Leu Pro Arg Val Pro Asn Gln Gly Ile
725 730 735

Ile Ile Asn Pro Met Leu Ser Asp Glu Thr Asn Ile Cys Asn Gly Lys
740 745 750

Pro Val Asp Gly Leu Thr Thr Leu Arg Asn Gly Thr Leu Val Ala Phe
755 760 765

Arg Gly His Tyr Phe Trp Met Leu Ser Pro Phe Ser Pro Pro Ser Pro
770 775 780

Ala Arg Arg Ile Thr Glu Val Trp Gly Ile Pro Ser Pro Ile Asp Thr
785 790 795 800

Val Phe Thr Arg Cys Asn Cys Glu Gly Lys Thr Phe Phe Phe Lys Asp
805 810 815

Ser Gln Tyr Trp Arg Phe Thr Asn Asp Ile Lys Asp Ala Gly Tyr Pro
820 825 830

Lys Pro Ile Phe Lys Gly Phe Gly Gly Leu Thr Gly Gln Ile Val Ala
835 840 845

Ala Leu Ser Thr Ala Lys Tyr Lys Asn Trp Pro Glu Ser Val Tyr Phe
850 855 860

Phe Lys Arg Gly Gly Ser Ile Gln Gln Tyr Ile Tyr Lys Gln Glu Pro

115

865		870		875		880									
Val	Gln	Lys	Cys	Pro	Gly	Arg	Arg	Pro	Ala	Leu	Asn	Tyr	Pro	Val	Tyr
				885					890					895	
Gly	Glu	Met	Thr	Gln	Val	Arg	Arg	Arg	Arg	Phe	Glu	Arg	Ala	Ile	Gly
			900					905					910		
Pro	Ser	Gln	Thr	His	Thr	Ile	Arg	Ile	Gln	Tyr	Ser	Pro	Ala	Arg	Leu
		915					920					925			
Ala	Tyr	Gln	Asp	Lys	Gly	Val	Leu	His	Asn	Glu	Val	Lys	Val	Ser	Ile
	930					935					940				
Leu	Trp	Arg	Gly	Leu	Pro	Asn	Val	Val	Thr	Ser	Ala	Ile	Ser	Leu	Pro
945					950					955					960
Asn	Ile	Arg	Lys	Pro	Asp	Gly	Tyr	Asp	Tyr	Tyr	Ala	Phe	Ser	Lys	Asp
			965					970						975	
Gln	Tyr	Tyr	Asn	Ile	Asp	Val	Pro	Ser	Arg	Thr	Ala	Arg	Ala	Ile	Thr
		980						985						990	
Thr	Arg	Ser	Gly	Gln	Thr	Leu	Ser	Lys	Val	Trp	Tyr	Asn	Cys	Pro	
		995					1000					1005			

<210> 12
<211> 235
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Inserto de AND Lub:2 de casete-1 de ADMc sintético y una secuencia de casete-2 de ADMc sintético.

<400> 12

gcgcgcccac aactccaaaa gagccgcac ctaccacgac aaagtcagct cctactacgc	60
ccaaagagcc agcgccgacg actactaaag aacgggcacc caccacgcct aaagaaccag	120
cccctactac gacaaaggag cctgcaccca caaccacgaa gagcgacccc acaacaccaa	180
aggagccggc ccctacgact cctaaggaac ccaaaccggc accaaccact ccgga	235

<210> 13
<211> 77
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> 77 aminoácidos codificados por inserto de ADN Lub:2 (6 secuencias KEPAPTT entre 8373 y E451 en SEQ ID NO: 11).

<400> 13

Ala	Pro	Thr	Thr	Pro	Lys	Glu	Pro	Ala	Pro	Thr	Thr	Thr	Lys	Ser	Ala
1				5				10					15		

AAB

Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala
20 25 30

Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala
35 40 45

Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro
50 55 60

Thr Thr Pro Lys Glu Pro Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro
65 70 75

<210> 14
<211> 3117
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Construcción de ADNc PRG4-Lub:3 Recombinante.

<400> 14

atggcatgga aaacacttcc catttacctg ttgttgctgc tgtctgtttt cgtgattcag 60

caagtttcat ctcaagattt atcaagctgt gcagggagat gtggggaagg gtattctaga 120

gatgccacct gcaactgtga ttataactgt caacactaca tggagtgtcg ccctgatttc 180

aagagagtct gcactgcgga gttttcctgt aaaggccgct gctttgagtc ctccgagaga 240

gggagggagt gtgactgcga cgcccaatgt aagaagtatg acaagtgtcg tcccgattat 300

gagagtttct gtgcagaagt gcataatccc acatcaccac catcttcaaa gaaagcacct 360

ccaccttcag gagcatctca aaccatcaaa tcaacaacca aacgttcacc caaaccacca 420

aacaagaaga agactaagaa agttatagaa tcagaggaaa taacagaaga acattctgtt 480

tctgaaaatc aagagtcctc ctccagtagc agttaagta gttcgtcgtc gacaatttgg 540

aaaatcaagt cttccaaaaa ttcagctgct aatagagaat tacagaagaa actcaaagta 600

aaagataaca agaagaacag aactaaaaag aaacctaccc ccaaaccacc agttgtagat 660

gaagctggaa gtggattgga caatggtgac ttcaagggtca caactcctga cacgtctacc 720

acccaacaca ataaagtcag cacatctccc aagatcacia cagcaaaacc aataaantccc 780

agacccagtc ttccacctaa ttctgataca tctaaagaga cgtctttgac agtgaataaa 840

gagacaacag ttgaaactaa agaaactact acaacaataa aacagacttc aactgatgga 900

aaagagaaga ctacttccgc taaagagaca caaagtatag agaaaacatc tgctaaagat 960

ttagcaccca catctaaagt gctggctaaa cctacacca aagctgaaac tacaaccaaa 1020

ggccctgctc tcaccactcc caaggagccc acgcccacca ctccaagga gcctgcatct 1080

accacaccca	aagagccac	acctaccacc	atcaagagcg	cgcccacaac	tccaaaagag	1140
cccgcaccta	ccacgacaaa	gtcagctcct	actacgcca	aagagccagc	gcgacgact	1200
actaaagaac	cggcaccac	cacgcctaaa	gaaccagccc	ctactacgac	aaaggagcct	1260
gcacccacaa	ccacgaagag	cgcacccaca	acaccaaagg	agcgggccc	tacgactcct	1320
aaagaaccag	cccctactac	gacaaaggag	cctgcacca	caaccacgaa	gagcgcaccc	1380
acaacaccaa	aggagccggc	ccctaogact	cctaaggaac	ccaaaccggc	accaaccact	1440
ccggaaacac	ctcctccaac	cacttcagag	gtctctactc	caactaccac	caaggagcct	1500
accactatcc	acaaaagccc	tgatgaatca	actcctgagc	tttctgcaga	accacacca	1560
aaagctcttg	aaaacagtcc	caaggaaacct	gggtgtacct	caactaagac	gccggcgcg	1620
actaaacctg	aatgactac	aacagctaaa	gacaagacaa	cagaaagaga	cttacgtact	1680
acacctgaaa	ctacaactgc	tgacacctaag	atgacaaaag	agacagcaac	tacaacagaa	1740
aaaactaccg	aatccaaaat	aacagctaca	accacacaag	taacatctac	cacaactcaa	1800
gataccacac	cattcaaat	tactactott	aaaacaacta	ctcttgacc	caaagtaact	1860
acaacaaaaa	agacaattac	taccactgag	attatgaaca	aacctgaaga	aacagctaaa	1920
ccaaaagaca	gagctactaa	ttctaagcg	acaactccta	aacctcaaaa	gccaaaccaa	1980
gcacccaaaa	aaccacttc	tacaaaaaag	ccaaaaacaa	tgccatagagt	gagaaaacca	2040
aagacgacac	caactccccg	caagatgaca	tcaacaatgc	cagaattgaa	ccctacctca	2100
agaatagcag	aagccatgct	ccaaaccacc	accagacct	accaaactcc	aaactccaaa	2160
ctagttgaag	taaaccacaa	gagtgaagat	gcagggtggtg	ctgaaggaga	aacacctcat	2220
atgctttctca	ggcccatgt	gttcatgcct	gaagtacttc	cogacatgga	ttacttacgg	2280
agagtaccca	atcaaggcat	tatcatcaat	cccatgcttt	cogatgagac	caatatatgc	2340
aatggtaagc	cagtagatgg	actgactact	ttgcgcaatg	ggacattagt	tgcatccoga	2400
ggtcattatt	tctggatgct	aagtccattc	agtccaccat	ctccagctcg	cagaattact	2460
gaagtttggg	gtattccttc	ccccattgat	actgttttta	ctaggtgcaa	ctgtgaagga	2520
aaaactttct	tctttaagga	ttctcagtac	tggcgtttta	ccaatgatat	aaaagatgca	2580
gggtacccca	aaccaatttt	caaaggattt	ggaggactaa	ctggacaaat	agtggcagcg	2640
ctttcaacag	ctaaatataa	gaactggcct	gaatctgtgt	attttttcaa	gagaggtggc	2700
agcattcagc	agtatattta	taaacaggaa	cctgtacaga	agtgccttgg	aagaaggcct	2760
gctctaaatt	atccagtgt	tggagaaatg	acacaggtta	ggagacgtcg	ctttgaaogt	2820
gctataggac	cttctcaaac	acacaccatc	agaattcaat	attcacctgc	cagactggct	2880

tatcaagaca aaggtgtcct tcataatgaa gttaaagtga gtatactgtg gagaggactt 2940
ccaaatgtgg ttacotcagc tatatcactg cccaacatca gaaaacctga cggctatgat 3000
tactatgcct tttctaaaga tcaatactat aacattgatg tgcctagtag aacagcaaga 3060
gcaattacta ctcgttctgg gcagacctta tccaaagtct ggtacaactg tccttaa 3117

<210> 15
<211> 1038 <212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia de aminoácidos de proteína PRG4-LUB:3 completa.

<400> 15

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

Lys Lys Lys Pro Thr Pro Lys Pro Pro Val Val Asp Glu Ala Gly Ser
210 215 220

Gly Leu Asp Asn Gly Asp Phe Lys Val Thr Thr Pro Asp Thr Ser Thr
225 230 235 240

Thr Gln His Asn Lys Val Ser Thr Ser Pro Lys Ile Thr Thr Ala Lys
245 250 255

Pro Ile Asn Pro Arg Pro Ser Leu Pro Pro Asn Ser Asp Thr Ser Lys
260 265 270

Glu Thr Ser Leu Thr Val Asn Lys Glu Thr Thr Val Glu Thr Lys Glu
275 280 285

Thr Thr Thr Thr Asn Lys Gln Thr Ser Thr Asp Gly Lys Glu Lys Thr
290 295 300

Thr Ser Ala Lys Glu Thr Gln Ser Ile Glu Lys Thr Ser Ala Lys Asp
305 310 315 320

Leu Ala Pro Thr Ser Lys Val Leu Ala Lys Pro Thr Pro Lys Ala Glu
325 330 335

Thr Thr Thr Lys Gly Pro Ala Leu Thr Thr Pro Lys Glu Pro Thr Pro
340 345 350

Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Ser Thr Thr Pro Lys Glu Pro Thr Pro
355 360 365

Thr Thr Ile Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr
370 375 380

Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr
385 390 395 400

Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr
405 410 415

Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro
420 425 430

Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr
435 440 445

Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys
450 455 460

Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Lys Pro Ala Pro Thr Thr
465 470 475 480

Pro Glu Thr Pro Pro Pro Thr Thr Ser Glu Val Ser Thr Pro Thr Thr
485 490 495

Thr Lys Glu Pro Thr Thr Ile His Lys Ser Pro Asp Glu Ser Thr Pro
500 505 510

Glu Leu Ser Ala Glu Pro Thr Pro Lys Ala Leu Glu Asn Ser Pro Lys
515 520 525

Glu Pro Gly Val Pro Thr Thr Lys Thr Pro Ala Ala Thr Lys Pro Glu
 530 535 540
 Met Thr Thr Thr Ala Lys Asp Lys Thr Thr Glu Arg Asp Leu Arg Thr
 545 550 555 560
 Thr Pro Glu Thr Thr Thr Ala Ala Pro Lys Met Thr Lys Glu Thr Ala
 565 570 575
 Thr Thr Thr Glu Lys Thr Thr Glu Ser Lys Ile Thr Ala Thr Thr Thr
 580 585 590
 Gln Val Thr Ser Thr Thr Thr Gln Asp Thr Thr Pro Phe Lys Ile Thr
 595 600 605
 Thr Leu Lys Thr Thr Thr Leu Ala Pro Lys Val Thr Thr Thr Lys Lys
 610 615 620
 Thr Ile Thr Thr Thr Glu Ile Met Asn Lys Pro Glu Glu Thr Ala Lys
 625 630 635 640
 Pro Lys Asp Arg Ala Thr Asn Ser Lys Ala Thr Thr Pro Lys Pro Gln
 645 650 655
 Lys Pro Thr Lys Ala Pro Lys Lys Pro Thr Ser Thr Lys Lys Pro Lys
 660 665 670
 Thr Met Pro Arg Val Arg Lys Pro Lys Thr Thr Pro Thr Pro Arg Lys
 675 680 685
 Met Thr Ser Thr Met Pro Glu Leu Asn Pro Thr Ser Arg Ile Ala Glu
 690 695 700
 Ala Met Leu Gln Thr Thr Thr Arg Pro Asn Gln Thr Pro Asn Ser Lys
 705 710 715 720
 Leu Val Glu Val Asn Pro Lys Ser Glu Asp Ala Gly Gly Ala Glu Gly
 725 730 735
 Glu Thr Pro His Met Leu Leu Arg Pro His Val Phe Met Pro Glu Val
 740 745 750
 Thr Pro Asp Met Asp Tyr Leu Pro Arg Val Pro Asn Gln Gly Ile Ile
 755 760 765
 Ile Asn Pro Met Leu Ser Asp Glu Thr Asn Ile Cys Asn Gly Lys Pro
 770 775 780
 Val Asp Gly Leu Thr Thr Leu Arg Asn Gly Thr Leu Val Ala Phe Arg
 785 790 795 800
 Gly His Tyr Phe Trp Met Leu Ser Pro Phe Ser Pro Pro Ser Pro Ala
 805 810 815
 Arg Arg Ile Thr Glu Val Trp Gly Ile Pro Ser Pro Ile Asp Thr Val
 820 825 830
 Phe Thr Arg Cys Asn Cys Glu Gly Lys Thr Phe Phe Phe Lys Asp Ser

835	840	845
Gln Tyr Trp Arg Phe Thr Asn Asp Ile Lys Asp Ala Gly Tyr Pro Lys 850	855	860
Pro Ile Phe Lys Gly Phe Gly Gly Leu Thr Gly Gln Ile Val Ala Ala 865	870	875 880
Leu Ser Thr Ala Lys Tyr Lys Asn Trp Pro Glu Ser Val Tyr Phe Phe 885	890	895
Lys Arg Gly Gly Ser Ile Gln Gln Tyr Ile Tyr Lys Gln Glu Pro Val 900	905	910
Gln Lys Cys Pro Gly Arg Arg Pro Ala Leu Asn Tyr Pro Val Tyr Gly 915	920	925
Glu Met Thr Gln Val Arg Arg Arg Arg Phe Glu Arg Ala Ile Gly Pro 930	935	940
Ser Gln Thr His Thr Ile Arg Ile Gln Tyr Ser Pro Ala Arg Leu Ala 945	950	955 960
Tyr Gln Asp Lys Gly Val Leu His Asn Glu Val Lys Val Ser Ile Leu 965	970	975
Trp Arg Gly Leu Pro Asn Val Val Thr Ser Ala Ile Ser Leu Pro Asn 980	985	990
Ile Arg Lys Pro Asp Gly Tyr Asp Tyr Tyr Ala Phe Ser Lys Asp Gln 995	1000	1005
Tyr Tyr Asn Ile Asp Val Pro Ser Arg Thr Ala Arg Ala Ile Thr 1010	1015	1020
Thr Arg Ser Gly Gln Thr Leu Ser Lys Val Trp Tyr Asn Cys Pro 1025	1030	1035

<210> 16
 <211> 328
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Inserto de ADN Lub:3 de casete-1 de ADNc sintético y dos secuencias de casete-2 de ADNc sintético.

<400> 16

gcgcgcccac aactccaaaa gagcccgac ctaccacgac aaagtcagct cctactacgc	60
ccaaagagcc agcgccgacg actactaaag aaccggcacc caccacgcct aaagaaccag	120
cccctactac gacaaaggag cctgcaccca caaccacgaa gagcgacccc acaacaccaa	180
aggagccggc cctacgact cctaaagaac cagcccctac tacgacaaag gagcctgcac	240
ccacaaccac gaagagcgca cccacaacac caaggagcc ggcccctacg actcctaagg	300

122

aaccccaaac ggcaccaacc actccgga 328

<210> 17
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> 108 aminoácidos codificados por inserto de ADN Lub:3 (secuencias 9 KEPAPTT entre S373 y E482 en SEQ ID NO: 15)

<400> 17
Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala
1 5 10 15
Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala
20 25 30
Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala
35 40 45
Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro
50 55 60
Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala Pro
65 70 75 80
Thr Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr
85 90 95
Thr Pro Lys Glu Pro Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro
100 105

<210> 18
<211> 3210
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Construcción de ADNc PRG4-Lub:4 recombinante.

<400> 18
atggcatgga aaacacttcc catttacctg ttgttgctgc tgtctgtttt cgtgattcag 60
caagtttcat ctcaagattt atcaagctgt gcagggagat gtggggaagg gtattctaga 120
gatgccacct gcaactgtga ttataactgt caacactaca tggagtgtg ccctgatttc 180
aagagagtct gcaactgcga gctttcctgt aaaggccgct gctttgagtc cttcgagaga 240
gggagggagt gtgactgcga cgcccaatgt aagaagtatg acaagtgtg tcccgattat 300
gagagtttct gtgcagaagt gcataatccc acatcaccac catcttcaaa gaaagcacct 360
ccaccttcag gagcatctca aaccatcaaa tcaacaacca aacgttcacc caaaccacca 420

125

aacaagaaga	agactaagaa	agttatagaa	tcagaggaaa	taacagaaga	acattctgtt	480
tctgaaaatc	aagagtcctc	ctccagtagc	agttcaagta	gttcgtcgtc	gacaatttgg	540
aaatcaagt	cttccaaaaa	ttcagctgct	aatagagaat	tacagaagaa	actcaaagta	600
aaagataaca	agaagaacag	aactaaaaag	aaacctaccc	ccaaaccacc	agttgtagat	660
gaagctggaa	gtggattgga	caatggtgac	ttcaaggtca	caactcctga	cacgtctacc	720
acccaacaca	ataaagtcag	cacatctccc	aagatcacaa	cagcaaaacc	aataaatccc	780
agacccagtc	ttccacctaa	ttctgataca	tctaaagaga	cgtctttgac	agtgaataaa	840
gagacaacag	ttgaaactaa	agaaactact	acaacaaata	aacagacttc	aactgatgga	900
aaagagaaga	ctacttccgc	taaagagaca	caaagtatag	agaaaacatc	tgctaaagat	960
ttagcaccca	catctaaagt	gctggctaaa	cctacaccca	aagctgaaac	tacaacccaa	1020
ggccctgctc	tcaccactcc	caaggagccc	acgcccacca	ctcccaagga	gcctgcatct	1080
accacaccca	aagagcccac	acctaccacc	atcaagagcg	cgcccacaac	tccaaaagag	1140
cccgcaccta	ccacgacaaa	gtcagctcct	actacgccc	aagagccagc	gcgacgact	1200
actaaagaac	cggcacccac	cacgcctaaa	gaaccagccc	ctactacgac	aaaggagcct	1260
gcacccacaa	ccacgaagag	cgcacccaca	acaccaaagg	agcgggcccc	tacgactcct	1320
aaagaaccag	cccctactac	gacaaaggag	cctgcaccca	caaccacgaa	gagcgcaccc	1380
acaacaccaa	aggagccggc	ccctacgact	cctaaagaac	cagccoctac	tacgacaaag	1440
gagcctgcac	ccacaaccac	gaagagcgca	cccacaacac	caaaggagcc	ggcccctacg	1500
actcctaagg	aaccocaaacc	ggcaccaacc	actccggaaa	cacctcctcc	aaccacttca	1560
gaggtctcta	ctccaactac	caccaaggag	cctaccacta	tccacaaaag	ccctgatgaa	1620
tcaactcctg	agctttctgc	agaaccacaa	ccaaaagctc	ttgaaaacag	tcccaaggaa	1680
cctggtgtac	ctacaactaa	gacgcccggc	gogactaaac	ctgaaatgac	tacaacagct	1740
aaagacaaga	caacagaaag	agacttacgt	actacacctg	aaactacaa	tgctgcacct	1800
aagatgacaa	aagagacagc	aactacaaca	gaaaaaacta	cogaatccaa	aataacagct	1860
acaaccacac	aagtaacatc	taccacaact	caagatacca	caccattcaa	aattactact	1920
cttaaaaacaa	ctactcttgc	acccaagta	actacaacaa	aaaagacaat	tactaccact	1980
gagattatga	acaaacctga	agaaacagct	aaaccaaag	acagagctac	taattctaaa	2040
gogacaactc	ctaaacctca	aaagccaacc	aaagcaccca	aaaaaccac	ttctacccaa	2100
aagccaaaaa	caatgcctag	agtgagaaaa	ccaaagacga	caccaactcc	ccgcaagatg	2160
acatcaacaa	tgccagaatt	gaaccctacc	tcaagaatag	cagaagccat	gctccaaacc	2220

accaccagac ctaaccaaac tccaaactcc aaactagttg aagtaaatec aaagagtga 2280
gatgcagggtg gtgctgaagg agaaacacct catatgcttc tcaggcccca tgtgttcattg 2340
cctgaagtta ctcccgacat ggattactta cggagagtac ccaatcaagg cattatcatc 2400
aatcccatgc tttccgatga gaccaatata tgcaatggta agccagtaga tggactgact 2460
actttgcgca atgggacatt agttgcattc cgaggtcatt atttctggat gctaagtcca 2520
ttcagtcac catctccagc tcgcagaatt actgaagttt ggggtattcc ttccccatt 2580
gatactgttt ttactaggtg caactgtgaa ggaaaaactt tcttctttaa ggattctcag 2640
tactggcggtt ttaccaatga tataaaagat gcagggtacc ccaaaccaat tttcaaagga 2700
tttggaggac taactggaca aatagtggca gcgctttcaa cagctaaata taagaactgg 2760
cctgaatctg tgtatttttt caagagaggt ggcagcattc agcagtatat ttataaacag 2820
gaacctgtac agaagtgcc tggaagaagg cctgctctaa attatccagt gtatggagaa 2880
atgacacagg ttaggagacg tcgctttgaa cgtgctatag gaccttctca aacacacacc 2940
atcagaattc aatattcacc tgccagactg gcttatcaag acaaaggtgt ccttcataat 3000
gaagttaaag tgagtatact gtggagagga ctccaaatg tggttacctc agctatatca 3060
ctgcccaca tcagaaaacc tgacggctat gattactatg ccttttctaa agatcaatac 3120
tataacattg atgtgcctag tagaacagca agagcaatta ctactcgttc tgggcagacc 3180
ttatccaaag tctggtacaa ctgtccttaa 3210

<210> 19
<211> 1069
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia de aminoácidos de proteína PRG4-LUB:4 completa.

<400> 19

Met Ala Trp Lys Thr Leu Pro Ile Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Ser Val
1 5 10 15
Phe Val Ile Gln Gln Val Ser Ser Gln Asp Leu Ser Ser Cys Ala Gly
20 25 30
Arg Cys Gly Glu Gly Tyr Ser Arg Asp Ala Thr Cys Asn Cys Asp Tyr
35 40 45
Asn Cys Gln His Tyr Met Glu Cys Cys Pro Asp Phe Lys Arg Val Cys
50 55 60
Thr Ala Glu Leu Ser Cys Lys Gly Arg Cys Phe Glu Ser Phe Glu Arg

65					70						75					80
Gly	Arg	Glu	Cys	Asp	Cys	Asp	Ala	Gln	Cys	Lys	Lys	Tyr	Asp	Lys	Cys	
				85					90					95		
Cys	Pro	Asp	Tyr	Glu	Ser	Phe	Cys	Ala	Glu	Val	His	Asn	Pro	Thr	Ser	
			100					105					110			
Pro	Pro	Ser	Ser	Lys	Lys	Ala	Pro	Pro	Pro	Ser	Gly	Ala	Ser	Gln	Thr	
		115					120					125				
Ile	Lys	Ser	Thr	Thr	Lys	Arg	Ser	Pro	Lys	Pro	Pro	Asn	Lys	Lys	Lys	
	130					135						140				
Thr	Lys	Lys	Val	Ile	Glu	Ser	Glu	Glu	Ile	Thr	Glu	Glu	His	Ser	Val	
145					150					155					160	
Ser	Glu	Asn	Gln	Glu	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	
			165						170					175		
Ser	Thr	Ile	Trp	Lys	Ile	Lys	Ser	Ser	Lys	Asn	Ser	Ala	Ala	Asn	Arg	
			180					185					190			
Glu	Leu	Gln	Lys	Lys	Leu	Lys	Val	Lys	Asp	Asn	Lys	Lys	Asn	Arg	Thr	
		195					200					205				
Lys	Lys	Lys	Pro	Thr	Pro	Lys	Pro	Pro	Val	Val	Asp	Glu	Ala	Gly	Ser	
	210					215					220					
Gly	Leu	Asp	Asn	Gly	Asp	Phe	Lys	Val	Thr	Thr	Pro	Asp	Thr	Ser	Thr	
225					230					235					240	
Thr	Gln	His	Asn	Lys	Val	Ser	Thr	Ser	Pro	Lys	Ile	Thr	Thr	Ala	Lys	
			245						250					255		
Pro	Ile	Asn	Pro	Arg	Pro	Ser	Leu	Pro	Pro	Asn	Ser	Asp	Thr	Ser	Lys	
		260						265					270			
Glu	Thr	Ser	Leu	Thr	Val	Asn	Lys	Glu	Thr	Thr	Val	Glu	Thr	Lys	Glu	
		275					280					285				
Thr	Thr	Thr	Thr	Asn	Lys	Gln	Thr	Ser	Thr	Asp	Gly	Lys	Glu	Lys	Thr	
		290				295					300					
Thr	Ser	Ala	Lys	Glu	Thr	Gln	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ser	Ala	Lys	Asp	
305					310					315					320	
Leu	Ala	Pro	Thr	Ser	Lys	Val	Leu	Ala	Lys	Pro	Thr	Pro	Lys	Ala	Glu	
			325						330					335		
Thr	Thr	Thr	Lys	Gly	Pro	Ala	Leu	Thr	Thr	Pro	Lys	Glu	Pro	Thr	Pro	
			340					345					350			
Thr	Thr	Pro	Lys	Glu	Pro	Ala	Ser	Thr	Thr	Pro	Lys	Glu	Pro	Thr	Pro	
		355					360					365				
Thr	Thr	Ile	Lys	Ser	Ala	Pro	Thr	Thr	Pro	Lys	Glu	Pro	Ala	Pro	Thr	
		370				375					380					

Thr	Thr	Lys	Ser	Ala	Pro	Thr	Thr	Pro	Lys	Glu	Pro	Ala	Pro	Thr	Thr	385	390	395	400
Thr	Lys	Glu	Pro	Ala	Pro	Thr	Thr	Pro	Lys	Glu	Pro	Ala	Pro	Thr	Thr	405	410	415	
Thr	Lys	Glu	Pro	Ala	Pro	Thr	Thr	Thr	Lys	Ser	Ala	Pro	Thr	Thr	Pro	420	425	430	
Lys	Glu	Pro	Ala	Pro	Thr	Thr	Pro	Lys	Glu	Pro	Ala	Pro	Thr	Thr	Thr	435	440	445	
Lys	Glu	Pro	Ala	Pro	Thr	Thr	Thr	Lys	Ser	Ala	Pro	Thr	Thr	Pro	Lys	450	455	460	
Glu	Pro	Ala	Pro	Thr	Thr	Pro	Lys	Glu	Pro	Ala	Pro	Thr	Thr	Thr	Lys	465	470	475	480
Glu	Pro	Ala	Pro	Thr	Thr	Thr	Lys	Ser	Ala	Pro	Thr	Thr	Pro	Lys	Glu	485	490	495	
Pro	Ala	Pro	Thr	Thr	Pro	Lys	Glu	Pro	Lys	Pro	Ala	Pro	Thr	Thr	Pro	500	505	510	
Glu	Thr	Pro	Pro	Pro	Thr	Thr	Ser	Glu	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Thr	Thr	515	520	525	
Lys	Glu	Pro	Thr	Thr	Ile	His	Lys	Ser	Pro	Asp	Glu	Ser	Thr	Pro	Glu	530	535	540	
Leu	Ser	Ala	Glu	Pro	Thr	Pro	Lys	Ala	Leu	Glu	Asn	Ser	Pro	Lys	Glu	545	550	555	560
Pro	Gly	Val	Pro	Thr	Thr	Lys	Thr	Pro	Ala	Ala	Thr	Lys	Pro	Glu	Met	565	570	575	
Thr	Thr	Thr	Ala	Lys	Asp	Lys	Thr	Thr	Glu	Arg	Asp	Leu	Arg	Thr	Thr	580	585	590	
Pro	Glu	Thr	Thr	Thr	Ala	Ala	Pro	Lys	Met	Thr	Lys	Glu	Thr	Ala	Thr	595	600	605	
Thr	Thr	Glu	Lys	Thr	Thr	Glu	Ser	Lys	Ile	Thr	Ala	Thr	Thr	Thr	Gln	610	615	620	
Val	Thr	Ser	Thr	Thr	Thr	Gln	Asp	Thr	Thr	Pro	Phe	Lys	Ile	Thr	Thr	625	630	635	640
Leu	Lys	Thr	Thr	Thr	Leu	Ala	Pro	Lys	Val	Thr	Thr	Thr	Lys	Lys	Thr	645	650	655	
Ile	Thr	Thr	Thr	Glu	Ile	Met	Asn	Lys	Pro	Glu	Glu	Thr	Ala	Lys	Pro	660	665	670	
Lys	Asp	Arg	Ala	Thr	Asn	Ser	Lys	Ala	Thr	Thr	Pro	Lys	Pro	Gln	Lys	675	680	685	
Pro	Thr	Lys	Ala	Pro	Lys	Lys	Pro	Thr	Ser	Thr	Lys	Lys	Pro	Lys	Thr	690	695	700	

Met Pro Arg Val Arg Lys Pro Lys Thr Thr Pro Thr Pro Arg Lys Met
705 710 715 720

Thr Ser Thr Met Pro Glu Leu Asn Pro Thr Ser Arg Ile Ala Glu Ala
725 730 735

Met Leu Gln Thr Thr Thr Arg Pro Asn Gln Thr Pro Asn Ser Lys Leu
740 745 750

Val Glu Val Asn Pro Lys Ser Glu Asp Ala Gly Gly Ala Glu Gly Glu
755 760 765

Thr Pro His Met Leu Leu Arg Pro His Val Phe Met Pro Glu Val Thr
770 775 780

Pro Asp Met Asp Tyr Leu Pro Arg Val Pro Asn Gln Gly Ile Ile Ile
785 790 795 800

Asn Pro Met Leu Ser Asp Glu Thr Asn Ile Cys Asn Gly Lys Pro Val
805 810 815

Asp Gly Leu Thr Thr Leu Arg Asn Gly Thr Leu Val Ala Phe Arg Gly
820 825 830

His Tyr Phe Trp Met Leu Ser Pro Phe Ser Pro Pro Ser Pro Ala Arg
835 840 845

Arg Ile Thr Glu Val Trp Gly Ile Pro Ser Pro Ile Asp Thr Val Phe
850 855 860

Thr Arg Cys Asn Cys Glu Gly Lys Thr Phe Phe Phe Lys Asp Ser Gln
865 870 875 880

Tyr Trp Arg Phe Thr Asn Asp Ile Lys Asp Ala Gly Tyr Pro Lys Pro
885 890 895

Ile Phe Lys Gly Phe Gly Gly Leu Thr Gly Gln Ile Val Ala Ala Leu
900 905 910

Ser Thr Ala Lys Tyr Lys Asn Trp Pro Glu Ser Val Tyr Phe Phe Lys
915 920 925

Arg Gly Gly Ser Ile Gln Gln Tyr Ile Tyr Lys Gln Glu Pro Val Gln
930 935 940

Lys Cys Pro Gly Arg Arg Pro Ala Leu Asn Tyr Pro Val Tyr Gly Glu
945 950 955 960

Met Thr Gln Val Arg Arg Arg Arg Phe Glu Arg Ala Ile Gly Pro Ser
965 970 975

Gln Thr His Thr Ile Arg Ile Gln Tyr Ser Pro Ala Arg Leu Ala Tyr
980 985 990

Gln Asp Lys Gly Val Leu His Asn Glu Val Lys Val Ser Ile Leu Trp
995 1000 1005

Arg Gly Leu Pro Asn Val Val Thr Ser Ala Ile Ser Leu Pro Asn

Pro

<220>
<223> Inserto de ADN Lub:4 de casete-1 de ADNc y tres secuencias de casete-2 de ADNc sintético.

<220>
<223> 139 aminoácido codificados por inserto de ADN Lub:4 ADN (12 secuencias
KEPAPTT entre 8373 y 8513 en SEQ ID NO: 19)

Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala

~~AB1~~

Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala
35 40 45

Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro
50 55 60

Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala Pro
65 70 75 80

Thr Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr
85 90 95

Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr
100 105 110

Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr
115 120 125

Pro Lys Glu Pro Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro
130 135

<210> 22
<211> 3303
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Construcción de ADNc PRG4-Lub:5 Recombinante

<400> 22

atggcatgga aaacacttcc catttacotg ttgttgctgc tgtctgtttt cgtgattcag 60

caagtttcat ctcaagattt atcaagctgt gcagggagat gtggggaagg gtattctaga 120

gatgccacct gcaactgtga ttataactgt caacactaca tggagtgtcg ccctgatttc 180

aagagagttct gcaactgcga gctttcctgt aaaggccgct gctttgagtc cttcgagaga 240

gggagggagt gtgactgcga cgcccaatgt aagaagtatg acaagtgtcg tcccgattat 300

gagagtttct gtgcagaagt gcataatccc acatcaccac catcttcaaa gaaagtcctt 360

ccaccttcag gagcatctca aaccatcaaa tcaacaacca aacgttcacc caaaccacca 420

aacaagaaga agactaagaa agttatagaa tcagaggaaa taacagaaga acattctggt 480

tctgaaaatc aagagtcctc ctccagtagc agttcaagta gttcgtcgtc gacaatttgg 540

aaaatcaagt cttccaaaaa ttcagctgct aatagagaat tacagaagaa actcaaagta 600

aaagataaca agaagaacag aactaaaaag aaacctaccc ccaaaccacc agttgtagat 660

gaagctggaa gtggattgga caatggtgac ttcaaggta caactcctga cacgtctacc 720

acccaacaca ataaagtcag cacatctccc aagatcacia cagcaaaacc aataaatccc 780

agacccagtc ttccaccta ttctgatata tctaagaga cgtctttgac agtgaataaa 840

gagacaacag	ttgaaactaa	agaaactact	acaacaaata	aacagacttc	aactgatgga	900
aaagagaaga	ctacttccgc	taaagagaca	caaagtatag	agaaaacatc	tgctaaagat	960
ttagcaccoca	catctaaagt	gctggctaaa	cctgcaccoca	aagctgaaac	tacaacccaaa	1020
ggccctgctc	tcaccactcc	caaggagccc	acgcccacca	ctcccaagga	gcctgcatct	1080
accacaccoca	aagagcccac	acctaccacc	atcaagagcg	cgcccacaac	tccaaaagag	1140
cccgcaccta	ccacgacaaa	gtcagctcct	actaogccca	aagagccagc	gccgacgact	1200
actaaagaac	cggcacccac	caogcctaaa	gaaccagccc	ctactacgac	aaaggagcct	1260
gcacccacaa	ccacgaagag	cgcacccaca	acaccaaagg	agccggcccc	tacgactcct	1320
aaagaaccag	cccctactac	gacaaaggag	cctgcaccoca	caaccacgaa	gagcgacccc	1380
acaacaccaa	aggagccggc	ccctacgact	cctaaagaac	cagcccctac	tacgacaaag	1440
gagcctgcac	ccacaaccac	gaagagcgca	cccacaacac	caaaggagcc	ggcccctacg	1500
gcacccacaa	caccaaaagga	gccggccccc	acgactccta	aggaacccaa	accggcacca	1560
accactccgg	aaacacctcc	tccaaccact	tcagaggtct	ctactccaac	taccaccaag	1620
gagcctacca	ctatccacaa	aagccctgat	gaatcaactc	ctgagctttc	tgacagaaccc	1680
acacccaaaag	ctcttgaaaa	cagtcccaag	gaacctggtg	tacctacaac	taagacgccc	1740
gcgggcgacta	aacctgaaat	gactacaaca	gctaaagaca	agacaacaga	aagagactta	1800
cgtactacac	ctgaaactac	aactgotgca	cctaagatga	caaaagagac	agcaactaca	1860
acagaaaaaa	ctaccgaatc	caaaataaca	gctacaacca	cacaagtaac	atctaccaca	1920
actcaagata	ccacaccatt	caaaaattact	actcttaaaa	caactactct	tgaccccaaa	1980
gtaactacaa	caaaaaagac	aattactacc	actgagatta	tgaacaaacc	tgaagaaaca	2040
gctaaaccaa	aagacagagc	tactaattct	aaagcgacaa	ctcctaaacc	tcaaaaagcca	2100
accaaagcac	ccaaaaaacc	cacttctacc	aaaaagccaa	aaacaatgcc	tagagtgaga	2160
aaaccaaaga	cgacaccaac	tccccgcaag	atgacatcaa	caatgccaga	attgaaccct	2220
acctcaagaa	tagcagaagc	catgctocaa	accaccacca	gacctaacca	aactccaaac	2280
tccaaactag	ttgaagtaaa	tccaaagagt	gaagatgcag	gtgggtgctga	aggagaaaca	2340
cctcatatgc	ttctcaggtc	ccatgtgttc	atgcctgaag	ttactccoga	catggattac	2400
ttaccgagag	tacccaatca	aggcattatc	atcaatccca	tgctttccga	tgagaccaat	2460
atatgcaatg	gtaagccagt	agatggactg	actactttgc	gcaatgggac	attagttgca	2520
ttccgaggtc	attatttctg	gatgctaagt	ccattcagtc	caccatctcc	agctcgacga	2580
						2640

attactgaag tttggggtat tccttccccc attgatactg tttttactag gtgcaactgt 2700
gaaggaaaaa ctttcttctt taaggattct,cagtactggc gttttaccaa tgatataaaa 2760
gatgcaggggt accccaaacc aattttcaaa ggatttggag gactaactgg acaaatagtg 2820
gcagcgcttt caacagctaa atataagaac tggcctgaat ctgtgtattt tttcaagaga 2880
ggcggcagca ttcagcagta tatttataaa caggaacctg tacagaagtg ccctggaaga 2940
aggcctgctc taaattatcc agtgtatgga gaaatgacac aggttaggag acgtcgcttt 3000
gaacgtgcta taggaccttc tcaaacacac accatcagaa ttcaatattc acctgccaga 3060
ctggcttatac aagacaaagg tgccttcat aatgaagta aagtgagtat actgtggaga 3120
ggacttccaa atgtgggttac ctcagctata tcactgcccac acatcagaaa acctgaogggc 3180
tatgattact atgccttttc taaagatcaa tactataaca ttgatgtgcc tagtagaaca 3240
gcaagagcaa ttactactcg ttctgggcag accttatcca aagtctggta caactgtcct 3300
taa 3303

<210> 23
<211> 1100
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia de aminoácidos de proteína PRG4-LUB:5 completa.

<400> 23

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

Ile Lys Ser Thr Thr Lys Arg Ser. Pro Lys Pro Pro Asn Lys Lys Lys
 130 135 140
 Thr Lys Lys Val Ile Glu Ser Glu Glu Ile Thr Glu Glu His Ser Val
 145 150 155 160
 Ser Glu Asn Gln Glu Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser
 165 170 175
 Ser Thr Ile Trp Lys Ile Lys Ser Ser Lys Asn Ser Ala Ala Asn Arg
 180 185 190
 Glu Leu Gln Lys Lys Leu Lys Val Lys Asp Asn Lys Lys Asn Arg Thr
 195 200 205
 Lys Lys Lys Pro Thr Pro Lys Pro Pro Val Val Asp Glu Ala Gly Ser
 210 215 220
 Gly Leu Asp Asn Gly Asp Phe Lys Val Thr Thr Pro Asp Thr Ser Thr
 225 230 235 240
 Thr Gln His Asn Lys Val Ser Thr Ser Pro Lys Ile Thr Thr Ala Lys
 245 250 255
 Pro Ile Asn Pro Arg Pro Ser Leu Pro Pro Asn Ser Asp Thr Ser Lys
 260 265 270
 Glu Thr Ser Leu Thr Val Asn Lys Glu Thr Thr Val Glu Thr Lys Glu
 275 280 285
 Thr Thr Thr Thr Asn Lys Gln Thr Ser Thr Asp Gly Lys Glu Lys Thr
 290 295 300
 Thr Ser Ala Lys Glu Thr Gln Ser Ile Glu Lys Thr Ser Ala Lys Asp
 305 310 315 320
 Leu Ala Pro Thr Ser Lys Val Leu Ala Lys Pro Thr Pro Lys Ala Glu
 325 330 335
 Thr Thr Thr Lys Gly Pro Ala Leu Thr Thr Pro Lys Glu Pro Thr Pro
 340 345 350
 Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Ser Thr Thr Pro Lys Glu Pro Thr Pro
 355 360 365
 Thr Thr Ile Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr
 370 375 380
 Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr
 385 390 395 400
 Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr
 405 410 415
 Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro
 420 425 430
 Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr

435	440	445
Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys 450	455	460
Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys 465	470	475
Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu 485	490	495
Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu 500	505	510
Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr-Thr Pro Lys Glu Pro 515	520	525
Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro Glu 530	535	540
Thr Pro Pro Pro Thr Thr Ser Glu Val Ser Thr Pro Thr Thr Thr Lys 545	550	555
Glu Pro Thr Thr Ile His Lys Ser Pro Asp Glu Ser Thr Pro Glu Leu 565	570	575
Ser Ala Glu Pro Thr Pro Lys Ala Leu Glu Asn Ser Pro Lys Glu Pro 580	585	590
Gly Val Pro Thr Thr Lys Thr Pro Ala Ala Thr Lys Pro Glu Met Thr 595	600	605
Thr Thr Ala Lys Asp Lys Thr Thr Glu Arg Asp Leu Arg Thr Thr Pro 610	615	620
Glu Thr Thr Thr Ala Ala Pro Lys Met Thr Lys Glu Thr Ala Thr Thr 625	630	635
Thr Glu Lys Thr Thr Glu Ser Lys Ile Thr Ala Thr Thr Thr Gln Val 645	650	655
Thr Ser Thr Thr Thr Gln Asp Thr Thr Pro Phe Lys Ile Thr Thr Leu 660	665	670
Lys Thr Thr Thr Leu Ala Pro Lys Val Thr Thr Thr Lys Lys Thr Ile 675	680	685
Thr Thr Thr Glu Ile Met Asn Lys Pro Glu Glu Thr Ala Lys Pro Lys 690	695	700
Asp Arg Ala Thr Asn Ser Lys Ala Thr Thr Pro Lys Pro Gln Lys Pro 705	710	715
Thr Lys Ala Pro Lys Lys Pro Thr Ser Thr Lys Lys Pro Lys Thr Met 725	730	735
Pro Arg Val Arg Lys Pro Lys Thr Thr Pro Thr Pro Arg Lys Met Thr 740	745	750

Ser Thr Met Pro Glu Leu Asn Pro Thr Ser Arg Ile Ala Glu Ala Met
 755 760 765
 Leu Gln Thr Thr Thr Arg Pro Asn Gln Thr Pro Asn Ser Lys Leu Val
 770 775 780
 Glu Val Asn Pro Lys Ser Glu Asp Ala Gly Gly Ala Glu Gly Glu Thr
 785 790 795 800
 Pro His Met Leu Leu Arg Pro His Val Phe Met Pro Glu Val Thr Pro
 805 810 815
 Asp Met Asp Tyr Leu Pro Arg Val Pro Asn Gln Gly Ile Ile Ile Asn
 820 825 830
 Pro Met Leu Ser Asp Glu Thr Asn Ile Cys Asn Gly Lys Pro Val Asp
 835 840 845
 Gly Leu Thr Thr Leu Arg Asn Gly Thr Leu Val Ala Phe Arg Gly His
 850 855 860
 Tyr Phe Trp Met Leu Ser Pro Phe Ser Pro Pro Ser Pro Ala Arg Arg
 865 870 875 880
 Ile Thr Glu Val Trp Gly Ile Pro Ser Pro Ile Asp Thr Val Phe Thr
 885 890 895
 Arg Cys Asn Cys Glu Gly Lys Thr Phe Phe Phe Lys Asp Ser Gln Tyr
 900 905 910
 Trp Arg Phe Thr Asn Asp Ile Lys Asp Ala Gly Tyr Pro Lys Pro Ile
 915 920 925
 Phe Lys Gly Phe Gly Gly Leu Thr Gly Gln Ile Val Ala Ala Leu Ser
 930 935 940
 Thr Ala Lys Tyr Lys Asn Trp Pro Glu Ser Val Tyr Phe Phe Lys Arg
 945 950 955 960
 Gly Gly Ser Ile Gln Gln Tyr Ile Tyr Lys Gln Glu Pro Val Gln Lys |
 965 970 975
 Cys Pro Gly Arg Arg Pro Ala Leu Asn Tyr Pro Val Tyr Gly Glu Met
 980 985 990
 Thr Gln Val Arg Arg Arg Arg Phe Glu Arg Ala Ile Gly Pro Ser Gln
 995 1000 1005
 Thr His Thr Ile Arg Ile Gln Tyr Ser Pro Ala Arg Leu Ala Tyr
 1010 1015 1020
 Gln Asp Lys Gly Val Leu His Asn Glu Val Lys Val Ser Ile Leu
 1025 1030 1035
 Trp Arg Gly Leu Pro Asn Val Val Thr Ser Ala Ile Ser Leu Pro
 1040 1045 1050
 Asn Ile Arg Lys Pro Asp Gly Tyr Asp Tyr Tyr Ala Phe Ser Lys
 1055 1060 1065

Asp Gln Tyr Tyr Asn Ile Asp Val Pro Ser Arg Thr Ala Arg Ala
1070 1075 1080

Ile Thr Thr Arg Ser Gly Gln Thr Leu Ser Lys Val Trp Tyr Asn
1085 1090 1095

Cys Pro
1100

<210> 24
<211> 514
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Inserto de ADN Lub:5 de casete-1 de ADNc y cuatro secuencias de casete-2 de ADNc sintético

<400> 24
gcgcgcccac aactccaaaa gagcccgcac ctaccacgac aaagtcagct cctactacgc 60
ccaaagagcc agcgccgacg actactaaag aaccggcacc caccacgcct aaagaaccag 120
cccctactac gacaaaggag cctgcaccca caaccacgaa gagcgacccc acaacaccaa 180
aggagccggc ccctacgact cctaaagaac cagcccctac tacgacaaag gagcctgcac 240
ccacaaccac gaagagcgca cccacaacac caaaggagcc ggcccctacg actcctaaag 300
aaccagcccc tactacgaca aaggagcctg caccacacaac cacgaagagc gcaccacaa 360
caccaaagga gccggcccct acgactccta aagaaccagc ccctactacg acaaaggagc 420
ctgcacccac aaccacgaag agcgcaccca caacaccana ggagccggcc cctacgactc 480
ctaaggaacc caaaccggca ccaaccactc ogga 514

<210> 25
<211> 170
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> 170 aminoácido codificados por inserto de AND Lub:5 (15 secuencias KEPAPTT entre S373 y E544 en SEQ ID NO: 23)

<400> 25

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala
1 5 10 15

Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala
20 25 30

Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala
35 40 45

Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro
50 55 60
Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala Pro
65 70 75 80
Thr Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr
85 90 95
.Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr
100 105 110
Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr
115 120 125
Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr
130 135 140
Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro
145 150 155 160
Lys Glu Pro Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro
165 170

<210> 26
<211> 45
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> secuencia de aminoácidos "APTPKEPAPTTTKSAPTPKEPAPTTT KEPAPTPKEPAPTTTK"
(45 aminoácidos) en proteína PRG4-LUB:N preferida

<400> 26

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala
1 5 10 15
Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala
20 25 30
Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys
35 40 45

<210> 27
<211> 31
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> secuencia de aminoácidos "KEPAPTTTKEPAPTTTKSAPTPKEPAPTTT" (31 aminoácidos)
repetidos N-1 veces en proteína PRG4-LUB:N preferida.

<400> 27

Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr
1 5 10 15

Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro
20 25 30

<210> 28
<211> 22
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> secuencia de aminoácidos "EPAPTTTKSAPITTPKEPAPITTP" (22 aminoácidos) que se une a SEQ ID NO: 26 a (N-2) repeticiones de SEQ ID NO: 27 en proteína PRG4-LUB:N preferida en donde N = 3 o más.

<400> 28

Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu
1 5 10 15

Pro Ala Pro Thr Thr Pro
20

<210> 29
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> secuencia de aminoácidos "KEPKAPITTP" (10 aminoácidos) en proteína PRG4-LUB:N preferida en donde N = 2 o más.

<400> 29

Lys Glu Pro Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro
1 5 10



**REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT**

PATENTE DE INVENCION [x]

MODELO DE UTILIDAD []

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente [x] 1
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [x] 1
- ◆ Descripción de la invención [x] 35
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas [x] 2

COMPLETA [x]

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []


Firma Responsable

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación : 06013004 00000000 **Folios:** 140
Fecha: Fecha (ARC): 2006-02-09 16:20:28
Tramite : 011 PCT-PATENT 378 FREE NACI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@alc.gov.co
www.alc.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

141

139

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCI

Bogotá,
2020

Doctor(a)
LLOREDA RICAURTE ALICIA
Apoderado(a) y/o Representante de
WYETH

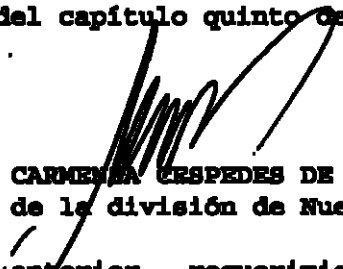
REFERENCIA	Radicación No.	6 13004
	Solicitud internacional	US2004/026508
	Fecha inicio fase nacional	14/03/2006
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	3999
	Oficio No.	-

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.


ALIX CARMEN ESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 07 ABR. 2006
jramos

742