



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

06-123232

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO

EPITOPOS INDUCTORES DE MUERTE DE CELULAS-T

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

A61C 38/10

71. SOLICITANTE

ABGENOMICS CORPORATION

DOMICILIO

TAIPEI 114, TAIWAN

74. APODERADO

EMILIO FERRERO WILLIAMSON

C.C. 438.019 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D. C.,



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-123232-00000-0000
Fec: 2006-12-05 17:23:24 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tr. 11 PATENTE (V)
Ext. 378 FASE NACIONAL
Act 411 PRESENTACION
Folios: 54

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

- 1

☒ Patente de Invención.
☒ Capítulo I.
- ☐ Patente de Modelo de Utilidad.
☐ Capítulo II.

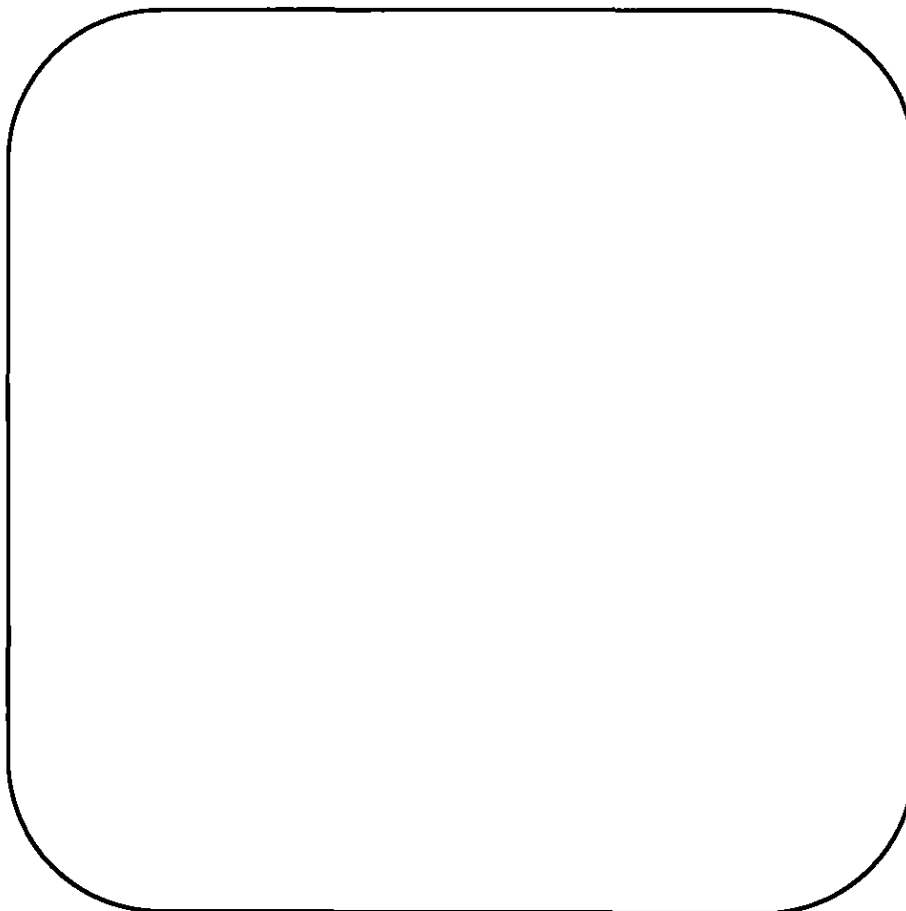
2 SOLICITANTE (71)	Nombre: ABGENOMICS CORPORATION sociedad constituida y existente bajo las leyes de Taiwán. Dirección: 2F, NO. 32, Ln. 358 Julkuang Rd., Nelhu Taipel 114 Taiwan Domicilio: Taipel 114 Taiwan	IDENTIFICACIÓN C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número _____	
3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: EMILIO FERRERO Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35 Teléfono: 347 36 11 Fax: 211 86 50 E-mail: <u>clientes@camvp.com.</u> Domicilio: Bogotá, Colombia.	IDENTIFICACIÓN C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número <u>438.019</u> T.P <u>31.929</u>	
4 INVENTOR (ES) (72)	1. Ronghwa LIN 7F, No. 12, Lane 54, Sec. 3, Sinsheng S. Rd., Da-an Districk Taipel 108 Taiwan 2. Chunqnan CHANG 802 Saint Croix Lane Foster City California 94404 Estados Unidos de América		
5 PCT (86)	Solicitud Internacional No. <u>PCT/US2005/016441</u> / Publicación Internacional No. <u>WO 2005/110456 A2</u> / Fecha: <u>11 de mayo de 2005</u> / Fecha: <u>24 de noviembre de 2005</u> /		
6 Título (54)	<u>EPITOPOS INDUCTORES DE MUERTE DE CELULAS-T</u>		
7 Clasificación Internacional (51)	<u>A61K 38/10; c07k3/06 // 7/06</u>		
8 Prioridad	(33) País de Origen <u>US</u>	(32) Fecha <u>11 de mayo de 2004</u> /	(31) Número de Solicitud <u>60/570.161</u> /
9 Comprobante de pago No.:	<u>06-90.821</u> Fecha: <u>27 de noviembre de 2006</u>		

10

Anexos:

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 463.000.00.
- ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso.
- ☐ 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, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar 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.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ 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, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

11

FIGURA CARACTERÍSTICA

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE:

EMILIO FERRERO

FIRMA :


C.C. 438.019 de Usaquén T.P. 31.929

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2005/110456 A2
2. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN
FASE INTERNACIONAL**

CAVELIER
ABOGADOS
EDIFICIO SISKI
CARRERA 4a N° 72-35
BOGOTÁ, S - COLOMBIA

192

Representación, Ratificación y Poder con autenticación notarial y Apostille para patentes, modelos de utilidad, diseño industrial, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, marcas comerciales, licencias.

Representation, Ratification and Power-of-Authority with notarial authentication and Apostille for patents, utility model, industrial design, trademarks, commercial names, trade symbols, domain names, slogans, licenses.

REPRESENTACION, RATIFICACION Y PODER

REPRESENTATION, RATIFICATION AND POWER-
OF-ATTORNEY

Yo (nosotros), abajo firmado (s) (we), the undersigned

ARGENOMICI CORPORATION

domiciliado (s) en/of 2F. No.32 Ln 358 Julianna Rd. Nsibu

Taipei, Taiwan 114, R.O.C.

por el presente ratificamos la Solicitud presentada en el expediente
No. 06.035.911

presentada por Emilio Ferrero
como agente oficioso ante La División de Nuevas Creaciones
en Bogotá, Colombia
el 12 de abril de 2006

por el presente nominamos a EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y DANIEL PEÑA, tpa. 65620, domiciliados en la Carrera 4° N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1o del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestras) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando

hereby ratify the Application filed without a Power of Attorney by Emilio Ferrero before The Patent Office in Bogotá, Colombia on April 12, 2006 and do hereby appoint EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y DANIEL PEÑA, tpa. 65620, domiciled at Carrera 4° N° 72-35, Bogotá, Colombia, in due compliance with the terms of Paragraph 1st. of Art. 543 of the Commercial Code, the first as principal and the others alternates, in the order of their appointment, as our representatives for industrial property matters with faculty to receive notifications and appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment

ocurre la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrá ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, reuniéndola por el solo hecho de ejercerla, cuando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitraje, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, emblemas, nombres de dominio, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa o judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recluir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiales.

of the principal representative, or of the first or second alternate in the turn cases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above-named attorneys-at-law so that they may obtain the protection of my (or) industrial property and against the unfair competition, for which purpose (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before authorities or persons, with or without jurisdiction, specially the administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtaining of patents, utility models and industrial designs; the registration trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, domain names, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for a mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal and administrative suits relating to these rights; actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, resolve, resign, and ratify acts done representatives without a power of attorney.

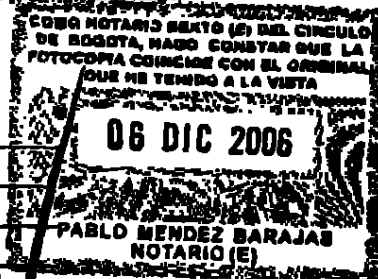
Dado y firmado hoy/Given and signed this

14 July 2006

en/in Taipei Taiwan

por/by Shih-Yau Lin

Firma



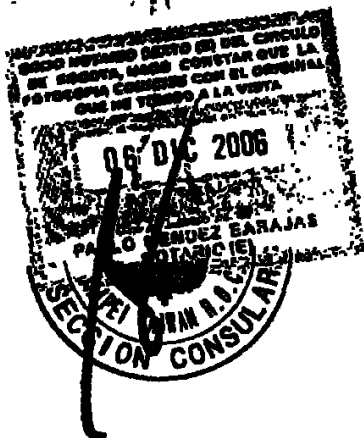
Signature

© CAVELIER ABOGADOS
WFO0601-192 (MINUTA 121.1.2.10.7)

案號	: 5396	日期	: JUL 19 2006
本文件之簽名或蓋章，於台灣台北地方法院所屬民間公證人趙原孫事務所公證。			
Attested at the Chao, Yuan-Sun Notary Public Office of Taiwan Taipei District Court, R.O.C., that the signature(s)/seal(s) in this document is/are authentic.			
Notary Public			
Chao, Yuan-Sun			
901, NO. 346, NAN-KING E. RD., SEC. 3, TAIPEI, TAIWAN			

517960
Kremender
Cota firma aparece en el
documento desentra
las funciones indicadas

7 NOV - 7 P 1:50
JEF DE LEGALIZACIONES
80631A.D.C.



EL SUSCRITO CONSUJ GENERAL DE COLOMBIA
CERTIFICA
Que el Sr. (a) ERNESTO LOZANO LOPEZ
se encuentra en el Consulado de la
República de Colombia en Panamá, R.
de las Relaciones Exteriores.
Firma: 27 de OCT de 2006
(Documento No. 118 Visto Pagado \$ 24=)
Cesar E. Hernandez Riano
(Firma y Sello Consular)
CESAR E. HERNANDEZ RIANO
Cónsul General de Colombia
Panamá, Rep. de Panamá



REPUBLICA DE PANAMA
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

SSSSS

Departamento Consular y
Legalizaciones

**CERTIFICADO DE
AUTENTICACION**

Recibo Oficial No. 353416

Arancel No. 60

Derechos B/. 10.00

No. **306873**

AMP-05



El Suscrito MAYTE YEN
NOMBRE DEL FUNCIONARIO CONSULAR
FIRMA AUTORIZADA, EMBAJADA DE PANAMA EN
TAIPEI, TAIWAN R.O.C.
TITULO Y LUGAR DE ACREDITACION



El infrascrito funcionario de
Legalizaciones del Ministerio de
Relaciones Exteriores debidamente autorizado
para este acto

CERTIFICA:

Que la firma que antecede y que dice:

MAYTE YEN

es auténtica del funcionario que el día 4

de OCTUBRE año 2006

ejercía el cargo de FIRMA AUTORIZADA DE LA EMBAJADA
DE PANAMA EN TAIPEI, TAIWAN R.O.C.

Panamá 26 de OCTUBRE año 2006

Autenticación Nº 161C-PC

110574C

Firma del funcionario [Firma]

Liq. Ernesto Loraño Lopez
JEFE DE AUTENTICACION Y LEGALIZACION
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

Este Ministerio no asume responsabilidad en cuanto al contenido
del documento.

CERTIFICA:

que la firma que aparece en el documento adjunto que
dice: CHAO YUAN-SUN

es auténtica y corresponde a la que acostumbra usar en los
documentos que autoriza en calidad de NOTARY PUBLIC

OFFICE OF TAIWAN TAIPEI DISTRICT COURT, R.O.C.

Dado en la Ciudad de TAIPEI el día 04

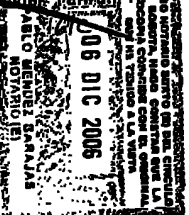
del mes de OCTUBRE del año 2006

[Firma]
MAYTE YEN

Firma Autorizada

FIRMA DEL FUNCIONARIO CONSULAR

INTERESADO



7

CERTIFICATION OF AUTHORITY

1. I, SHIH-YAO LIN, President of ABGENOMICS CORPORATION do hereby certify that:

1.1. SHIH-YAO LIN is the President of ABGENOMICS CORPORATION and that he/she is the authorized by ABGENOMICS CORPORATION to execute this Power of Attorney on its behalf.

1.2. That ABGENOMICS CORPORATION is a corporation/company legally constituted and in existence in accordance with the laws of Taiwan.

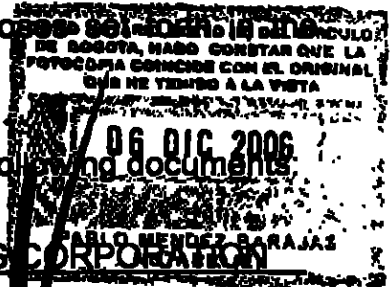
1.3. That the domicile of said corporation/company is 2F, No. 32 Ln.358, Juikuang Rd., Neihu, Taipei, Taiwan 114, R.O.C.

1.4. That the purpose or purposes for which the present Power of Attorney is granted are comprised within the corporation purposes set forth in the charter of the mentioned corporation/company.

2. For issuing this certification that I have seen the following documents:

2.1. The Articles of Incorporation of ABGENOMICS CORPORATION dated May 26, 2006.

2.2. The Resolution of the Board of Directors and/or the By-Laws of _____, dated _____.



案號 Case No.:	7278	日期 Date:	SEP 18 2006
本文件之簽名或蓋章，於台灣台北地方法院所屬民間公證人 趙原孫事務所辦理。公證人 趙原孫			
Attested at the Chao, Yuan-Sun Notary Public Office of Taiwan Taipei District Court, R.O.C., that the signature(s)/seal(s) in this document is/are authentic.			
Notary Public			
			
Chao, Yuan-Sun			
901, NO. 346, NAN-KING E. RD., SEC. 3, TAIPEI, TAIWAN			

Signed by: 
Shih-Yao Lin

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES
517958
Cesar E. Hernandez
COTACUAMA, PANAMA EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
2006 NOV - 7 P 1:50
Lucas
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.

COMO NOTARIO SEXTO (6) DEL CIRCULO
DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA
FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL
QUE ME TENGO A LA VISTA
06 DIC 2006
PABLO MENDEZ BARAJAS
NOTARIO (E)



EL SUCCESO CONSIL GENERAL DE COLOMBIA
CERTIFICA
Que (a) ERNESTO LOZANO LOPEZ
Documento No. 117 en el cual, en la
ciudad de Bogotá, D.C., el día 27 de OCT de 2006
se otorgó el documento de LEGITIMACION MINISTROS
de RELACIONES EXTERIORES
El presente documento se encuentra en el Registro
Consular y no asume responsabilidad
alguna por su validez. Estampado en Panamá, R.
de Colombia, el día 27 de OCT de 2006
Documento No. 117 Valor Pagado US\$ 24=-
Cesar E. Hernandez
(FIRMA Y SELLO CONSULAR)



CESAR E. HERNANDEZ RIAÑO
Consul General de Colombia
Panamá, Rep. de Panamá



REPUBLICA DE PANAMA
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

SSSS

Departamento Consular y
Legalizaciones

**CERTIFICADO DE
AUTENTICACION**

Recibo Oficial No. 353416

Arancel No. 60

Derechos B/. 10.00

No. 306874

AMP-06



El Suscrito MAYTE YEN
NOMBRE DEL FUNCIONARIO CONSULAR
FIRMA AUTORIZADA, EMBAJADA DE PANAMA
TAIPEI, TAIWAN, R.O.C.
TITULO Y LUGAR DE ACREDITACION



El infrascrito funcionario de
Legalizaciones del Ministerio de
Relaciones Exteriores debidamente autorizado
para este acto

CERTIFICA:

Que la firma que antecede y que dice:

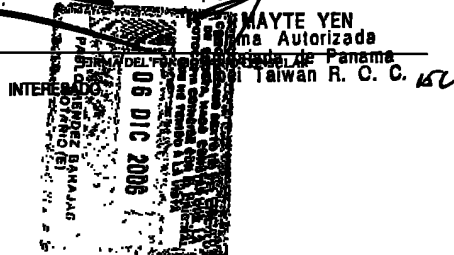
CERTIFICA:

que la firma que aparece en el documento adjunto que
dice: CHAO YUAN-SUN

es auténtica y corresponde a la que acostumbra usar en los
documentos que autoriza en calidad de NOTARY PUBLIC
OFFICE OF TAIWAN TAIPEI DISTRICT COURT, R.O.C.

Dado en la Ciudad de TAIPEI el día 04

del mes de OCTUBRE del año 2006



MAYTE YEN

es auténtica del funcionario que el día 4

de OCTUBRE año 2006

ejercía el cargo de FIRMA AUTORIZADA DE LA EMBAJADA

DE PANAMA EN TAIPEI, TAIWAN, R.O.C.

Panamá 25 de OCTUBRE año 2006.

Autenticación N° 15C-PC
110574C

Firma del funcionario

Lig. Ernesto Lozano Lopez
JEFE DE AUTENTICACION Y LEGALIZACION
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

Este Ministerio no asume responsabilidad en cuanto al contenido
del documento.

161C

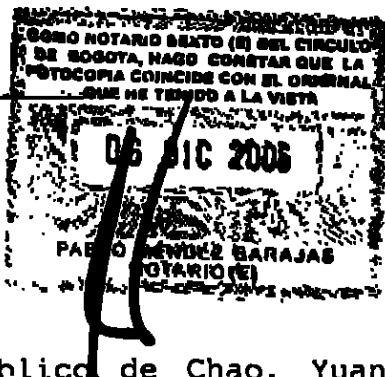
2

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 11.08/06b realizada por Diego Vargas, Traductor Oficial, Resolución No. 0001 de 1999 del Ministerio de Justicia y registrado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia.

A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento mediante el cual **ABGENOMICS CORPORATION**, domiciliada en 2F, No.32 Ln 358, Juikuang Rd., Neihu, Taipei, Taiwán, 114, República de China, ratifica la solicitud presentada en el expediente No. 06.035.911 por el Dr. Emilio Ferrero como agente oficioso ante la División de Nuevas Creaciones en Bogotá, Colombia el 12 de abril de 2006, y adicionalmente otorga derechos de representación y poder a los Doctores EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ, tpa. 23555 y DANIEL PEÑA, tpa. 65620, domiciliados en la Carrera 4 No. 72-35, Bogotá, Colombia.

Dado y firmado el 19 de julio de 2006 en Taipei, Taiwán, por Shih-Yao Lin.

Firma Ilegible
Firma



Sello:

Caso No. 5396 Fecha: JUL 19 2006

Se certifica en la Oficina de Notario Público de Chao, Yuan-Sun, Tribunal de Distrito de Taipei, Taiwán, República de China, que la firma(s) / sello(s) en este documento es / son auténticas.

Notario Público
Firma Ilegible
Chao, Yuan-Sun

(ANEXO)

Se anexa Certificado de Autenticación No. 353416 con Recibo Oficial 306873 de la República de Panamá por medio de la cual Mayte Yen, en su capacidad de Firma Autorizada de la Embajada de Panamá en Taipei,

10

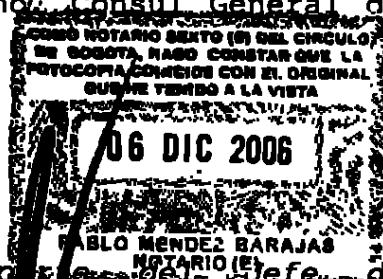
Taiwán, República de China, certifica la firma anterior de CHAO YUAN-SUN como Notario Público de la Oficina del Tribunal de Distrito de Taipei, Taiwán, República de China. Dado en Taipei el 4 de octubre de 2006.

Se anexa la legalización por parte del Ministerio de Relaciones Exteriores de Panamá bajo la Autenticación No. 161C-PC/110574C de la firma anterior de Mayte Yen como firma autorizada de la Embajada de Panamá en Taipei, Taiwán, República de China. Dada y firmada el 26 de octubre de 2006 por el Lic. Ernesto Lozano Lopez, funcionario de Legalizaciones.

Se anexa la certificación No. 118 del 27 de octubre de 2006 del Cónsul General de Colombia en Panamá, en donde se certifica la firma anterior de Ernesto Lozano Lopez como Jefe de Autenticación y Legalización del Ministerio de Relaciones Exteriores de la República de Panamá. Firmada por César E. Hernandez Riaño, Cónsul General de Colombia en Panamá.

Pagados los Impuestos

Legalización de la firma anterior por parte del Jefe de Legalizaciones del Ministerio de Relaciones Exteriores de Bogotá bajo el número **517960** con fecha del 7 de noviembre de 2006.



Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS - INGLÉS - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

CERTIFICADO DE AUTORIDAD

1. Yo, SHIH-YAO LIN, Presidente de ABGENOMICS CORPORATION, por el presente certifico que:

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTA
BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) FIRMA(S) DE

Viego Felipe
Vergel Vaneza

COINCIDE(N) CON LA FIRMA REGISTRADA POR
EL (ELLOS) EN ESTA NOTARIA
SANTAFE DE BOGOTA, 09 NOV 2006

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 NOV -9 P. 1:10

WOS
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.



MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

519550

Duque Vargas
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPLEADO
LAS FUNCIONES INDICADAS

COMO NOTARIO SEXTO (N) DEL CIRCULO
DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA
FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL
QUE ME TENGO A LA VISTA

06 DIC 2006

H
PABLO MENDEZ BARAJAS
NOTARIO (E)

1.1 SHIH-YAO LIN es el Presidente de ABGENOMICS CORPORATION y que él/ella está autorizado por ABGENOMICS CORPORATION para suscribir este poder a su nombre.

1.2 Que ABGENOMICS CORPORATION es una sociedad/compañía legalmente constituida y en existencia de conformidad con las leyes de Taiwán.

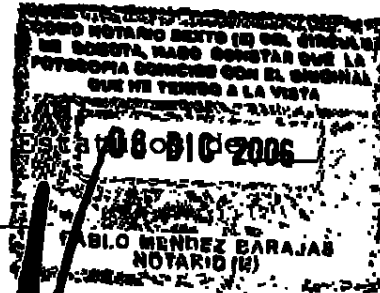
1.3 Que el domicilio de dicha "sociedad/compañía" es 2F, No. 22, Ln 358, Juikuang Rd, Neihu, Taipei, Taiwán, 114, República de China

1.4 Que el fin o los fines para los cuales se otorga este poder están comprendidos dentro del objeto social establecidos en los estatutos de la mencionada sociedad/compañía.

2. Para expedir esta certificación he visto los siguientes documentos:

2.1 Los Artículos de Constitución de ABGENOMICS CORPORATION, con fecha del 26 de mayo de 2006.

2.2 La Resolución de la Junta Directiva y/o los Estatutos con fecha del _____



Firma por: Firma Ilegible
Shih-Yao Lin

Sello:

Caso No. 7278

Fecha: SEP 18, 2006

Se certifica en la Oficina de Notario Público de Chao, Yuan-Sun, Tribunal de Distrito de Taipei, Taiwán, República de China, que la firma(s) / sello(s) en este documento es / son auténticas.

Notario Público

Firma Ilegible
Chao, Yuan-Sun

(ANEXO)

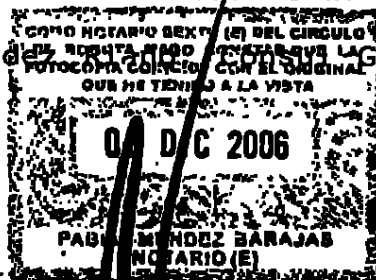
12

Se anexa Certificado de Autenticación No. 353416 con Recibo Oficial 306874 de la República de Panamá por medio de la cual Mayte Yen, en su capacidad de Firma Autorizada de la Embajada de Panamá en Taipei, Taiwán, República de China, certifica la firma anterior de CHAO YUAN-SUN como Notario Público de la Oficina del Tribunal de Distrito de Taipei, Taiwán, República de China. Dado en Taipei el 4 de octubre de 2006.

Se anexa la legalización por parte del Ministerio de Relaciones Exteriores de Panamá bajo la Autenticación No. 15C-PC/110574C de la firma anterior de Mayte Yen como firma autorizada de la Embajada de Panamá en Taipei, Taiwán, República de China. Dada y firmada el 25 de octubre de 2006 por el Lic. Ernesto Lozano Lopez, funcionario de Legalizaciones.

Se anexa la certificación No. 117 del 27 de octubre de 2006 del Cónsul General de Colombia en Panamá, en donde se certifica la firma anterior de Ernesto Lozano Lopez como Jefe de Autenticación y Legalización del Ministerio de Relaciones Exteriores de la República de Panamá. Firmada por César E. Hernández, Cónsul General de Colombia en Panamá.

Pagados los Impuestos



Legalización de la firma anterior por parte del Jefe de Legalizaciones del Ministerio de Relaciones Exteriores de Bogotá bajo el número **517959** con fecha del 7 de noviembre de 2006.

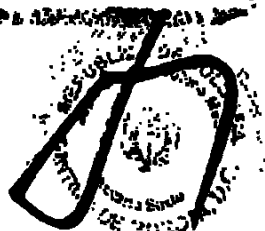
Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

DVZ/ID-8245/WPCL002G/COLO-15277-841-001-8

Diego F. Vargas Z.
DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS - INGLÉS - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
2006 NOV -9 P 1:10
JCS
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE
BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) FIRMA(S) DE
Yago Felipe
Josef Zaldosa
CONCIDE(N) CON LA FIRMA REGISTRADA POR
EL (ELLOS) EN ESTA NOTARIA
SANTAFE DE BOGOTA. 09 NOV 2006



MINISTERIO DE
519551
Ruy Vargas
AFARET EN EL
QUE SE PENA
DESEMPENAR
COMO NOTARIO SEXTO (6) DEL CIRCULO
DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA
FOTOCOPIA CONCIDE CON EL ORIGINAL
QUE HE TENIDO A LA VISTA
06 DIC 2006
SLO MENDEZ-BARAJAS
NOTARIO (E)

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

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
24 November 2005 (24.11.2005)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/110456 A2

(51) International Patent Classification⁷: A61K 38/10,
38/08, C07K 7/08, 7/06

(21) International Application Number:
PCT/US2005/016441

(22) International Filing Date: 11 May 2005 (11.05.2005)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/570,161 11 May 2004 (11.05.2004) US

(71) Applicant (for all designated States except US): ABGE-
NOMICS CORPORATION; 2F, NO. 32, Ln. 358,
Juikuang Rd., Neihu, Taipei 114 (TW).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): LIN, Ronghwa; 7F,
No. 12, Lane 54, Sec. 3, Sinshang S. Rd., Da-an Dis-
trick, Taipei 106 (TW). CHANG, Chunqian [US/US];
602 Saint Croix Lane, Foster City, CA 94404 (US).

(74) Agent: TSAO, Y., Rocky; Fish & Richardson P.C., 225
Franklin Street, Boston, MA 02110-2804 (US).

(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, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA,
MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,
VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(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, IS, IT, LT, 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).

Published:

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

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

(54) Title: T-CELL DEATH-INDUCING EPTIOPES

(57) Abstract: Cell death-inducing epitopes and polypeptides containing same. Also disclosed are compounds for inducing death of activated T-cells, a method of producing antibodies to the epitopes, a method of identifying compounds that bind to the epitopes, a method of inducing death of activated T cells, and pharmaceutical compositions containing the compounds.

WO 2005/110456 A2

T-CELL DEATH-INDUCING EPITOPES

RELATED APPLICATION

This application claims priority to U.S. Provisional Application Serial No.
5 60/570,161, filed on May 11, 2004, the contents of which are incorporated by reference
in its entirety.

BACKGROUND

Control of unwanted immune responses is critical in treating autoimmune
diseases, transplant rejection, allergic diseases, and T-cell-derived cancers. The activity
10 of overly aggressive T-cells can be contained by immunosuppression or by induction of
immunological tolerance. Apoptosis is believed to be involved in maintaining proper
functions of the immune system and removing unwanted cells, such as overly aggressive
T-cells (Kabelitz et al. (1993) Immunol Today 14, 338-340; and Raff (1992) Nature 356,
397-399).

SUMMARY

This invention relates to T-cell death-inducing epitopes. The epitopes can be used
for, among others, selecting compounds that bind to the epitopes. Such compounds are
useful in treating diseases involving overly aggressive T-cells. Examples of such diseases
include autoimmune diseases, transplant rejection, allergic diseases, and T-cell-derived
20 cancers.

In one aspect, the invention features a three-dimensional conformation of an
isolated epitope. Binding of a ligand to the epitope on activated T-cells induces death of
the cells. Such an epitope is represented by:

(1) $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5$ (SEQ ID NO:1), where

- 25 X_1 is Tyr, Trp, His, or Met;
 X_2 is Asp;
 X_3 is Ser, Phe, Pro, Glu, or His;
 X_4 is any amino acid that naturally occurring in animals; and

X₅ is Pro, Tyr, His, or Trp;

(2) X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀ (SEQ ID NO:2), where

X₆ is Asp;

X₇ is Tyr, Met, Asn, Trp, or Phe;

X₈ is Phe or Leu;

X₉ is Pro; and

X₁₀ is Glu; or

(3) X₁₁-X₁₂-X₁₃-X₁₄ (SEQ ID NO:3), where

X₁₁ is Pro;

X₁₂ is Met;

X₁₃ is Glu or Ser; and

X₁₄ is Ile.

Any of those epitopes described above can be, e.g., a polypeptide, an interacting region of two polypeptides, a carbohydrate moiety, a glycoprotein, or any conformational, functional equivalent thereof.

In another aspect, the invention features an isolated polypeptide containing X₁-X₂-X₃-X₄-X₅, X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀, or X₁₁-X₁₂-X₁₃-X₁₄. Binding of a ligand to the polypeptide on activated T-cells induces death of the cells. In one embodiment, the polypeptide contains 4 to 400 amino acids (e.g., any integer between 4 and 400, inclusive). For example, the polypeptide can be X₁-X₂-X₃-X₄-X₅ (SEQ ID NO:1), X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀ (SEQ ID NO:2), X₁₁-X₁₂-X₁₃-X₁₄ (SEQ ID NO:3), or any of SEQ ID NOs:4, 6-18, and 20-22.

An "isolated epitope" or "isolated polypeptide" refers to an epitope or polypeptide substantially free from naturally associated molecules, i.e., it is at least 75% (e.g., any number between 75% and 100%, inclusive) pure by dry weight. Purity can be measured by any appropriate standard method, for example, by column chromatography, polyacrylamide gel electrophoresis, or HPLC analysis. An isolated epitope or polypeptide of the invention can be purified from a natural source, produced by recombinant DNA techniques, or by chemical methods.

In still another aspect, the invention features a novel compound that binds to one of the above-described epitopes. The compound can be any kind of molecule, including antibodies such as monoclonal antibodies. A compound of the invention can be used for detecting an epitope of the invention and for inducing death of activated T-cells.

5 Also within the scope of the invention is a method of producing antibodies. The method involves administering to a subject an effective amount of one of the above-described epitopes (e.g., polypeptides). The antibodies can be used for detecting an epitope of the invention or for inducing death of activated T-cells.

10 The invention also features a method of identifying a candidate compound (e.g., a monoclonal antibody) for inducing death of activated T-cells. The method involves contacting a test compound with an epitope of the invention and determining whether the test compound binds to the epitope. If the test compound binds to the epitope, it is a candidate for inducing death of activated T-cells.

15 The invention further features a method of inducing death of activated T-cells by contacting activated T-cells with a compound of the invention.

In yet another aspect, the invention features a pharmaceutical composition containing a pharmaceutically acceptable carrier and (1) an epitope of the invention such as a polypeptide, or (2) a compound that binds to the epitope.

20 The invention provides compositions and methods for treating diseases involving overly aggressive T-cells such as autoimmune diseases, transplant rejection, allergic diseases, and T-cell-derived cancers. The details of one or more embodiments of the invention are set forth in the accompanying description below. Other features, objects, and advantages of the invention will be apparent from the detailed description.

DETAILED DESCRIPTION

25 This invention is based on the unexpected discovery that activated T-cells can be induced to undergo apoptosis and be depleted by engagement of new T-cell death-inducing epitopes. Depletion of activated T-cells are particularly useful for treating conditions associated with an excessive or unwanted T-cell-mediated immune response or T-cell proliferation. For example, depletion of activated T-cells can result in reduction or

elimination of undesirable T-cell activity or proliferation related to autoimmune diseases, transplant rejection, allergic diseases, or T-cell-derived cancers.

Accordingly, the invention features a three-dimensional conformation of an isolated epitope. Binding of a ligand to the epitope on activated T-cells induces death of the cells. The epitope is represented by X_1 - X_2 - X_3 - X_4 - X_5 , X_6 - X_7 - X_8 - X_9 - X_{10} , or X_{11} - X_{12} - X_{13} - X_{14} . The three-dimensional conformation of X_1 - X_2 - X_3 - X_4 - X_5 , X_6 - X_7 - X_8 - X_9 - X_{10} , or X_{11} - X_{12} - X_{13} - X_{14} can be determined, e.g., using computer modeling programs as described in Duggan et al., (1995) *J Med Chem.* 38:3332-41 and Toogood (2002) *J Med Chem.* 45: 1543-57. Epitopes of conformational, functional equivalence can be designed in accordance with the three-dimensional conformation of X_1 - X_2 - X_3 - X_4 - X_5 , X_6 - X_7 - X_8 - X_9 - X_{10} , or X_{11} - X_{12} - X_{13} - X_{14} , prepared using methods known in the art, and tested for their abilities to be involved in induction of death of activated T-cells by methods such as that described in the example below. See, e.g., Barhas et al. (2001) *Phage display. A laboratory manual.* CSHL Press; Parmley et al. (1998) *Gene* 73, 305-318; Scott et al. (1990) *Science* 249, 386-390; U.S. Patent Application No. 2003/0049252 A1; WO 03/013603 A1; Osborne (1996) *Curr Opin Immunol* 8:245-248; Lin et al. (1997) *J. Immunol.* 158, 598-603; Zhang et al. (1995) *Nature* 377, 348-350; Lai et al. (1995) *Eur J Immunol* 25, 3243-3248; Mollereau et al. (1996) *J Immunol* 156, 3184-3190; and Gribben et al. (1995) *Proc Natl Acad Sci USA* 92, 811-815.

As used herein, an "activated T-cell" is a T-cell having a higher frequency, rate, or extent of proliferation than that of a non-activated T-cell. "Death" of a cell includes programmed cell death, i.e., apoptosis. "Induction of cell death" by an agent occurs when a population of cells treated with the agent exhibits a higher death rate compared to an untreated cell population. For example, the percentage of in vitro activated T-cells undergoing apoptosis is about doubled when treated with monoclonal antibodies m128-9F9, m152-15A7, or m166-43B6 compared to that of untreated cells, as determined by annexin V staining and FACS analysis (see the example below).

The invention also features an isolated polypeptide containing X_1 - X_2 - X_3 - X_4 - X_5 , X_6 - X_7 - X_8 - X_9 - X_{10} , or X_{11} - X_{12} - X_{13} - X_{14} . The polypeptide can be used for identifying compounds that induce death of activated T-cells. Binding of such a compound to the polypeptide expressed on the surface of activated T-cells induces cell death. Further, free

polypeptides (i.e., those not expressed on the cell surface) can inhibit unwanted cell death by competing for endogenous death-inducing ligands with the cell-surface polypeptides. The length or sequence of the polypeptide may vary for these uses. A polypeptide of the invention can be obtained, e.g., as an isolated T-cell surface protein, a synthetic
5 polypeptide, or a recombinant polypeptide. To prepare a recombinant polypeptide, a nucleic acid encoding it can be linked to another nucleic acid encoding a fusion partner, e.g., Glutathione-S-Transferase (GST), 6x-His epitope tag, or M13 Gene 3 protein. The resultant fusion nucleic acid expresses in suitable host cells a fusion protein that can be isolated by standard methods. The isolated fusion protein can be further treated, e.g., by
10 enzymatic digestion, to remove the fusion partner and obtain the recombinant polypeptide of this invention.

An epitope of the invention or a polypeptide of the invention can be used to generate antibodies in animals (for production of antibodies) or humans (for treatment of diseases). Methods of making monoclonal and polyclonal antibodies and fragments
15 thereof in animals are known in the art. See, for example, Harlow and Lane, (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York. The term "antibody" includes intact molecules as well as fragments thereof, such as Fab, F(ab')₂, Fv, scFv (single chain antibody), and dAb (domain antibody; Ward, et. al. (1989) *Nature*, 341, 544). These antibodies can be used for detecting the epitope, e.g., in identifying a
20 compound that binds to the epitope (see below). The antibodies that are capable of inducing death of activated T-cells are also useful for treating diseases such as autoimmune diseases, transplant rejection, allergic diseases, or T-cell-derived cancers. In general, an epitope of the invention, e.g., a polypeptide, can be coupled to a carrier protein, such as KLH, mixed with an adjuvant, and injected into a host animal.
25 Antibodies produced in that animal can then be purified by peptide affinity chromatography. Commonly employed host animals include rabbits, mice, guinea pigs, and rats. Various adjuvants that can be used to increase the immunological response depend on the host species and include Freund's adjuvant (complete and incomplete), mineral gels such as aluminum hydroxide, surface active substances such as lysolecithin,
30 pluronic polyols, polyanions, peptides, oil emulsions, keyhole limpet hemocyanin, and

dinitrophenol. Useful human adjuvants include BCG (bacille Calmette-Guerin) and *Corynebacterium parvum*.

Polyclonal antibodies, heterogeneous populations of antibody molecules, are present in the sera of the immunized subjects. Monoclonal antibodies, homogeneous populations of antibodies to a particular antigen, can be prepared using standard hybridoma technology (see, for example, Kohler et al. (1975) *Nature* 256, 495; Kohler et al. (1976) *Eur J Immunol* 6, 511; Kohler et al. (1976) *Eur J Immunol* 6, 292; and Hammerling et al. (1981) *Monoclonal Antibodies and T Cell Hybridomas*, Elsevier, N.Y.). In particular, monoclonal antibodies can be obtained by any technique that provides for the production of antibody molecules by continuous cell lines in culture such as described in Kohler et al. (1975) *Nature* 256, 495 and U.S. Patent No. 4,376,110; the human B-cell hybridoma technique (Kosbor et al. (1983) *Immunol Today* 4, 72; Cole et al. (1983) *Proc Natl Acad Sci USA* 80, 2026, and the EBV-hybridoma technique (Cole et al. (1983) *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96). Such antibodies can be of any immunoglobulin class including IgG, IgM, IgE, IgA, IgD, and any subclass thereof. The hybridoma producing the monoclonal antibodies of the invention may be cultivated in vitro or in vivo. The ability to produce high titers of monoclonal antibodies in vivo makes it a particularly useful method of production.

In addition, techniques developed for the production of "chimeric antibodies" can be used. See, e.g., Morrison et al. (1984) *Proc Natl Acad Sci USA* 81, 6851; Neuberger et al. (1984) *Nature* 312, 604; and Takeda et al. (1984) *Nature* 314:452. A chimeric antibody is a molecule in which different portions are derived from different animal species, such as those having a variable region derived from a murine monoclonal antibody and a human immunoglobulin constant region. Alternatively, techniques described for the production of single chain antibodies (U.S. Patent Nos. 4,946,778 and 4,704,692) can be adapted to produce a phage library of single chain Fv antibodies. Single chain antibodies are formed by linking the heavy and light chain fragments of the Fv region via an amino acid bridge. Moreover, antibody fragments can be generated by known techniques. For example, such fragments include, but are not limited to, F(ab')₂ fragments that can be produced by pepsin digestion of an antibody molecule, and Fab fragments that can be generated by reducing the disulfide bridges of F(ab')₂ fragments.

17

Antibodies can also be humanized by methods known in the art. For example, monoclonal antibodies with a desired binding specificity can be commercially humanized (Scotgene, Scotland; and Oxford Molecular, Palo Alto, Calif.). Fully human antibodies, such as those expressed in transgenic animals are also features of the invention (see, e.g.,
5 Green et al. (1994) Nature Genetics 7, 13; and U.S. Patent Nos. 5,545,806 and 5,569,825).

The invention further features a novel compound that binds to an epitope of the invention and induces death of activated T-cells. Such a compound can be designed, e.g., using computer modeling programs, according to the three-dimensional conformation of
10 the epitope, and synthesized using methods known in the art. It can also be identified by library screening as described below.

The test compounds can be obtained using any of the numerous approaches in combinatorial library methods known in the art. Such libraries include: peptide libraries, peptoid libraries (libraries of molecules having the functionalities of peptides, but with a novel, non-peptide backbone that is resistant to enzymatic degradation), spatially
15 addressable parallel solid phase or solution phase libraries, synthetic libraries obtained by deconvolution or affinity chromatography selection, the "one-bead one-compound" libraries, and antibody libraries. See, e.g., Zuckermann et al. (1994) J Med Chem 37, 2678-85; Lam (1997) Anticancer Drug Des 12, 145; Lam et al. (1991) Nature 354, 82; Houghten et al. (1991) Nature 354, 84; and Songyang et al. (1993) Cell 72, 767.
20

Examples of methods for the synthesis of molecular libraries can be found in the art, for example, in: DeWitt et al. (1993) PNAS USA 90, 6909; Erb et al. (1994) PNAS USA 91, 11422; Zuckermann et al. (1994) J Med Chem 37, 2678; Cho et al. (1993) Science 261, 1303; Carrell et al. (1994) Angew Chem Int Ed Engl 33, 2059; Carell et al.
25 (1994) Angew Chem Int Ed Engl 33, 2061; and Gallop et al. (1994) J Med Chem 37, 1233.

Libraries of compounds may be presented in solution (e.g., Houghten (1992) Biotechniques 13, 412-421), or on beads (Lam (1991) Nature 354, 82-84), chips (Fodor (1993) Nature 364, 555-556), bacteria (U.S. Patent No. 5,223,409), spores (U.S. Patent
30 No. 5,223,409), plasmids (Cull et al. (1992) PNAS USA 89, 1865-1869), or phages (Scott and Smith (1990) Science 249, 386-390; Devlin (1990) Science 249, 404-406; Cwirla et

al. (1990) PNAS USA 87, 6378-6382; Felici (1991) J Mol Biol 222, 301-310; and U.S. Patent No. 5,223,409).

To identify a candidate compound for inducing death of activated T-cells, an epitope of the invention is contacted with a test compound, and the binding of the compound to the epitope is evaluated. If the compound binds to the epitope, it is a candidate for inducing death of activated T-cells.

The screening assay can be conducted in a variety of ways. For example, one method involves anchoring the epitope (or an epitope-containing molecule, e.g., a polypeptide or a fusion protein) or the test compound onto a solid phase and detecting an epitope-test compound complex formed on the solid phase at the end of the reaction. In practice, microtiter plates may conveniently be utilized as the solid phase. The anchor component may be immobilized by non-covalent or covalent attachments. Non-covalent attachment may be accomplished by simply coating the solid surface with a solution of the anchor component and drying the plates. Alternatively, an immobilized antibody (e.g., a monoclonal antibody) specific for the anchor component may be used to immobilize the anchor component to the solid surface. The non-anchor component is added to the solid surface coated with the anchor component. After the reaction is complete, unbound fraction of the non-anchor components is removed (e.g., by washing) under conditions such that any complexes formed remain immobilized on the solid surface. Detection of these complexes can be accomplished in a number of ways. Where the non-anchor component is pre-labeled, detection of the label immobilized on the solid surface indicates that complexes were formed. Where the non-anchor component is not pre-labeled, an indirect label can be used to detect complexes formed on the surface, e.g., using an antibody specific for the non-anchor component (the antibody, in turn, may be directly labeled or indirectly labeled with a labeled anti-Ig antibody).

Alternatively, the reaction can be conducted in a liquid phase. The complexes are separated from unbound components, e.g., using an immobilized antibody specific for the epitope (or the epitope-containing molecule) or the test compound. The complexes are then detected, e.g., using a labeled antibody specific for the other component.

The candidate compound can be validated by ascertaining its ability to induce death of activated T-cells, using the method described in the example below, or any other

method known in the art. The validated compound can be used for inducing death of activated T-cells and for treating diseases such as autoimmune diseases, transplant rejection, allergic diseases, or T-cell-derived cancers.

The invention provides a method of inducing death of activated T-cells, e.g., by contacting activated T-cells with a compound of the invention in vitro, or by administering to a subject in need thereof an effective amount of a compound of the invention. Subjects to be treated can be identified as having or being at risk for acquiring a condition characterized by an excessive or unwanted T-cell-mediated immune response, e.g., patients suffering from autoimmune diseases, transplant rejection, allergic diseases, or T-cell-derived cancers. This method can be performed alone or in conjunction with other drugs or therapy.

The term "treating" is defined as administration of a composition to a subject with the purpose to cure, alleviate, relieve, remedy, prevent, or ameliorate a disorder, the symptom of the disorder, the disease state secondary to the disorder, or the predisposition toward the disorder. An "effective amount" is an amount of the composition that is capable of producing a medically desirable result, e.g., as described above, in a treated subject.

Exemplary diseases to be treated include, but are not limited to, diabetes mellitus, arthritis (including rheumatoid arthritis, juvenile rheumatoid arthritis, osteoarthritis, and psoriatic arthritis), multiple sclerosis, encephalomyelitis, myasthenia gravis, systemic lupus erythematosus, autoimmune thyroiditis, dermatitis (including atopic dermatitis and eczematous dermatitis), psoriasis, Sjögren's Syndrome, Crohn's disease, aphthous ulcer, iritis, conjunctivitis, keratoconjunctivitis, type 1 diabetes, inflammatory bowel diseases, ulcerative colitis, asthma, allergic asthma, cutaneous lupus erythematosus, scleroderma, vaginitis, proctitis, drug eruptions, leprosy reversal reactions, erythema nodosum leprosum, autoimmune uveitis, allergic encephalomyelitis, acute necrotizing hemorrhagic encephalopathy, idiopathic bilateral progressive sensorineural hearing loss, aplastic anemia, pure red cell anemia, idiopathic thrombocytopenia, polyarthritides, Wegener's granulomatosis, chronic active hepatitis, Stevens-Johnson syndrome, idiopathic sprue, lichen planus, Graves' disease, sarcoidosis, primary biliary cirrhosis, uveitis posterior, interstitial lung fibrosis, graft-versus-host disease, cases of transplantation (including

transplantation using allogeneic or xenogeneic tissues) such as bone marrow transplantation, liver transplantation, or the transplantation of any organ or tissue, allergies such as atopic allergy, AIDS, and T-cell neoplasms such as leukemias or lymphomas.

5 In one in vivo approach, a therapeutic composition (e.g., a composition containing an epitope of the invention, a polypeptide of the invention, or a compound of the invention) is administered to the subject. Generally, the epitope, the polypeptide, or the compound is suspended in a pharmaceutically-acceptable carrier (e.g., physiological saline) and administered orally or by intravenous infusion, or injected or implanted
10 subcutaneously, intramuscularly, intrathecally, intraperitoneally, intrarectally, intravaginally, intranasally, intragastrically, intratracheally, or intrapulmonarily.

The dosage required depends on the choice of the route of administration; the nature of the formulation; the nature of the subject's illness; the subject's size, weight, surface area, age, and sex; other drugs being administered; and the judgment of the
15 attending physician. Suitable dosages are in the range of 0.01-100.0 mg/kg. Wide variations in the needed dosage are to be expected in view of the variety of compositions available and the different efficiencies of various routes of administration. For example, oral administration would be expected to require higher dosages than administration by intravenous injection. Variations in these dosage levels can be adjusted using standard
20 empirical routines for optimization as is well understood in the art. Encapsulation of the composition in a suitable delivery vehicle (e.g., polymeric microparticles or implantable devices) may increase the efficiency of delivery, particularly for oral delivery.

Also within the scope of this invention is a pharmaceutical composition that contains a pharmaceutically acceptable carrier and an effective amount of a compound of
25 the invention. The pharmaceutical composition can be used to treat diseases described above. The pharmaceutically acceptable carrier includes a solvent, a dispersion medium, a coating, an antibacterial and antifungal agent, and an isotonic and absorption delaying agent.

The pharmaceutical composition of the invention can be formulated into dosage
30 forms for different administration routes utilizing conventional methods. For example, it can be formulated in a capsule, a gel seal, or a tablet for oral administration. Capsules

can contain any standard pharmaceutically acceptable materials such as gelatin or cellulose. Tablets can be formulated in accordance with conventional procedures by compressing mixtures of the composition with a solid carrier and a lubricant. Examples of solid carriers include starch and sugar bentonite. The composition can also be administered in a form of a hard shell tablet or a capsule containing a binder, e.g., lactose or mannitol, a conventional filler, and a tableting agent. The pharmaceutical composition can be administered via the parenteral route. Examples of parenteral dosage forms include aqueous solutions, isotonic saline or 5% glucose of the active agent, or other well-known pharmaceutically acceptable excipient. Cyclodextrins, or other solubilizing agents well known to those familiar with the art, can be utilized as pharmaceutical excipients for delivery of the therapeutic agent.

The efficacy of a composition of this invention can be evaluated both in vitro and in vivo. See, e.g., the examples below. Briefly, the composition can be tested for its ability to induce death of activated T-cells in vitro. For in vivo studies, the composition can be injected into an animal (e.g., a mouse model) and its therapeutic effects are then accessed. Based on the results, an appropriate dosage range and administration route can be determined.

The specific example below is to be construed as merely illustrative, and not limitative of the remainder of the disclosure in any way whatsoever. Without further elaboration, it is believed that one skilled in the art can, based on the description herein, utilize the present invention to its fullest extent. All publications recited herein are hereby incorporated by reference in their entirety.

Preparation of a mouse spleen cell suspension

Mouse spleen was immersed in 8 ml of Hank's balanced salt solution (HBSS), gently minced with a sterile cover slip, transferred to a 15 ml centrifuge tube (Costar), and spun at 200 x g for 5 minutes. The supernatant was discarded, and the cell pellet was resuspended in the residual buffer by gently tapping the wall. The contaminating red blood cells (RBC) were lysed by addition of 1 ml of RBC lysis buffer (0.6 M NH_4Cl , 0.17 M Tris-base, pH 7.65), followed by a 2 min incubation at room temperature and rapid quenching with 9 ml of HBSS. The cells were pelleted at 200 x g for 5 minutes,

washed twice, and resuspended in RPMI medium. The concentration and viability of the cells in the mixture were determined with a hemocytometer (Cambridge Scientific Inc.) and Trypan blue exclusion.

5 **Preparation of anti-T-cell, apoptosis-inducing monoclonal antibodies**

T-cell apoptosis-inducing monoclonal antibodies were generated by immunizing a mouse with Concanavalin A-activated human T-cells and screened for their abilities to bind to activated human T-cells and subsequently to induce T-cell apoptosis. The monoclonal antibodies were prepared according to the well-known cell fusion methods of Kohler and Milstein ((1976) *Euro J Immunol* 6, 511-519) to produce a hybridoma
10 secreting desired antibodies. Three hybridomas generated according to these methods secreted monoclonal antibodies, designated m128-9F9, m152-15A7, and m166-43B6, respectively, that were able to induce T-cell apoptosis in vitro.

Concentrated culture supernatant of each hybridoma was spun at 20000 x g for 10 minutes, and the supernatant was diluted at a 1:1 ratio with the binding buffer (0.1 M sodium acetate, pH 5.0). A protein G column (approximately 1 ml bed volume) was washed three times with 3-5 ml of the binding buffer. The cleared culture supernatant was loaded onto the protein G column, and the flow-through was collected and reloaded to the column. The column was then washed with 6-10 ml of the binding buffer, and the bound antibody was eluted from the column with 5 ml of the elution buffer (0.1 M glycine-HCl, pH 2.8). Each fraction contained 1 ml of the eluted antibody, and the eluted fraction was adjusted to the neutral pH by mixing each 1 ml fraction with 50 microliters of 1 M Tris-HCl, pH 7.5. Fractions containing the antibody were pooled and dialyzed against 2 liters of PBS, pH 7.4 three times for three hours per dialysis. Protein
20 concentrations in the antibody samples were determined following the procedure described by Bradford using the Bio-Rad Protein Assay (BIO-RAD, Hercules, CA).
25

Induction of death of activated human T-cells by monoclonal antibodies

Activated T cells (see above) were resuspended to a final concentration of 5×10^5 cells/ml in RPMI medium containing 5 ng/ml of IL-2, and treated with control Ig, m128-9F9, m152-15A7, or m166-43B6.
30

It is well known that T-cell death-inducing antibodies can be used as therapeutic agents to treat T-cell-related diseases such as transplantation rejections, autoimmune diseases, and allergy. Three monoclonal antibodies against human T-cells were generated, and the capabilities of these monoclonal antibodies to induce apoptosis of activated human T-cells were examined. Culture supernatants containing monoclonal antibodies secreted by hybridoma cell line m128-9F9, m152-15A7, or m166-43B6 were incubated with either non-activated human T-cells (Day 0) or in vitro activated human T-cells (Day7) for 6 hours. Cells were stained with annexin V after incubation, and subjected to FACS analysis. CD3-positive cells were gated to ensure counting of either in vitro activated human T-cells or resting human T-cells. The apoptotic cells were annexin V staining-positive. Table 1 summarizes the percentage of apoptotic T-cells among all of the T-cells scanned. Unexpectedly, monoclonal antibodies secreted by hybridoma cell lines m128-9F9, m152-15A7, and m166-43B6 induced death of in vitro activated human T-cells but did not affect non-activated human T-cells. This capability of inducing apoptosis of activated T-cells yet sparing the resting T-cells is a unique feature of the apoptotic pathway and is a dominating feature of therapeutic reagents targeting T-cell-mediated diseases.

Table 1 Percentage of apoptotic T-cells

	Untreated	Anti-myc	m128-9F9	Untreated	Anti-myc	m152-15A7	m166-43
Day 0	4.17	6.67	5.82	18.18	15.52	5.23	6.57
Day 7	12.63	13.36	28.71	24.18	23.08	51.66	49.44

Identification of T-cell death-inducing epitopes

In order to identify death-inducing epitopes recognized by monoclonal antibodies m128-9F9, m152-15A7, and m166-43B6, these monoclonal antibodies were used to screen for consensus binding sequences in a polypeptide library (Ph. D.-12™ Phage Display Peptide Library Kit, New England Biolabs, Inc.). The library contained various 12-mer peptides linked to the 406-aa M13 Gene 3 protein. 96-well microtiter plates were coated with 50 µl/well antibodies at the concentration of 10 µg/ml in 0.1 M NaHCO₃ (pH 8.6) coating buffer overnight at 4°C. After the wash, the plates were blocked by incubation with the blocking buffer containing 0.1 M NaHCO₃ (pH 8.6), 5 mg/ml BSA,

0.02% NaN₃ (150 µl/well) for at least one hour at 4°C. Plates were then incubated with fusion proteins from the polypeptide library described above at various concentrations for one hour at room temperature. After the wash with 0.5% Tween containing TBS, the bound fusion proteins were eluted with 1 mg/ml BSA containing 0.2 M Glycine-HCl (pH 2.2) buffer and neutralized with 1 M Tris-HCl (pH 9.1). The amino acid sequences of
5 eluted fusion proteins were then determined.

The polypeptide sequences bound by monoclonal antibody m128-9F9 are shown below:

	WPEDSSYDSWPRG	SEQ ID NO: 4
10	LDYDFLEPETEP	SEQ ID NO: 5
	TATWDFDYFSDS	SEQ ID NO: 6
	AETDYDPDHFPTG	SEQ ID NO: 7
	DARYSHDPAPYGY	SEQ ID NO: 8
	AGQKNDPEWPHSG	SEQ ID NO: 9
15	EPNMDPNWASPSG	SEQ ID NO: 10
	KSHYDESWWYNGG	SEQ ID NO: 11
	YDEHWTNPPTQK	SEQ ID NO: 12
	YDEHWPRDDIAP	SEQ ID NO: 13

A consensus polypeptide sequence of X₁-X₂-X₃-X₄-X₅ was obtained, where
20 X₁ = Y/W/H/M, X₂ = D, X₃ = S/F/P/E/H, X₄ = any amino acid, and X₅ = P/Y/H/W.

The polypeptide sequences bound by monoclonal antibody m166-43B6 are shown below:

	QDTWYPDYFPES	SEQ ID NO: 14
	SHTLLNDMPFES	SEQ ID NO: 15
25	SPLRDHFPETLW	SEQ ID NO: 16
	ASPYMDHFPFEN	SEQ ID NO: 17
	QLVQDWLPEESH	SEQ ID NO: 18
	YLDYDFLEPETEP	SEQ ID NO: 19

A consensus polypeptide sequence of X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀ was obtained, where X₆ =
30 D, X₇ = Y/M/N/W/F, X₈ = F or L, X₉ = P, and X₁₀ = E.

The polypeptide sequences bound by monoclonal antibody m152-15A7 are shown below:

	YTPMFMESHSA	SEQ ID NO: 20
	MNDKYIPMSISA	SEQ ID NO: 21
35	KIPHKTLVPMFI	SEQ ID NO: 22
	TDSAAMEIQTTQ	SEQ ID NO: 23

21

A consensus polypeptide sequence of X_{11} - X_{12} - X_{13} - X_{14} was obtained, where X_{11} = P/A, X_{12} = M, X_{13} = E/S, and X_{14} = L.

ELISA assay of T-cell death-inducing epitopes recognized by monoclonal antibodies

5 In order to identify the specificities of the death-inducing epitopes recognized by the monoclonal antibodies described above, the sandwich ELISA was conducted. Serial dilutions (from 0.0017 fmol to 17 fmol) of the epitope-containing polypeptides were incubated with monoclonal antibodies m128-9F9, m152-15A7, or m166-43B6 pre-coated on the ELISA plates to determine their binding affinities.

10 96-well microtiter plates were coated with 50 μ l/well antibodies at the concentration of 1 μ g/ml overnight at 4°C. Plates were blocked by incubation with 0.25% of BSA in PBS (150 μ l/well) for 1 hour at 37°C. Plates were then incubated with fusion proteins containing various polypeptides for 2 hours at room temperature. After being washed 4 times with PBS containing 0.05% of Tween 20 (PBST), plates were then
15 incubated with antibodies specific for the fusion partner at 2 μ g/ml for 1.5 hours at room temperature. After incubation, plates were washed 4 times with PBST. 50 μ l of 1 to 3000 times diluted specific goat anti-fusion partner antibodies conjugated with alkaline phosphatase (AP) was then added to each well, and the plates were incubated for 1 hour at 37°C. Enzyme reaction was carried out by adding 50 μ l of AP substrate solution (1 AP
20 substrate tablet dissolved in 5 ml of substrate buffer). The results confirmed that all of the selected polypeptides bind specifically to their corresponding antibodies used for selection.

OTHER EMBODIMENTS

25 All of the features disclosed in this specification may be combined in any combination. Each feature disclosed in this specification may be replaced by an alternative feature serving the same, equivalent, or similar purpose. Thus, unless expressly stated otherwise, each feature disclosed is only an example of a generic series of equivalent or similar features.

30 From the above description, one skilled in the art can easily ascertain the essential characteristics of the present invention, and without departing from the spirit and scope

thereof, can make various changes and modifications of the invention to adapt it to various usages and conditions. Thus, other embodiments are also within the scope of the invention.

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A three-dimensional conformation of an isolated epitope represented by $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5$, wherein binding of a ligand to the epitope on activated T-cells induces death of the cells, and
 - X_1 is Tyr, Trp, His, or Met;
 - X_2 is Asp;
 - X_3 is Ser, Phe, Pro, Glu, or His;
 - X_4 is any amino acid; and
 - X_5 is Pro, Tyr, His, or Trp.
2. An isolated polypeptide comprising $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5$, wherein binding of a ligand to the polypeptide on activated T-cells induces death of the cells, and
 - X_1 is Tyr, Trp, His, or Met;
 - X_2 is Asp;
 - X_3 is Ser, Phe, Pro, Glu, or His;
 - X_4 is any amino acid; and
 - X_5 is Pro, Tyr, His, or Trp.
3. The polypeptide of claim 2, wherein the polypeptide is 5 to 1500 amino acids in length.
4. The polypeptide of claim 3, wherein the polypeptide is 5 to 150 amino acids in length.
5. The polypeptide of claim 4, wherein the polypeptide is 5 to 15 amino acids in length.
6. The polypeptide of claim 2, wherein the polypeptide is selected from the group consisting of SEQ ID NOs:4 and 6-13.

7. The polypeptide of claim 2, wherein the polypeptide is $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5$.
8. An antibody that binds to an epitope having the three-dimensional conformation of claim 1 and induces death of activated T-cells.
9. The antibody of claim 8, wherein the antibody is monoclonal.
10. A method of producing an antibody, the method comprising administering to a subject an effective amount of an epitope having the three-dimensional conformation of claim 1.
11. A method of identifying a candidate compound for inducing death of activated T-cells, the method comprising contacting a compound with an epitope having the three-dimensional conformation of claim 1, wherein binding of the compound to the epitope indicates that the compound is a candidate for inducing death of activated T-cells.
12. The method of claim 11, wherein the compound is an antibody.
13. The method of claim 12, wherein the compound is a monoclonal antibody.
14. A method of inducing death of activated T-cells, the method comprising contacting activated T-cells with the antibody of claim 8.
15. A pharmaceutical composition, comprising an epitope having the three-dimensional conformation of claim 1 and a pharmaceutically acceptable carrier.
16. A pharmaceutical composition, comprising the polypeptide of claim 2 and a pharmaceutically acceptable carrier.
17. A pharmaceutical composition, comprising the compound of claim 8 and a pharmaceutically acceptable carrier.

18. A three-dimensional conformation of an isolated epitope represented by X_6 - X_7 - X_8 - X_9 - X_{10} , wherein binding of a ligand to the epitope on activated T-cells induces death of the cells, and

X_6 is Asp;
 X_7 is Tyr, Met, Asn, Trp, or Phe;
 X_8 is Phe or Leu;
 X_9 is Pro; and
 X_{10} is Glu.

19. An isolated polypeptide comprising X_6 - X_7 - X_8 - X_9 - X_{10} , wherein binding of a ligand to the polypeptide on activated T-cells induces death of the cells, and

X_6 is Asp;
 X_7 is Tyr, Met, Asn, Trp, or Phe;
 X_8 is Phe or Leu;
 X_9 is Pro; and
 X_{10} is Glu.

20. The polypeptide of claim 19, wherein the polypeptide is 5 to 1500 amino acids in length.

21. The polypeptide of claim 20, wherein the polypeptide is 5 to 150 amino acids in length.

22. The polypeptide of claim 21, wherein the polypeptide is 5 to 15 amino acids in length.

23. The polypeptide of claim 19, wherein the polypeptide is selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 14-18.

24. The polypeptide of claim 19, wherein the polypeptide is X_6 - X_7 - X_8 - X_9 - X_{10} .

25. An antibody that binds to an epitope having the three-dimensional conformation of claim 18 and induces death of activated T-cells.
26. The antibody of claim 25, wherein the antibody is monoclonal.
27. A method of producing an antibody, the method comprising administering to a subject an effective amount of an epitope having the three-dimensional conformation of claim 18.
28. A method of identifying a candidate compound for inducing death of activated T-cells, the method comprising contacting a compound with an epitope having the three-dimensional conformation of claim 18, wherein binding of the compound to the epitope indicates that the compound is a candidate for inducing death of activated T-cells.
29. The method of claim 28, wherein the compound is an antibody.
30. The method of claim 29, wherein the compound is a monoclonal antibody.
31. A method of inducing death of activated T-cells, the method comprising contacting activated T-cells with the antibody of claim 25.
32. A pharmaceutical composition, comprising an epitope having the three-dimensional conformation of claim 18 and a pharmaceutically acceptable carrier.
33. A pharmaceutical composition, comprising the polypeptide of claim 19 and a pharmaceutically acceptable carrier.
34. A pharmaceutical composition, comprising the antibody of claim 25 and a pharmaceutically acceptable carrier.

35. A three-dimensional conformation of an isolated epitope represented by X_{11} - X_{12} - X_{13} - X_{14} , wherein binding of a ligand to the epitope on activated T-cells induces death of the cells, and

X_{11} is Pro;

X_{12} is Met;

X_{13} is Glu or Ser; and

X_{14} is Ile.

36. An isolated polypeptide comprising X_{11} - X_{12} - X_{13} - X_{14} , wherein binding of a ligand to the polypeptide on activated T-cells induces death of the cells, and

X_{11} is Pro;

X_{12} is Met;

X_{13} is Glu or Ser; and

X_{14} is Ile.

37. The polypeptide of claim 36, wherein the polypeptide is 4 to 1500 amino acids in length.

38. The polypeptide of claim 37, wherein the polypeptide is 4 to 150 amino acids in length.

39. The polypeptide of claim 38, wherein the polypeptide is 4 to 15 amino acids in length.

40. The polypeptide of claim 36, wherein the polypeptide is selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 20-22.

41. The polypeptide of claim 36, wherein the polypeptide is X_{11} - X_{12} - X_{13} - X_{14} .

42. An antibody that binds to an epitope having the three-dimensional conformation of claim 35 and induces death of activated T-cells.

43. The antibody of claim 44, wherein the antibody is monoclonal.
44. A method of producing an antibody, the method comprising administering to a subject an effective amount of an epitope having the three-dimensional conformation of claim 35.
45. A method of identifying a candidate compound for inducing death of activated T-cells, the method comprising contacting a compound with an epitope having the three-dimensional conformation of claim 35, wherein binding of the compound to the epitope indicates that the compound is a candidate for inducing death of activated T-cells.
46. The method of claim 45, wherein the compound is an antibody.
47. The method of claim 46, wherein the compound is a monoclonal antibody.
48. A method of inducing death of activated T-cells, the method comprising contacting activated T-cells with the antibody of claim 42.
49. A pharmaceutical composition, comprising an epitope having the three-dimensional conformation of claim 35 and a pharmaceutically acceptable carrier.
50. A pharmaceutical composition, comprising the polypeptide of claim 36 and a pharmaceutically acceptable carrier.
51. A pharmaceutical composition, comprising the antibody of claim 42 and a pharmaceutically acceptable carrier.

EPITOPOS INDUCTORES DE MUERTE DE CELULAS-T

SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reclama prioridad para la Solicitud Provisional US serie No 60/570,161 presentada en mayo 11, 2004, los contenidos de la cual están incorporados por referencia en su integridad .

ANTECEDENTES

El control de respuestas inmunes no deseadas es crítico en el tratamiento de enfermedades autoinmunes, rechazo de trasplantes, enfermedades alérgicas, cánceres derivados de células T. La actividad de células-T súper agresivas puede ser contenida por inmuno supresión o por la inducción de tolerancia inmunológica. La apoptosis se considera que está involucrada en el mantenimiento de funciones apropiadas del sistema inmune y la remoción de células no deseadas , tales como las células T súper agresivas (Kabelitz et al. (1993) Immunol Today 14, 338-340; y Raff (1992) Nature 356, 397-399).

RESUMEN

Esta invención se relaciona con epitopos que inducen la muerte de células T. Los epitopos pueden ser usados para, entre otros, seleccionar compuestos que se fijan a los epitopos. Tales compuestos son útiles en el tratamiento de enfermedades que involucran células T-súper agresivas. Ejemplos de tales enfermedades incluyen las enfermedades inmunes, el rechazo de trasplantes, enfermedades alérgicas y cánceres derivados de células T. En un aspecto, la invención incluye una conformación tridimensional de un epitopo aislado. La

fijación de un ligando al epitopo sobre una célula-T induce la muerte de las células. Tal epitopo esta representado por:

(1) X1-X2-X3-X4-X5 (SEQ ID NO:1) donde

X1 es Tyr, Trp, His, o Met;

X2 es Asp;

X3 es Ser, Phe, Pro, Glu, o His;

X4 es cualquier amino ácido que se presenta naturalmente en los animales;

Y X5 es Pro, Tyr, His, o Tip;

(2) X6-X7-X8-X9-X10 (SEQ ID NO:2), donde

X6 es Asp;

X7 es Tyr; Met, Asn, Tip, o Phe;

X8 es Phe o Leu;

X9 es Pro; y X10 es Glu; o

(3) X11-X12-X13-X14 (SEQ ID NO:3), donde X11 es Pro;

X12 es Met;

X13 es Glu o Ser; y

X14 es He.

Cualquiera de los epitopos descritos antes pueden ser, por ejemplo un polipéptido, una región interactiva de dos polipéptidos, un moiety de carbohidrato, una glicoproteína, o cualquier conformacional, equivalente funcional de ellos. En otro aspecto, la invención muestra un polipéptido aislado que contiene X1-X2-X3-X4-X5, X6-X7-X8-X9-X10, o X11-X12-X13-X14. La fijación a un ligando al polipéptido sobre una célula T induce la muerte de las células. En una incorporación, el polipéptido contiene 4 a 400 amino ácidos (por ejemplo, un entero ente 4 y 400, inclusive)

Por ejemplo, el polipéptido puede ser Xi-X2-X3-X4-X5 (SEQ ID NO:1), X6-X7-X8-X9-X10 (SEQ ID NO:2), X11-X12-X13-X14 (SEQ ID NO:3), o cualquier de las SEQ ID Nos: 4, 6-18, y 20-22.

Un "epitopo aislado" o un "polipéptido aislado" hace relación a un epitopo o un polipéptido sustancialmente libre de moléculas naturalmente asociadas, es decir, es al menos 75 % (por ejemplo, cualquier número entre 75 % y 100%, inclusive) puro en peso seco. La pureza puede ser medida por cualquier método estándar, por ejemplo, por cromatografía de columna, electroforesis de gel de poliacrilamina, o análisis HPLC. Un epitopo o polipéptido aislado de la invención puede ser purificado de una fuente natural, producido por técnicas de DNA recombinado, o por métodos químicos.

En todavía otro aspecto, la invención muestra un compuesto novedoso que se fija a uno de los epitopos descritos arriba. El compuesto puede ser cualquier clase de molécula, incluyendo anticuerpos tales como los anticuerpos monoclonales. Un compuesto de la invención puede ser usado para detectar un epitopo de la invención y para inducir la muerte de células T activadas.

También dentro del alcance de la invención está un método para producir anticuerpos. El método incluye la administración a un individuo de una cantidad efectiva de uno de los epitopos descritos antes (por ejemplo, polipéptidos). Los anticuerpos pueden ser empleados para detectar un epitopo de la invención o para inducir la muerte de células T activadas.

La invención también muestra un método para identificar un compuesto candidato (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal) para inducir la muerte de células-T activadas. El método conlleva poner en contacto un compuesto de prueba con un epitopo de la invención y determinar si el compuesto de prueba se fija al epitopo.

Si el compuesto de prueba se fija al epitopo, es un candidato para inducir la muerte de células-T activadas.

La invención muestra además un método para inducir la muerte de células -T activadas mediante el contacto de células-T activadas con un compuesto de la invención.

En otro aspecto adicional, la invención muestra una composición farmacéutica que contiene un vehículo farmacéuticamente aceptable y (1) un epitopo de la invención tal como un polipéptido, o (2) un compuesto que se fija al epitopo.

La invención provee compuestos y métodos para tratar enfermedades que involucran células -T súper agresivas tales como enfermedades autoinmunes rechazó de trasplante, enfermedades alérgicas, y cánceres derivados de células T. Los detalles de una o mas incorporaciones de la invención son establecidos en la descripción que acompaña éste a continuación. Otros rasgos, objetivos, y ventajas de la invención serán aparentes de la descripción detallada..

DESCRIPCION DETALLADA

La invención esta basada en el descubrimiento no esperado de que a las células-T activadas se les puede inducir apoptosis y ser agotadas por su enlace con nuevos epitopos inductores de la muerte de células-T . El agotamiento de las células-T activadas es particularmente útil para el tratamiento de condiciones asociadas con una excesiva o no deseada respuesta inmune mediada por células T o proliferación de células T.

Por ejemplo , el agotamiento de células T activadas puede resultar en una reducción o eliminación de una actividad de células T indeseable o de proliferación

asociada a una enfermedad autoinmune, rechazo de trasplante, enfermedades alérgicas, o cánceres derivados de células-T.

Concordantemente, la invención muestra una conformación tridimensional de un epitopo aislado. La fijación a un ligando al epitopo sobre una célula-T activada induce la muerte de las células. El epitopo está representado por x1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10, o X11-X12-X13-X14. La conformación tridimensional de X1-X2-X3-X4-X5, X6-X7-X8-X9-X10, o X11-X12-X13-X14 puede ser determinada, por ejemplo, usando programas de modelación por computador como se describe en Dungan et al., (1995) J Med Chem, 38:3332-41 y Toogood (2002) J Med Chem 45: 1543-57. Epitopos conformacionales, equivalentes funcionales pueden ser diseñados de acuerdo con la conformación tridimensional de X1-X2-X3-X4-X5, X6-X7-X8-X9-X10, o X11-X12-X13-X14, preparados usando métodos conocidos en el arte, y probados para su capacidad para estar involucrados en la inducción de muerte a células-T activadas por métodos tal como los descritos en el ejemplo de abajo. Ver, por ejemplo, Brabas et al. (2001) Phage Display. A laboratory manual. CSHL Press; Parmeley et al. (1998) Gene 73, 305 -318; Scott et al. (1990) Science 249, 386-390; Solicitud de Patente No 20030049252 AI; WO 03/013603; Osborne (1996) Curr Opin Immunol 8:245-248; Lin et al. (1997) J. Immunol. 158, 589-603; Zhang et al. (1995) Nature 377, 348-350; Lai et al (1995) Eur J Immunol 25, 3243-3248; Mollereau et al. (1996) J Immunol 156, 3184-3190; and Gribben et al. (1995) Proc Natl Acad Sci USA 92, 811-815.

Como es empleado aquí, una "célula-T activada" es una célula-T que tiene una frecuencia mas alta, tasa, o extensión de proliferación que otra célula -T no activada. " Muerte" de un célula incluye la muerte programada de la célula, es decir, apoptosis. " Inducción de la muerte de una célula" por un agente ocurre cuando una población de células tratadas con el agente exhibe una mas alta tasa de muerte comparada con una población de células no tratadas. Por ejemplo, el

porcentaje de células-T activadas in vitro que sufren apoptosis es cerca del doble cuando son tratadas con los anticuerpos monoclonales m128-9F9, m152-15A7, o m166-43B6 comparado al de células no tratadas, como se establece mediante manchado de anexina V y análisis FACS (ver el ejemplo de abajo).

La invención también muestra un polipéptido aislado que contiene X1-X2-X3-X4-X5, X6-X7-X8-X9-X10, o X11-X12-X13-X14. El polipéptido puede ser usado para identificar compuestos que inducen la muerte de células-T activadas. La fijación de tales compuestos al polipéptido expresado sobre la superficie de una célula-T induce la muerte de la célula. Además, polipéptidos libres (es decir, esos no expresados en la superficie de la célula) pueden inhibir la muerte de células no deseada al competir por los ligando inductores de muerte endógenos con los polipéptidos de la superficie de la célula. La longitud o secuencia del polipéptido puede variar para estos usos. Un polipéptido de la invención puede ser obtenido, por ejemplo, como una proteína de superficie de célula T aislada, un polipéptido sintético, un ácido nucleico que lo codifica puede ser unido a otro ácido nucleico que codifica una función social, por ejemplo, Glutathione-S-Transferasa (GST), etiqueta de 6x-His epitopo, o M13 Gen 3 proteína. El ácido nucleico de fusión resultante expresa en células anfitrionas adecuadas una proteína de fusión que puede ser aislada por métodos estándar. La proteína de fusión aislada puede ser tratada adicionalmente, por ejemplo, por digestión enzimática , para remover el socio de fusión y obtener el polipéptido recombinado de la invención.

Un epitopo de la invención o un polipéptido de la invención puede ser usado para generar anticuerpos en animales (para la producción de anticuerpos) o humanos (para el tratamiento de enfermedades). Métodos para hacer anticuerpos monoclonales y policlonales y fragmentos de ellos en animales son conocidos en el arte. Ver, por ejemplo, Harlow and Lane, (1988) Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York. El término "anticuerpo" incluye

moléculas intactas así como fragmentos de ellas, tales como Fab, F(ab')₂, Fv, scFv (anticuerpos de cadena simple), y dAb (domain antibody; Ward, et. al. (1989) Nature, 341, 544). Estos anticuerpos pueden ser usados para detectar el epitopo, por ejemplo, identificando un compuesto que se fija al epitopo (ver abajo). Los anticuerpos que son capaces de inducir la muerte de células T activadas son también útiles en el tratamiento de enfermedades como las enfermedades inmunes, el rechazo de trasplantes, enfermedades alérgicas y cánceres derivados de células T. En general, un epitopo de la invención, por ejemplo, un polipéptido, pueden ser acoplado a una proteína vehículo, tal como KLH, mezclado con un adyuvante, e inyectada dentro de un animal anfitrión.

Los anticuerpos producidos en ese animal pueden ser purificados por cromatografía de afinidad de péptido. Los animales anfitriones comúnmente utilizados incluyen conejos, ratones, cerdos de guinea, y ratas. Los varios adyuvantes que pueden ser usados para incrementar la respuesta inmunológica dependen de las especies anfitrionas e incluyen adyuvante de Freund (completo e incompleto), geles minerales tales como hidróxido de aluminio, sustancias activas superficialmente tales como lisolecitina, poliols plurónicos, polianiones, péptidos, emulsiones de aceite, keyhole limpet, hemocianina, y dinitrofenol. Los adyuvantes humanos útiles incluyen BCG(bacilo Calmette-Guerin) y *Corynebacterium parvum*.

Los anticuerpos policlonales, poblaciones heterogéneas de moléculas de anticuerpos, están presentes en el suero de los sujetos inmunizados. Los anticuerpos monoclonales, poblaciones homogéneas de anticuerpos para un antígeno en particular, pueden ser preparados usando tecnología de hibridoma estándar (ver, por ejemplo, Kohler et al. (1975) Nature 256, 495; Kohler et al. (1976) Eur J Immunol 6, 511; Kohler et al. (1976) Eur J Immunol 6, 292; y Hammerling et al. (1981) Monoclonal Antibodies and T Cell

Hybridomas, Elsevier, N. Y). En particular, los anticuerpos monoclonales pueden ser obtenidos por cualquier técnica que permita la producción de moléculas de anticuerpos mediante líneas de células continuas en cultivo tal como se describe en Kohler et al. (1975) Nature 256, 495 and U.S. Patent No. 4,376,110; the human B-cell hybridoma technique (Kosbor et al. (1983) Immunol Today 4, 72; Cole et al. (1983) Proc Natl Acad Sci USA 80, 2026, and the EBV-hybridoma technique (Cole et al. (1983) Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96). Tales anticuerpos pueden ser de cualquier clase de inmunoglobulina incluyendo IgG, IgM, IgE, IgA, IgD y cualquier subclase de ellas. El hibridoma que produce los anticuerpos monoclonales de la invención puede ser cultivado in vitro o in vivo. La habilidad para producir altas concentraciones de anticuerpos monoclonales in vivo lo hace un método particularmente útil de producción.

Adicionalmente, técnicas desarrolladas para la producción de "anticuerpos quiméricos" pueden ser usadas. Ver, por ejemplo, Morrison et al. (1984) Proc Natl Acad Sci USA 81, 6851 ; Neuberger et al. (1984) Nature 312, 604; and Takeda et al. (1984) Nature 314:452. Un anticuerpo quimérico es una molécula en la cual diferentes partes son derivadas de diferentes especies de animales, tales como esas que tienen un región variable derivada de un anticuerpo monoclonal murino y un región constante de inmunoglobulina humana. Alternativamente, las técnicas descritas para la producción de anticuerpos de cadena simple (Patente US Nos 4,946,778 y 4,704,692) pueden ser adaptadas para producir una biblioteca de fagos de anticuerpos Fv de cadena sencilla. Los anticuerpos de cadena sencilla son formados uniendo los fragmentos de cadena pesada y ligera de la región Fv a través de un puente amino ácido. Mas aún, los fragmentos de anticuerpos pueden ser generados por técnicas conocidas. Por ejemplo, tales fragmentos incluyen, pero no se limitan a, fragmentos $F(ab')_2$ que pueden ser producidos por digestión de pepsina de una molécula de anticuerpo, y fragmentos Fab que pueden ser generados mediante la reducción de los puentes disulfuro de fragmentos $F(ab')_2$.

Los anticuerpos pueden también ser humanizados por métodos conocidos en el arte. Por ejemplo, anticuerpos monoclonales con una especificidad fijadora deseada pueden ser humanizados comercialmente (Scotgene, Scotland; y Oxford Molecular, Palo Alto, Calif). Anticuerpos humanizados completamente, tales como esos expresados en animales transgénicos son también rasgos de la invención (ver, por ejemplo, Green et al. (1994) *Nature Genetics* 7, 13; and U.S. Patent Nos. 5,545,806 and 5,569,825).

La invención muestra además un compuesto novedoso que se fija a un epitopo de la invención e induce la muerte de células T activadas. Tal compuesto puede ser diseñado, esto es, usando programas de modelación por computador, de acuerdo con la conformación tridimensional del epitopo, y sintetizando usando métodos conocidos en el arte. Puede también ser identificado por inspección de bibliotecas como se describe abajo.

Los compuestos de prueba pueden ser obtenidos usando cualquiera de las numerosas aproximaciones en métodos de bibliotecas combinadas conocidos en el arte. Tales bibliotecas incluyen: bibliotecas de péptidos, bibliotecas péptoides (bibliotecas de moléculas que tienen las funcionalidades de los péptidos, pero con una novedosa, columna no-péptida que es resistente a degradación enzimática), bibliotecas de fase sólida paralela direccionable espacialmente o de fase de solución, bibliotecas sintéticas obtenidas por selección de deconvolución o cromatografía de afinidad, las bibliotecas "una-cuenta un-compuesto" , y bibliotecas de anticuerpos: Ver, por ejemplo, Zuckermann et al. (1994) *J Med Chem* 37, 2678-85; Lam (1997) *Anticancer Drug Des* 12, 145; Lam et al. (1991) *Nature* 354, 82; Houghten et al. (1991) *Nature* 354, 84; and Songyang et al. (1993) *Cell* 72, 767.

Ejemplos de métodos para la síntesis de bibliotecas moleculares pueden ser encontrados en el arte, por ejemplo, en: DeWitt et al. (1993) *PNAS USA* 90, 6909;

Erb et al. (1994) PNAS USA 91, 11422; Zuckermann et al. (1994) J Med Chem 37, 2678; Cho et al. (1993) Science 261, 1303; Carrell et al. (1994) Angew Chem Int Ed Engl 33, 2059; Carrell et al. (1994) Angew Chem Int Ed Engl 33, 2061; and Gallop et al. (1994) J Med Chem 37,1233.

Bibliotecas de compuestos pueden ser presentadas en solución (por ejemplo, Houghten (1992) Biotechniques 13, 412-421), or on beads (Lam (1991) Nature 354, 82-84), chips (Fodor (1993) Nature 364, 555-556), bacteria (U.S. Patent No. 5,223,409), spores (U.S. Patent No. 5,223,409), plasmids (Cull et al. (1992) PNAS USA 89, 1865-1869), or phages (Scott and Smith (1990) Science 249, 386-390; Devlin (1990) Science 249, 404-406; Cwirla et al. (1990) PNAS USA 87, 6378-6382; Felici (1991) J Mol Biol 222, 301-310; and U.S. Patent No. 5,223,409).

Para identificar un compuesto candidato para inducir la muerte de células-T activadas, un epitopo de la invención es puesto en contacto con un compuesto de prueba, y la fijación del compuesto al epitopo es evaluada. Si el compuesto se fija al epitopo, es un candidato para inducir la muerte a células-T activadas.

La prueba de selección puede ser conducida en una variedad de formas. Por ejemplo, un método envuelve el anclaje del epitopo (o una molécula que contiene un epitopo, por ejemplo, un polipéptido o una proteína de fusión) o el compuesto de prueba sobre una fase sólida y registrando que un complejo epitopo-compuesto de prueba es formado sobre la fase sólida al final de la reacción. En la práctica, platos microtiter pueden ser convenientemente utilizados como la fase sólida. El componente ancla puede ser inmovilizado mediante fijaciones no-covalentes o covalentes. Las fijaciones no-covalentes pueden ser logradas simplemente cubriendo la superficie sólida con una solución del componente ancla y secando los platos. Alternativamente, un anticuerpo inmovilizado (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal) específico para el componente ancla puede ser usado

para inmovilizar el componente ancla a la superficie sólida. El componente no-ancla es adicionado a la superficie sólida cubierta con el componente ancla. Después de que la reacción se ha completado, la fracción no pegada del componente no-ancla es removida (por ejemplo, por lavado) bajo condiciones tales que cualquier complejo formado permanece inmovilizado sobre la superficie sólida. La detección de estos complejos puede ser realizada de numerosas maneras. Cuando el componente no-ancla es pre-marcado, la detección del inmovilizado marcado sobre la superficie sólida indica que el complejo se formó. Donde el componente no-ancla no es pre-marcado, un marcador indirecto puede ser usado para detectar los complejos formados sobre la superficie, por ejemplo, usando un anticuerpo específico para el componente no-ancla (el anticuerpo, en turno, puede ser directamente marcado o indirectamente marcado con un anticuerpo anti-Ig marcado).

Alternativamente la reacción puede ser realizada en una fase líquida. Los complejos son separados de los compuestos no pegados, por ejemplo, usando un anticuerpo inmovilizado específico para el epitopo (o la molécula que contiene el epitopo) o el compuesto de prueba. Los complejos son luego detectados, por ejemplo, usando un anticuerpo marcado específico para el otro componente.

El compuesto candidato puede ser validado mediante la verificación de su habilidad para inducir la muerte de células-T activadas usando el método descrito en el ejemplo de abajo, o cualquier otro método conocido en el arte. El compuesto validado puede ser usado para inducir la muerte de células T y para tratar enfermedades tales como enfermedades autoinmunes, rechazo de trasplantes, enfermedades alérgicas, cánceres derivados de células T.

La invención proporciona un método para inducir la muerte de células-T activadas, por ejemplo, mediante el contacto de las células -T activadas con un compuesto

de la invención in vitro, o mediante la administración a un sujeto en necesidad de él de una cantidad efectiva del compuesto de la invención. Los individuos a ser tratados pueden ser identificados como aquellos que tienen o están en riesgo de adquirir una condición caracterizada por una respuesta inmune mediada con un exceso de, o con células T no deseadas, por ejemplo, pacientes que sufren de enfermedades autoinmunes, rechazo de trasplantes, enfermedades alérgicas, cánceres derivados de células T. Este método puede ser aplicado solo o en conjunción con otras drogas o terapias.

El término "tratamiento" es definido como la administración de una composición a un individuo con el propósito de cura, alivio, liberación, remedio, prevención o aminoramiento de un desorden, el síntoma del desorden, el estado de enfermedad secundario al desorden, o la predisposición hacia el desorden. Una "cantidad efectiva" es una cantidad de la composición que es capaz de producir resultados médicamente deseables, por ejemplo, como se describió antes, en un individuo tratado.

Enfermedades de ejemplo para ser tratadas incluyen, pero no se limitan a, diabetes melitos, artritis (incluyendo artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, osteoartritis y artritis soriatica) , múltiple esclerosis, encéfalomiелitis, miastenia gravis, lupus eritomatoso sistémico, tiroiditis autoinmune, dermatitis (incluyendo dermatitis atópica y dermatitis eczematosa), soriasis, síndrome de Sjogren, enfermedad de Crohn, úlcera aftosa, iritis, conjuntivitis, keratoconjuntivitis, diabetes tipo I, enfermedades de inflamación del intestino, colitis ulcerativa, asma, asma alérgica, lupus eritomatoso cutáneo, escleroma, vaginitis, proctitis, erupciones de droga, reacciones reversas de lepra, eritema nodosum leprosum, uveitis autoinmune, encéfalomiелitis alérgica, encefalopatía hemorrágica necrotizante aguda, pérdida de audición sensorineural progresiva bilateral idiopática, anemia aplástica, anemia de glóbulos rojos, trombocitopenia idiopática,

policondritis, granulomatosis de Wegners, hepatitis activa crónica, síndrome de Stevens-Johnson, sprue idiopático, lichen planus, enfermedad de Grave, sarcoidosis, cirrosis biliar primaria, uveítis posterior, fibrosis de pulmón intersticial, enfermedad de injerto versus anfitrión, casos de trasplantes (incluyendo trasplantes usando tejidos alogénicos o xenogénicos) tal como el trasplante de médula, trasplante de hígado, o el trasplantes de cualquier órgano o tejido , alergias tal como alergia atópica, AIDS, y neoplasmas de células T tales como leucemias o linfomas.

En una aproximación in vivo, una composición terapéutica (por ejemplo, una composición que contiene un epitopo de la invención, un polipéptido de la invención, o un compuesto de la invención) es administrado a un individuo. Generalmente, el epitopo, el polipéptido, o el compuesto es suspendido en un vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, solución salina fisiológica) y administrado oralmente o por infusión intravenosa, o inyectado o implantado subcutáneamente, intramuscularmente, intratecalmente, intraperitonealmente, intrarectalmente, intravaginalmente, intranasalmente, intragástricamente, intratraquea o intrapulmonarmente.

La dosis requerida depende de la ruta de administración escogida; la naturaleza de la formulación; la naturaleza de la enfermedad del individuo; el tamaño del individuo, peso, área superficial, edad, y sexo; otras drogas que estén siendo administradas ; y el juicio del médico que lo atiende. Las dosis adecuadas están en el rango de 0.01-100.0 mg/kg. Amplias variaciones en la dosis requerida deben ser esperadas en vista de la variedad de compuestos disponibles y las diferentes eficiencias de las rutas de administración. Por ejemplo, la administración oral se esperaría que requiera de mas altas dosis que la administración por inyección intravenosa. La variaciones en estos niveles de dosificación pueden ser ajustadas usando rutinas empiricas estándar para optimización como es bien entendido en el

arte. La encapsulación del compuesto en un vehículo adecuado (por ejemplo, micro partículas poliméricas o dispositivos implantables) puede incrementar la eficiencia del suministro, especialmente para el uso oral.

También dentro del objeto de la invención esta una composición farmacéutica que contiene un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad efectiva del compuesto de la invención. La composición farmacéutica puede ser usada para tratar las enfermedades descritas arriba. El vehículo farmacéuticamente aceptable incluye, un solvente, un medio de dispersión, un recubrimiento, un agente antibacterial y anti-hongos, y un agente isotónico y retardador de absorción.

La composición farmacéutica de la invención puede ser formulada en formas de dosificación para diferentes vías de administración utilizando métodos convencionales. Por ejemplo, puede ser formulada en una cápsula, un sello de gel, o una tableta para administración oral. Las cápsulas pueden contener cualquier material farmacéuticamente aceptable tales como gelatina o celulosa. Las tabletas pueden ser formuladas de acuerdo con procedimientos convencionales mediante la compresión de mezclas de la composición con un vehículo sólido y un lubricante. Ejemplos de vehículos sólidos incluyen almidón y bentonita azucarada. La composición puede también ser administrada en la forma de una tableta de cubierta dura o un cápsula que contiene un aglutinante, por ejemplo, lactosa o manitol, un llenante convencional, o un agente para facilitar la preparación de tabletas. La composición farmacéutica puede ser administrada por la vía parenteral. Ejemplos de las dosificaciones de las formas parenterales incluyen soluciones acuosas, solución salina isotónica o 5% glucosa del agente activo, u otro excipiente aceptable farmacéuticamente bien conocido. Ciclodextrinas, u otros agentes solubilizantes bien conocidos a aquellos familiarizados con el arte, pueden ser utilizados como excipientes farmacéuticos para llevar el agente terapéutico.

La eficacia de una composición de esta invención puede ser evaluada in vitro o in vivo. Ver, por ejemplo, los ejemplos de abajo. Brevemente, la capacidad de la composición puede ser probada para establecer su habilidad para inducir la muerte de las células-T activadas in vitro. Para los estudios in vivo, la composición puede ser inyectada dentro de un animal (por ejemplo un ratón muestra) y sus efectos terapéuticos son luego establecidos. Basado en los resultados, un rango de dosificación apropiado y una vía de administración puede ser determinada.

El ejemplo específico de abajo debe ser considerado como meramente ilustrativo, y no limitante del resto del descubrimiento en ninguna forma. Sin mayor elaboración adicional, se cree que una persona hábil en el arte puede, basado en las descripciones aquí incluidas, utilizar la presente invención en su alcance pleno. Todas las publicaciones mencionadas aquí son aquí incorporadas por referencia en su integridad.

Preparación de una suspensión de células de bazo de ratón.

Bazo de ratón fue inmerso en 8 ml de solución de sal balanceada de Hank (HBSS), suavemente molido con una cubre objetos estéril, trasferido a un tubo de centrifuga de 15 ml (Coastar), y girado a 200 x g durante 15 minutos. El flotante fue removido, y la pelotita de célula fue resuspendida en una solución amortiguadora residual golpeando suavemente la pared. Las células de sangre rojas contaminantes (RBC) fueron lisadas por la adición de 1 ml de amortiguador de lisis RBC (0.6 M NH_4Cl , 0.17 M tris-base, pH 7.65), seguido de una incubación durante 2 minutos a temperatura ambiente y un rápido apagado con 9 ml de HBSS. Las células fueron convertidas en pellets a 200xg durante 5 minutos, lavadas dos veces y resuspendidas en un medio RPMI. La concentración y viabilidad las células en la mezcla fueron determinados con un hematocitometro (Cambridge Scientific Inc) y exclusión azul de Trypan.

Preparación de anti células-T, anticuerpos monoclonales inductores de apoptosis

Anticuerpos monoclonales inductores de apoptosis de células -T fueron generados mediante la inmunización de un ratón con células-T humanas Concanavalin activadas y seleccionadas por su capacidad para fijarse a células-T humanas activadas e inducir subsecuentemente la apoptosis de células-T. Los anticuerpos monoclonales fueron preparados de acuerdo a los métodos bien conocidos de fusión de células de Kohler y Milstein ((1976) Euro J Immunol 6, 511-519) para producir un hibridoma que secreta los anticuerpos deseados. Tres hibridomas generados de acuerdo a estos métodos secretaron anticuerpos monoclonales, designados m128-9F9, m152-15A7, y m166-43B6 respectivamente, que fueron capaces de inducir apoptosis de células-T in vitro.

El supernadante de cultivo concentrado de cada hibridoma fue girado a 20000 x g durante 10 minutos, y el supernadante fue diluido en una relación 1:1 con la solución amortiguadora fijadora (0.1 M acetato de sodio, pH 5.0). Una columna G de proteína (aproximadamente 1 ml de volumen de lecho) fue lavada tres veces con 3 – 5 ml de la solución amortiguadora fijadora. El supernadante de cultivo clarificado fue cargado en la columna G de proteína, y el flujo a través fue recogido y recargado en la columna. La columna fue luego lavada con 6 – 10 ml de solución amortiguadora fijadora y el anticuerpo fijado fue eluido de la columna con 5 ml de solución amortiguadora para elusión (0.1 M glicina-HCL, pH 2.8). Cada fracción contenía 1 ml del anticuerpo eluido, y la fracción eluida fue ajustada al pH neutro mezclando cada fracción de 1 ml con 50 microlitros de 1 M Tris-HCl, pH 7.5. Las fracciones que contenían el anticuerpo fueron unidas y dializadas contra de litros de PBS, pH 7.4 tres veces durante 4 horas por diálisis. Las concentraciones de proteínas en las muestras de anticuerpo fueron determinadas

siguiendo el procedimiento descrito por Bradford usando el Ensayo de Proteína Bio-Rad (BIO-RAD, Hercules, CA).

Inducción de la muerte de células T activadas por los anticuerpos monoclonales

Las células T activadas (ver arriba) fueron resuspendidas a una concentración final de 5×10^5 células/ml en medio RPMI que contiene 5 ng/ml de IL-2, y tratadas con Ig de control, m128-9F9, m152-15A7, o m166-43B6.

Es bien conocido que los anticuerpos inductores de muerte de células-T pueden ser usados como agentes terapéuticos para tratar enfermedades relacionadas a las células-T tales como rechazo de trasplante, enfermedades autoinmunes, y alergia. Tres anticuerpos monoclonales contra las células-T humanas fueron generados, y las capacidades de estos anticuerpos monoclonales para inducir apoptosis de las células-T humanas activadas fueron examinadas. Los supernadantes de cultivo que contienen anticuerpos monoclonales secretados por las líneas de células de hibridoma m128-9F9, m152-15A7, o m166-43B6 fueron incubados o con células-T no activadas humanas (día 0) o con células-T humanas activadas in vitro (día 7) durante 6 horas. Las células fueron manchadas con anexina V después de incubación, y sometidas a análisis FACS. Células CD-3 positivas fueron encerradas para asegurar el conteo de las células-T humano activadas in vitro o las células-T humanas en reposo. Las células apoptóticas fueron positivas al manchado de anexina V. La tabla 1 resume los porcentajes de células apoptóticas entre todas las células-T barridas. Inesperadamente, los anticuerpos monoclonales secretados por las líneas de células hibridoma m128-9F9, m152-15A7, y m166-43B6 indujeron muerte a las células-T humanas activadas in vitro pero no afectaron las células-T humanas no activadas. Esta capacidad de inducir apoptosis de las células-T activadas pero sin afectar las

células-T en reposo es un rasgo único de la trayectoria apoptótica y es el rasgo dominante de los reagentes terapéuticos enfocados a enfermedades mediadas por células-T.

Tabla 1 Porcentaje de Células-T apoptóticas

	No tratado	Anti-myc	M128- 9F9	No tratado	Anti-mye	m152- 15 A7	m166- 43B6
Día 0	4.17	6.67	5.82	18.18	15.52	5.23	6.57
Día 7	12.63	13.36	28.71	24.18	23.08	51.66	49.44

Identificación de epítopos inductores de muerte de células T

Para identificar los epítopos inductores de muerte de células-T reconocidos por los anticuerpos monoclonales m128-9F9, m152-15A7, y m166-43B6 estos anticuerpos monoclonales fueron usados para seleccionar por consenso las secuencias fijadoras en una biblioteca de polipéptido (Ph. D-12™ Phage Display Peptide Library Kit, New England Biolabs, Inc). La biblioteca contenía varios péptidos 12.mer unidos a la proteína 406-aa M13 Gene 3 . Platos microtiter de 96 columnas fueron cubiertos con anticuerpos 50 µl/columna a la concentración de 10 µg/ml en 0.1 M NaCO₃ (pH 8.6) de amortiguadora de recubrimiento de un día para otro a 4 °C. Después de el lavado, los platos fueron bloqueados por incubación con una solución amortiguadora bloqueante que contiene 0.1 M NaHCO₃ (pH 8.6), 5 mg/ml BSA, 0.02 % NaN₃ (150 µl/columna) por al menos una hora a 4 °C. Los platos fueron luego incubados con proteínas de fusión de las bibliotecas de fusión descritas antes en varias concentraciones durante una hora a temperatura ambiente. Después de lavado con 0.5 % Tween que contenía TBS, las proteínas de fusión fijadas fueron eluidas con 1 mg/ml BSA que contiene amortiguadora 0.2

M Glicina-HCl (pH 2.2) y neutralizada con 1 M Tris-HCl (pH 9.1). Las secuencias amino ácidas de las proteínas de fusión eluidas fueron luego determinadas.

Las secuencias de polipéptido fijadas por el anticuerpo monoclonal m128-9F9 son mostradas abajo:

WPEDSS <u>YDS</u> WPRG	SEQ ID NO: 4
LD <u>YDFL</u> PETEP	SEQ ID NO: 5
TAT <u>WDPDY</u> FSDS	SEQ ID NO: 6
AETD <u>YDPDH</u> FTPG	SEQ ID NO: 7
DARYSH <u>DPAW</u> PYG	SEQ ID NO: 8
AGQK <u>WDPEW</u> PHSG	SEQ ID NO: 9
EPN <u>MDPNW</u> ASPSG	SEQ ID NO: 10
KSH <u>YDES</u> WWYNGG	SEQ ID NO: 11
<u>YDHHW</u> TNPPTQK	SEQ ID NO: 12
<u>YDHHW</u> PRDDIAP	SEQ ID NO: 13

Una secuencia de polipéptido de consenso de X1-X2-X3-X4-X5 fue obtenida, donde X1= Y/W/H/M, X2= D, X3=S/F/P/E/H, X4= amino ácido, y X5=P/Y/H/W.

Las secuencias de polipéptido fijadas por los anticuerpos monoclonales m166-43B6 son mostradas en seguida:

QDTWYP <u>DYFPES</u>	SEQ ID NO: 14
SHTLLN <u>DMFPES</u>	SEQ ID NO: 15
SPLR <u>DNFPET</u> LW	SEQ ID NO: 16
ASPYM <u>DNFPEEN</u>	SEQ ID NO: 17
QLVQ <u>DWLPEESH</u>	SEQ ID NO: 18
YLDY <u>DFLPETEPP</u>	SEQ ID NO: 19

Una secuencia de polipéptido de consenso de X6-X7-X8-X9-X10 fue obtenida, donde X6= D, X7= Y/M/N/W/F, X8= F o L, X9=P, X10=E.

Las secuencias de polipéptido fijadas por los anticuerpos monoclonales m152-15A7 son mostradas en seguida:

YTPMP <u>PMEI</u> SHSA	SEQ ID NO: 20
MNDKYIP <u>PMSI</u> SA	SEQ ID NO: 21
KIPHKTLVP <u>PMEI</u>	SEQ ID NO: 22
TDSA <u>AAMEI</u> QTTQ	SEQ ID NO: 23

Una secuencia de polipéptido de consenso de X11-X12-X13-X14 fue obtenida, donde X11= P/A, X12= M, X13= E/S y X14 = I.

Ensayo de ELISA de los Epitopos inductores de muerte de células T reconocidos por los anticuerpos monoclonales

Para identificar las especificidades de los epitopos inductores de muerte reconocidos por los anticuerpos monoclonales descritos antes, el sandwich ELISA fue realizado. Diluciones en serie (de 0.0017 fmol a 17 fmol) de los polipéptidos que contienen el epitopo fueron incubadas con los anticuerpos monoclonales m128-9F9, m152-15A7, o m166-43B6 pre-extendidos sobre los platos de ELISA para determinar sus afinidades fijadoras.

Platos microtiter de 96 columnas fueron cubiertos con anticuerpos, 50 µl/columna, a una concentración de 1 µg/ml de un día para otro a 4 °C. Los platos fueron bloqueados por incubación con 0.25% de BSA en PBS (150 µl/columna) durante 1 hora a 37 °C. Los platos fueron luego incubados con proteínas de fusión que contenían varios polipéptidos durante 2 horas a temperatura ambiente. Después

de ser lavadas 4 veces con PBS que contenía 0.05% de Tween 20 (PBST), los platos fueron luego incubados con anticuerpos específicos para el socio de fusión a 2 µg/ml durante 1.5 horas a temperatura ambiente. Después de la incubación, los platos fueron lavados 4 veces con PBST. 50 µl de 1 a 3000 veces de anticuerpos socios anti-fusión de cabra específico diluidos conjugados con fosfatasa alcalina (AP) fueron luego adicionados a cada columna, y los platos fueron incubados durante una hora a 37 °C. La reacción de enzimas fue llevada a cabo mediante la adición de 50 µl de solución de sustrato de AP (1 tableta de sustrato de AP disuelta en 5 ml de amortiguadora sustrato). Los resultados confirmaron que todos los polipéptidos seleccionados se fijan específicamente a sus anticuerpos correspondientes usados para selección.

OTRAS INCORPORACIONES

Todos los rasgos descubiertos en esta especificación pueden ser combinados en cualquier combinación. Cada rasgo expuesto en esta especificación puede ser reemplazado por un rasgo alternativo que sirva el mismo, equivalente o similar propósito. Así, a menos que se exprese de otra manera, cada rasgo expuesto es solo un ejemplo de series genéricas de rasgos equivalentes o similares.

De la descripción anterior, una persona hábil en el arte puede fácilmente establecer las características esenciales de la presente invención, y sin apartarse del espíritu y alcance de ellas, puede hacer varios cambios y modificaciones de la invención para adaptarla a varios usos y condiciones. Así, otras incorporaciones están también dentro del alcance de la invención.

LO QUE SE REIVINDICADO ES

1. Una conformación tridimensional de un epitopo aislado representado por por:

X1-X2-X3-X4-X5 donde la fijación de un ligando al epitopo sobre las células-T activadas induce muerte de las células, y

X1 es Tyr, Tip, His, o Met;

X2 es Asp;

X3 es Ser, Phe, Pro, Glu, o His y

X4 es cualquier amino ácido; y X5 es Pro, Tyr, His, o Tip.

2. Un polipéptido aislado que comprende X1-X2-X3-X4-X5 donde la fijación de un ligando al polipéptido sobre las células-T activadas induce muerte de las células, y

X1 es Tyr, Tip, His, o Met;

X2 es Asp;

X3 es Ser, Phe, Pro, Glu, o His;

X4 es cualquier amino ácido; y

X5 es Pro, Tyr, His, o Tip.

3. El polipéptido de la reivindicación 2, donde el polipéptido es de una longitud de 5 a 1500 amino ácidos.

4. El polipéptido de la reivindicación 3, donde el polipéptido es de una longitud de 5 a 150 amino ácidos.

5. El polipéptido de la reivindicación 4, donde el polipéptido es de una longitud de 5 a 15 amino ácidos.

6. El polipéptido de la reivindicación 2, donde el polipéptido es seleccionado de un grupo consistente de SEQ ID Nos:4 y 6-13.7.
7. El polipéptido de la reivindicación 2, donde el polipéptido es X1-X2-X3-X4-X5.
8. Un anticuerpo que se fija a un epitopo que tiene la conformación tridimensional de la reivindicación 1 e induce la muerte de células T activadas.
9. El anticuerpo de la reivindicación 8, donde el anticuerpo es monoclonal.
10. Un método para producir un anticuerpo, el método comprende la administración a un individuo de una cantidad efectiva de un epitopo que tiene la conformación tridimensional de la reivindicación 1.
11. Un método para identificar un compuesto candidato para inducir la muerte de células-T activadas, el método incluye el poner en contacto un compuesto con un epitopo que tiene la conformación tridimensional de la reivindicación 1, donde la fijación del compuesto al epitopo indica que el compuesto es un candidato para inducir la muerte de células -T.
12. El método de la reivindicación 11, donde el compuesto es un anticuerpo.
13. El método de la reivindicación 12, donde el compuesto es un anticuerpo monoclonal.
14. Un método de inducir la muerte de células T activadas, el método comprende el poner en contacto las células -T activadas con el anticuerpo de la reivindicación 8.

15. Una composición farmacéutica que incluye un epitopo que tiene la conformación tridimensional de la reivindicación 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

16. Una composición farmacéutica que incluye el polipéptido de la reivindicación 2 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

17. Una composición farmacéutica que incluye el compuesto de la reivindicación 8 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

18. Una conformación tridimensional de un epitopo aislado representado por X6-X7-X8-X9-X10, donde la fijación de un ligando al epitopo sobre células-T activadas induce la muerte de las células, y

X6 es Asp;

X7 es Tyr, Met, Asn, Trp, o Phe;

X8 es Phe o Leu.

19. Un polipéptido aislado que incluye X6-X7-X8-X9-X10, donde la fijación de un ligando al polipéptido sobre células-T activadas induce la muerte de las células, y

X6 es Asp;

X7 es Tyr, Met, Asn, Trp, o Phe;

X8 es Phe o Leu;

X9 es Pro; y

X10 es Glu.

20. El polipéptido de la reivindicación 19, donde el polipéptido es de una longitud de 5 a 1500 amino ácidos.

21. El polipéptido de la reivindicación 20, donde el polipéptido es de una longitud de 5 a 150 amino ácidos.
22. El polipéptido de la reivindicación 21, donde el polipéptido es de una longitud de 5 a 15 amino ácidos.
23. El polipéptido de la reivindicación 19, donde el polipéptido es seleccionado de un grupo consistente de SEQ ID Nos: 14-18.
24. El polipéptido de la reivindicación 19, donde el polipéptido es X6-X7-X8-X9-X10.
25. Un anticuerpo que se fija a un epitopo que tiene la conformación tridimensional de la reivindicación 18 e induce la muerte de células T activadas.
26. El anticuerpo de la reivindicación 25, donde el anticuerpo es monoclonal.
27. Un método para producir un anticuerpo, el método comprende la administración a un individuo de una cantidad efectiva de un epitopo que tiene la conformación tridimensional de la reivindicación 18.
28. Un método para identificar un compuesto candidato para inducir la muerte de células-T activadas, el método incluye el poner en contacto un compuesto con un epitopo que tiene la conformación tridimensional de la reivindicación 18, donde la fijación del compuesto al epitopo indica que el compuesto es un candidato para inducir la muerte de células -T.
29. El método de la reivindicación 28, donde el compuesto es un anticuerpo.

30. El método de la reivindicación 29, donde el compuesto es un anticuerpo monoclonal.

31. Un método de inducir la muerte de células T activadas, el método comprende el poner en contacto las células -T activadas con el anticuerpo de la reivindicación 25.

32. Una composición farmacéutica que incluye un epitopo que tiene la conformación tridimensional de la reivindicación 18 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

33. Una composición farmacéutica que incluye el polipéptido de la reivindicación 19 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

34. Una composición farmacéutica que incluye el compuesto de la reivindicación 25 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

35. Una conformación tridimensional de un epitopo aislado representado por X11-X12-X13-X14, donde la fijación de un ligando al epitopo sobre células-T activadas induce la muerte de las células. y

X11 es Pro;

X12 es Met;

X13 es Glu o Ser; y

X14 es He.

36. Un polipéptido aislado que incluye X11-X12-X13-X14, donde la fijación de un ligando al polipéptido sobre células-T activadas induce la muerte de las células.
y

81
51

X11 es Pro;

X12 es Met;

X13 es Glu o Ser; y

X14 es He.

37. El polipéptido de la reivindicación 36, donde el polipéptido es de una longitud de 4 a 1500 amino ácidos.

38. El polipéptido de la reivindicación 37, donde el polipéptido es de una longitud de 4 a 150 amino ácidos.

39. El polipéptido de la reivindicación 38, donde el polipéptido es de una longitud de 4 a 15 amino ácidos.

40. El polipéptido de la reivindicación 36, donde el polipéptido es seleccionado de un grupo consistente de SEQ ID Nos: 20-22.

41. El polipéptido de la reivindicación 36, donde el polipéptido es X11-X12-X13-X14.

42. Un anticuerpo que se fija a un epitopo que tiene la conformación tridimensional de la reivindicación 35 e induce la muerte de células T activadas.

43. El anticuerpo de la reivindicación 44, donde el anticuerpo es monoclonal.

44. Un método para producir un anticuerpo, el método comprende la administración a un individuo de una cantidad efectiva de un epitopo que tiene la conformación tridimensional de la reivindicación 35.

52
52

45. Un método para identificar un compuesto candidato para inducir la muerte de células-T activadas, el método incluye el poner en contacto un compuesto con un epitopo que tiene la conformación tridimensional de la reivindicación 35, donde la fijación del compuesto al epitopo indica que el compuesto es un candidato para inducir la muerte de células -T.
46. El método de la reivindicación 45, donde el compuesto es un anticuerpo.
47. El método de la reivindicación 46, donde el compuesto es un anticuerpo monoclonal.
48. Un método de inducir la muerte de células T activadas, el método comprende el poner en contacto las células -T activadas con el anticuerpo de la reivindicación 42.
49. Una composición farmacéutica que incluye un epitopo que tiene la conformación tridimensional de la reivindicación 35 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
50. Una composición farmacéutica que incluye el polipéptido de la reivindicación 36 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
51. Una composición farmacéutica que incluye el anticuerpo de la reivindicación 42 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

273
53

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud: (30) Prioridad (31) 60/570,181 (32) 11/05/04 (33) US		(51) Int Cl: A61K 38/10 (71) Solicitante(s) ABGENOMICS CORPORATION (72) Inventor(es) RONGHWA LIN CHUNQIAN CHANG (74) Apoderado: EMILJO FERRERO	
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 11/12/2006 (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: 11/05/2005 No. de solicitud PCT/US2005/016441		(87) Publicación Internacional Fecha: 24/11/2005 N° publicación: WO 2005/110456 A2	
(54) Título: EPITOPOS INDUCTORES DE MUERTE DE CELULAS-T			

Reivindicación(es):

1. Una conformación tridimensional de un epitopo aislado representado por por: X1-X2-X3-X4-X5 donde la fijación de un ligando al epitopo sobre las células-T activadas induce muerte de las células, y

X1 es Tyr, Tlp, His, o Met;

X2 es Asp;

X3 es Ser, Phe, Pro, Glu, o His y

X4 es cualquier amino ácido; y X5 es Pro, Tyr, His, o Tlp.

2. Un polipéptido aislado que comprende X1-X2-X3-X4-X5 donde la fijación de un ligando al polipéptido sobre las células-T activadas induce muerte de las células, y

X1 es Tyr, Tlp, His, o Met;

X2 es Asp;

X3 es Ser, Phe, Pro, Glu, o His;

X4 es cualquier amino ácido; y

X5 es Pro, Tyr, His, o Tlp.

3. El polipéptido de la reivindicación 2, donde el polipéptido es de una longitud de 5 a 1500 amino ácidos.
4. El polipéptido de la reivindicación 3, donde el polipéptido es de una longitud de 5 a 150 amino ácidos.

5. El polipéptido de la reivindicación 4, donde el polipéptido es de una longitud de 5 a 15 amino ácidos.

6. El polipéptido de la reivindicación 2, donde el polipéptido es seleccionado de un grupo consistente de SEQ ID Nos:4 y 6-13.7.

7. El polipéptido de la reivindicación 2, donde el polipéptido es X1-X2-X3-X4-X5.

8. Un anticuerpo que se fija a un epitopo que tiene la conformación tridimensional de la reivindicación 1 e induce la muerte de células T activadas.

9. El anticuerpo de la reivindicación 8, donde el anticuerpo es monoclonal.

54.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

MIT : 800176089-2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-123232- 00000-0000
Fec: 2006-12-06 17:23:24 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tra: 11 PATENTE/II
Eve: 378 FASENACIONAL
Act: 411 PRESENTACION
F0804: 54

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 90,821
FECHA : NOVIEMBRE 27 DE 2006

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	59936393	27/11/2006	44,802,000.00

***** 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 :	463,000.00

SOM: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

COLO 15277 841 002 6

**REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT**

PATENTE DE INVENCION



MODELO DE UTILIDAD []

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

COMPLETA []

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 []

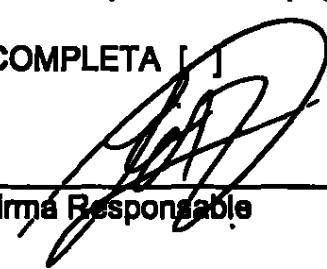
INCOMPLETA []

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

Fecha 06 DIC. 2006

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

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCI

Bogotá,
2020

Doctor(a)
FERRERO EMILIO
Apoderado(a) y/o Representante de
ABGENOMICS CORPORATION

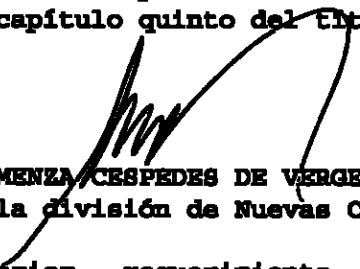
REFERENCIA	Radicación No.	06 123232
	Solicitud internacional	PCT/US2005/016441
	Fecha inicio fase nacional	11/12/2006
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	1498

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 Unica No.10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 02 FEB. 2007
adpa10