

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA Organización y Digitalización CSA Ltda



BT

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones



PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

EDIENTE No. 08-105786

LO "ANTICUERPOS QUE LIGAN PROTEÍNA TIROSINA
FOSFATASA HUMANA BETA (HPTP BETA) Y LOS
USOS DE ESTOS"

SIFICACIÓN INTERNACIONAL

ICITANTE THE PROCTER & GAMBLE COMPANY

VICILIO OHIO, ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

DERADO ALVARO CORREA-ORCHUEZ T.P. 20281

GOTÁ, D. C., 03 de OCTUBRE de 2008.

PETITORIO



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-105786-00000-0000

Fecha: 2008-10-03 16:50:54 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 378 FASENACIONAL
Act. 411 PRESENTACION Folios: 278

ción

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

7 Nov. 2008

1

SOLICITUD DE :

☒ X

Patente de Invención

☐

Patente de Modelo de Utilidad

☒ X

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: THE PROCTER & GAMBLE COMPANY

Dirección: One Procter & Gamble Plaza, Cincinnati, Ohio 45202,
Estados Unidos de América

Nacionalidad o Domicilio: Ohio, Estados Unidos de América

Lugar de Constitución: Estados Unidos de América

Teléfono:

Fax:

E-Mail

IDENTIFICACION

☐

☐

C.C.

NIT

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: ALVARO CORREA ORDOÑEZ

Dirección: Avenida 82 No.10-62 Piso 6

Teléfono: 634 1500

Fax: 376 2211

E-Mail: office.bogota@bakernet.com

IDENTIFICACION

C.C.

☒ X

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

79.143.366 de

Usaquén

TP 20.281

4

INVENTOR (ES)

(72)

Nombre: ROTELLO, Rocco, Jamie; PETERS, Kevin, Gene y DAVIS, Michael, Glen

Dirección: 2731 Wood Road, Lebanon, OH 45036, Estados Unidos de América, 10202 Sleepy Ridge Drive, Loveland, OH 45140, Estados Unidos de América y 655 Deer Run Trail, Lebanon, OH 45036, Estados Unidos de América, respectivamente

Nacionalidad o Domicilio: Estadounidenses

5 PCT (85)

Solicitud Internacional No. PCT/IB2007/051239

Fecha 05-ABR-07

Publicación Internacional No. WO/2007/116360

Fecha 18-OCT-07

6

Título (54)

ANTICUERPOS QUE LIGAN PROTEÍNA TIROSINA FOSFATASA HUMANA BETA (HPTPBETA) Y LOS USOS DE ÉSTOS

7

Clasificación Internacional (51)

C07K 16/40, A61K 39/395

8

Prioridad

SI ☒ X

NO ☐

(33) País de Origen

US

US

(32) Fecha

07-ABR-06

09-MAY-06

(31) Número de Solicitud

60/790,506

60/798,896

9

Comprobante de pago No.

08-74020

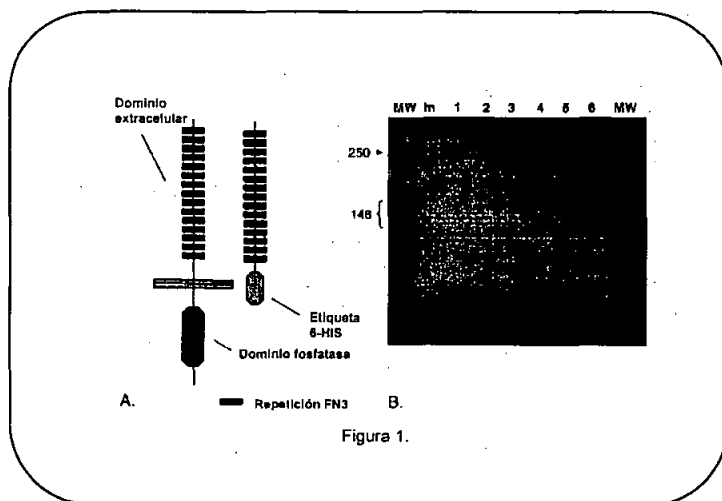
Fecha 16-SEP-2008

10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☒ 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 internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen preliminar (IPEA)
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12 x 12
- ☐ 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
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Varios solicitud internacional

11 FIGURA CARACTERÍSTICA



12 Solicito la concesión de la patente:

NOMBRE: ALVARO CORREA ORDONEZ

FIRMA:

C.I.C. 79.143.366 de Usaquén

T.P. 20/281

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-105786- -00000-0000

Fecha: 2008-10-03 16:50:54 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONAL
Act. 411 PRESENTACION Folios: 278

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 900170009-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : OB - 74,020
FECHA : SEPTIEMBRE 16 DE 2008

***** CONSIGNACION *****

ASISTANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
BAKER & MCKENZIE	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	042754387	96157574	16/09/2008	50,174,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	501,000.00
		TOTAL :	\$ 501,000.00

CON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

POD- 3941

TRADUCCIÓN OFICIAL N° 2807061 de un documento escrito en inglés efectuada el día 28 de julio de 2006 por Jaime Armando Garavito Burgos, c.c. N° 19.130.702 de Bogotá, Traductor Oficial según Resolución N° 034 de enero 11 de 1983 expedida por el Ministerio de Justicia

Poder otorgado por THE PROCTER & GAMBLE COMPANY

Texto en inglés y en español mediante el cual, **THE PROCTER & GAMBLE COMPANY** domiciliada en **One Procter & Gamble Plaza, Cincinnati, Ohio, 45202**, por el presente otorga poder a **ALVARO CORREA ORDOÑEZ y/o OLGA GEORGETTE OTERO y/o RICARDO METKE y/o JUAN PABLO CONCHA** de la firma Raisbeck, Lara, Rodríguez & Rueda, miembros de Baker & McKenzie, domiciliada en la Avenida 82 N° 10-62, piso 6, Bogotá, Colombia.

Dado y suscrito el 15 de mayo de 2006

(Firmado) Steven W. Miller

Steven W. Miller
 Steven W. Miller
 Attorney at Law
 1000 15th Street, N.W.
 Washington, D.C. 20004

CERTIFICACIÓN NOTARIAL. Texto en inglés y en español mediante el cual el suscrito Notario Diane M. Lang, certifica la existencia legal de la sociedad **THE PROCTER & GAMBLE COMPANY**, para efectos de lo cual se ha basado en:

Resolución de la Junta de fecha julio 28 de 2000.

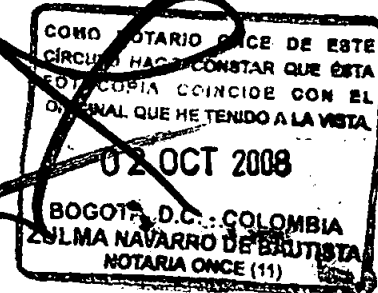
(Firmado) Diane M. Lang, Notario Público

(Aparece sello que dice: "Diane M. Lang. Notario Público, Estado de Ohio. Mi comisión vence el 14 de diciembre de 2009")(Sello que dice: "Sello notarial. Estado de Ohio")

Estados Unidos de América	)	
Estado de Ohio	)	Declaración juramentada
Condado de Hamilton	)	

9430m

Yo, Diane M. Lang, Notario Público en y para el Estado de Ohio, certifico que el poder anexo es el documento original con la firma de Steven W. Miller. Está completo y es el documento original.



ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA)
 ESTADO DE OHIO) DECLARACION JURAMENTADA
 CONDADO DE HAMILTON)

Mayo 01, 2006

(Aparece sello que dice: "Sello notarial. Estado de Ohio")

(Firmado) Diane M. Lang, Notario Público, Estado de Ohio. Mi comisión vence el
 14 de diciembre de 2009

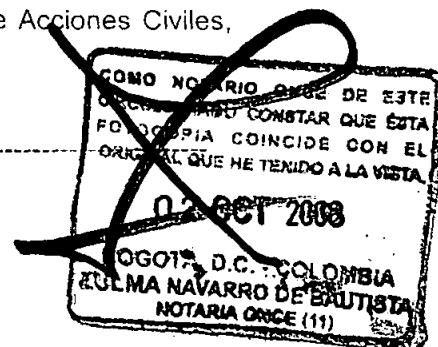
 ESTADO DE OHIO)
) Declaración juramentada
 CONDADO DE HAMILTON)

Yo, GREGORY HARTMANN, Secretario de la Corte

 ESTADO DE OHIO)
) Declaración juramentada
 CONDADO DE HAMILTON)

YO, GREGORY HARTMANN, Secretario de la Corte de Acciones Civiles, siendo ésta una corte que lleva registro de sus actuaciones para el mencionado condado y que por ley tiene un sello, por medio del presente certifico que DIANE M. LANG, quien suscribe el documento anexo era en ese momento un NOTARIO PÚBLICO, debidamente comisionado y juramentado y en el momento de hacer dicho reconocimiento, prueba o declaración juramentada, residía en el mencionado condado y era como tal, un funcionario de dicho estado, debidamente autorizado por las leyes del mismo para recibirlos y certificarlos, así como para recibir y certificar la prueba y reconocimiento de escrituras y de otros documentos escritos que deban registrarse en dicho estado, y que se da y deberá darse plena fe y crédito a sus actos oficiales. Certifico además que me encuentro bien familiarizado con su letra y realmente creo que la firma en el certificado anexo es su firma auténtica. Certifico también que en este Estado no se exige archivar la impresión del sello notarial.

EN FE DE LO CUAL, he estampado mi firma y sello oficial hoy 17 de mayo de 2006. (Firmado) Gregory Hartmann, Secretario de la Corte de Acciones Civiles,
 Condado de Hamilton, Ohio



APOSTILLA

1. País: Estados Unidos de América
Este documento público
2. Ha sido firmado por GREGORY HARTMANN
3. Quien actúa en calidad de Secretario de la Corte de Acciones Civiles
4. Lleva el sello de la Corte de Acciones Civiles

Certificado

5. En Columbus, Ohio
6. El 24 de mayo de 2006
7. Por el Secretario de Estado de Ohio
8. N° 233181
9. Sello (Aparece sello redondo que dice: "EL SELLO DEL SECRETARIO DE ESTADO DE OHIO")
10. Firma (firmado) J. Keneth Blackwell, Secretario de Estado de Ohio

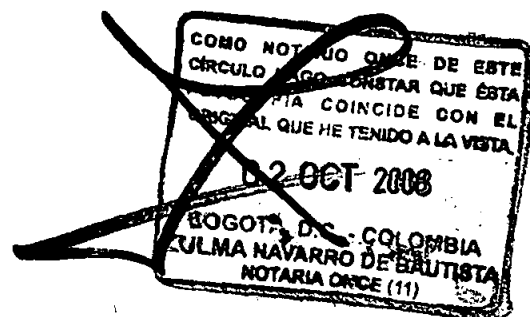
Jaime A. Garavito P.
JAI ME A. GARAVITO P.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
BOGOTÁ, D.C. - COLOMBIA
BOGDM5 # 55405

Esta certificación certifica solamente la autenticidad de la firma del funcionario que firmó el documento, la capacidad en la que actuó dicho funcionario y cuando sea apropiado, la identidad del sello que lleva el documento. Esta certificación no implica que el contenido del (de los) documento (s) sea correcto, ni que tenga la aprobación de esta oficina.

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

Jaime A. Garavito P.
Jaime Armando Garavito Burgos
c.c. N° 19.130.702 de Bogotá
Traductor e Intérprete Oficial según Resolución N° 034 de enero 11 de 1983 expedida por el Ministerio de Justicia

BOGDM5 # 55405



APOSTILLE

(Convention de la Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document

2. has been signed by GREGORY HARTMANN

3. acting in the capacity of Clerk of Court of Common Pleas

4. bears the seal/stamp of Court of Common Pleas, Hamilton County

CERTIFIED

5. at Columbus, Ohio

6. May 24, 2006

7. by the Secretary of State of Ohio.

8. No. 233181

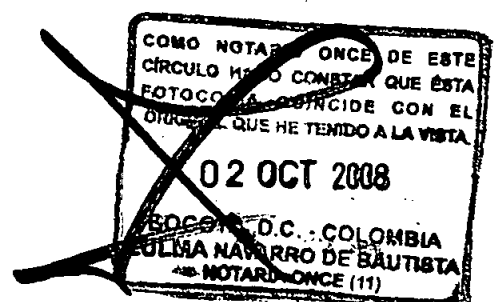
9. Seal/Stamp:

10. Signature:



J. Kenneth Blackwell
 J. Kenneth Blackwell
 Secretary of State of Ohio

This certification certifies only the authenticity of the signature of the official who signed the document, the capacity in which that official acted, and where appropriate, the identity of the seal or stamp which the document bears. This certification does not imply that the contents of the document(s) are correct, nor that they have the approval of this office.



9430m

I, Diane M. Lang, a Notary Public in and for the State of Ohio, do certify the attached Power of Attorney is the original document with the signature of Steven W. Miller. It is complete and the original document.

UNITED STATES OF AMERICA }
STATE OF OHIO) SS
COUNTY OF HAMILTON }

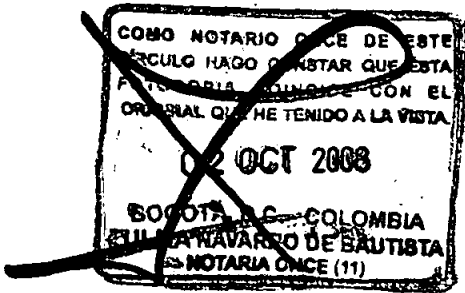
May 1, 20 06

STATE of OHIO }
COUNTY OF HAMILTON) ss.

I, GREGORY HARTMANN Clerk of the Common Pleas Court, the same being a court of record for aforesaid county, having by law a seal do hereby certify that DIANE M LANG Esq., whose name is subscribed to the attached certificate was at the time a NOTARY PUBLIC, duly commissioned and sworn, and at the time of taking said acknowledgement, proof or affidavit, was residing in said county, and was, as such, an officer of said state, duly authorized by the laws thereof to take and certify the same, as well as to take and certify the proof and acknowledgement of deeds and other instruments in writing to be recorded in said state, and that full faith and credit are and ought to be given to his official acts; and I further certify that I am well acquainted with his handwriting, and verily believe that the signature to the attached certificate is his genuine signature. I further certify that the filing of the impression of the notary seal is not required in this state.

IN WITNESS WHEREOF, I have hereunto set my hand and affixed my official seal this 17TH day of MAY, 20 06

Gregory Hartmann **GREGORY HARTMANN**
Clerk of Common Pleas Court, Hamilton County, Ohio



00009

9430m

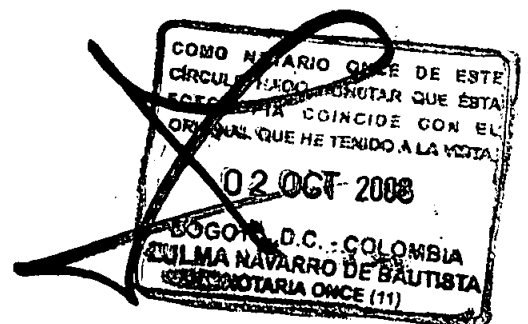
I, Diane M. Lang, a Notary Public in and for the State of Ohio, do certify the attached Power of Attorney is the original document with the signature of Steven W. Miller. It is complete and the original document.

UNITED STATES OF AMERICA }
STATE OF OHIO) SS
COUNTY OF HAMILTON }

May 1, 2006



Diane M. Lang
DIANE M. LANG
NOTARY PUBLIC, STATE OF OHIO
MY COMMISSION EXPIRES DECEMBER 14, 2009



POWER OF ATTORNEY

The undersigned.

THE PROCTER & GAMBLE COMPANY
Name of the Company

domiciled in
One Procter & Gamble Plaza, Cincinnati,
Ohio 45202
Address, city, state, country

declares that it hereby grants to

**ALVARO CORREA-ORDOÑEZ and/or
OLGA GEORGETTE OTERO and/or
RICARDO METKE and/or
JUAN PABLO CONCHA**

with domicile at Av. 82 No. 10 - 62, 6Th floor, of Bogotá D. C., Colombia, a full and sufficient power of attorney to obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models, industrial designs, integrated circuits, layout-designs and vegetal varieties; the registration of trademarks, denominations of origin, commercial names, trade emblems, slogans and domain names; its renewal, assignments, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Processes of protection to the consumer, unfair competition, oppositions, cancellations, nullity, precautionary injunctions, infringement, granting of licenses, writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, an administrative processes relating to those rights. And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

I hereby ratify all actions previously taken on behalf of this company by the aforementioned attorneys with respect to the mentioned matters.

Done and subscribed in

On the 15th day of May of 2006

Signature of the person issuing the Power

PODER DE ABOGADO

La abajo firmada,

THE PROCTER & GAMBLE COMPANY

domiciliada en One Procter & Gamble Plaza,
Cincinnati, Ohio 45202

declara por el presente que otorga a

**ALVARO CORREA-ORDOÑEZ y/o
OLGA GEORGETTE OTERO y/o
RICARDO METKE y/o
JUAN PABLO CONCHA**

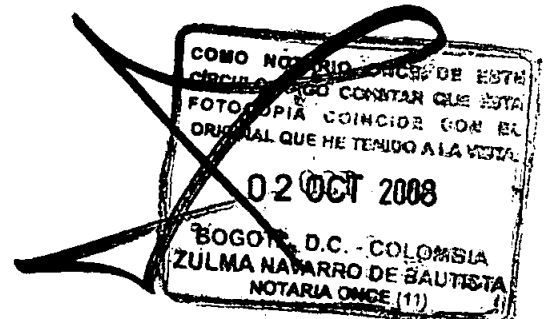
con domicilio en la Av. 82 No. 10 - 62 Piso 6 en Bogotá D. C., Colombia, poder especial amplio y suficiente, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera autoridades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, diseños industriales, esquemas de trazado de circuitos integrados y variedades vegetales; el registro de marcas, denominaciones de origen, nombres comerciales, enseñas, lemas comerciales y nombres de dominio; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Los procesos para la protección del consumidor, competencia desleal, oposiciones, cancelaciones, nulidades, medidas cautelares, infracciones, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general procesos civiles, penales, administrativos relacionados con estos derechos. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del caso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

Igualmente, ratifico todo lo actuado hasta el momento en los mismos asuntos, por cualquiera de los mencionados apoderados en representación de ésta sociedad.

Dado y firmado en

A los 15 días del mes de Mayo de 2006

Firma de la persona que firma el Poder



BAKER & MCKENZIE

NOTARIAL CERTIFICATION

On this 15 day of May
2006, the undersigned Notary

CERTIFIES

1. That Steven W. Miller

of legal age and domiciled in
Ohio, USA
Address, city, state, country

set his hand on the foregoing document.

2. That the grantor is to me personally known and that he/she has legal capacity to execute the instrument.

3. That the grantor has executed the foregoing document as

Position of the person issuing the Power
Assistant Secretary
of the judicial person Name of the Company

4. That the judicial person Name of the Company
having its home office in THE PROCTER & GAMBLE COMPANY
One Procter & Gamble Plaza, Cincinnati, Ohio
45202 Address, city, state, country

is duly organized, has present legal existence and that the purposes for which the power of attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

5. That the grantor has in fact the referred to authority and that his/her representation is legal.

6. That I have based certifications 3, 4 and 5 above on the following authentic documents for such purpose exhibited to me and which I mention specifically, giving their dates and their origin or source:

(Please indicate here the documents such as the articles of incorporation, by laws or resolution from the Board of Directors and their dates, on which the notary relied to grant the certification) Board resolution dated July 28, 2000

Diane M. Lang
DIANE M. LANG
NOTARY PUBLIC, STATE OF OHIO
My Commission Expires 12/14/2009

Notary Public

CERTIFICACION NOTARIAL

A los 15 días del mes de Mayo
de 2006, el suscrito Notario

DA FE

1. Que Steven W. Miller

mayor y domiciliado en
Ohio, Estados Unidos de América

suscribió de su puño y letra el documento que antecede.

2. Que conozco al otorgante y que éste tiene capacidad legal para el otorgamiento.

3. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de

Subsecretario

de la persona jurídica

4. Que la persona jurídica
con sede en

One Procter & Gamble Plaza
Cincinnati, Ohio 45202

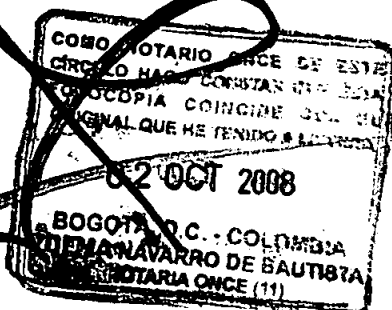
está legalmente constituida, que tiene existencia legal actual y que el acto para el cual se otorga el poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social:

5. Que el otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta y que ésta es legítima.

6. Que he basado las certificaciones 3, 4 y 5 anteriores en los siguientes documentos auténticos que al efecto se me exhibieron y que menciono específicamente con expresión de sus fechas y de su origen o procedencia:

Resolución de la Junta de fecha
28 de julio de 2000

El Notario Público



(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
18 October 2007 (18.10.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/116360 A2

(51) International Patent Classification:
C07K 16/00 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/IB2007/051239

(22) International Filing Date: 5 April 2007 (05.04.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/790,506 7 April 2006 (07.04.2006) US
60/798,896 9 May 2006 (09.05.2006) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **THE PROCTER & GAMBLE COMPANY** [US/US]; One Procter & Gamble Plaza, Cincinnati, OH 45202 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **ROTELLO, Rocco, Jamie** [US/US]; 2731 Wood Road, Lebanon, OH 45036 (US). **PETERS, Kevin, Gene** [US/US]; 10202 Sleepy Ridge Drive, Loveland, OH 45140 (US). **DAVIS, Michael, Glen** [US/US]; 655 Deer Run Trail, Lebanon, OH 45036 (US).

(74) Common Representative: **THE PROCTER & GAMBLE COMPANY**; c/o Eileen L. Hughett, The Procter & Gamble Company, Winton Hill Business Center, 6110 Center Hill Road, Cincinnati, OH 45224 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, 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, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

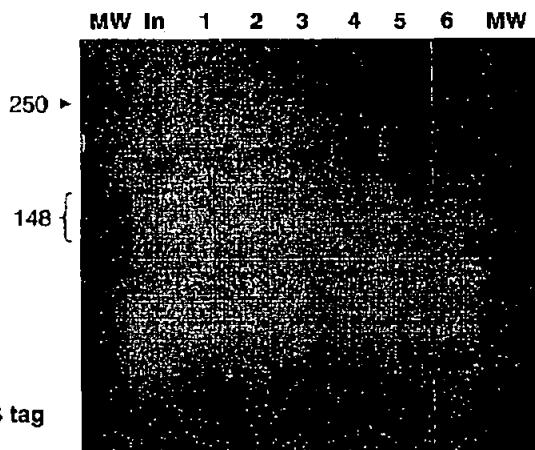
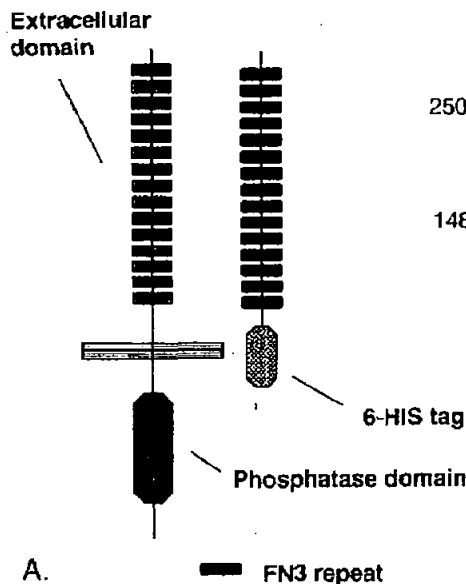
(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, 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
- with sequence listing part of description published separately in electronic form and available upon request from the International Bureau

[Continued on next page]

(54) Title: ANTIBODIES THAT BIND HUMAN PROTEIN TYROSINE PHOSPHATASE BETA (HPTPBETA) AND USES THEREOF



(57) Abstract: Antibodies and antigen binding fragments thereof that bind to human protein tyrosine phosphatase beta (HPTPB), and uses thereof.



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

ANTIBODIES THAT BIND HUMAN PROTEIN TYROSINE PHOSPHATASE BETA (HPTPBETA) AND USES THEREOF

FIELD OF INVENTION

This invention relates to antibodies and antigen binding fragments thereof that bind to human protein tyrosine phosphatase beta (HPTPbeta) and uses thereof.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Angiogenesis, the sprouting of new blood vessels from the pre-existing vasculature, plays an important role in a wide range of physiological and pathological processes (Nguyen, L.L. et al, *Int. Rev. Cytol.*, 204, 1-48, (2001)). Angiogenesis is a complex process, mediated by communication between the endothelial cells that line blood vessels and their surrounding environment. In the early stages of angiogenesis, tissue or tumor cells produce and secrete pro-angiogenic growth factors in response to environmental stimuli such as hypoxia. These factors diffuse to nearby endothelial cells and stimulate receptors that lead to the production and secretion of proteases that degrade the surrounding extracellular matrix. The activated endothelial cells begin to migrate and proliferate into the surrounding tissue toward the source of these growth factors (Bussolino, F., *Trends Biochem. Sci.*, 22, 251-256, (1997)). Endothelial cells then stop proliferating and differentiate into tubular structures, which is the first step in the formation of stable, mature blood vessels. Subsequently, periendothelial cells, such as pericytes and smooth muscle cells, are recruited to the newly formed vessel in a further step toward vessel maturation.

Angiogenesis is regulated by a balance of naturally occurring pro- and anti-angiogenic factors. Vascular endothelial growth factor, fibroblast growth factor, and angiopoietin represent a few of the many potential pro-angiogenic growth factors. These ligands bind to their respective receptor tyrosine kinases on the endothelial cell surface and transduce signals that promote cell migration and proliferation. Whereas many regulatory factors have been identified, the molecular mechanisms that drive this process are still not fully understood.

There are many disease states driven by persistent unregulated or improperly regulated angiogenesis. In such disease states, unregulated or improperly regulated angiogenesis may either cause a particular disease or exacerbate an existing pathological condition. For example, ocular

neovascularization has been implicated as the most common cause of blindness and underlies the pathology of approximately 20 eye diseases. In certain previously existing conditions, such as arthritis, newly formed capillary blood vessels invade the joints and destroy cartilage. In diabetes, new capillaries formed in the retina invade the vitreous humor, causing bleeding and blindness.

Both the growth and metastasis of solid tumors may also be angiogenesis-dependent, Folkman et al., "Tumor Angiogenesis," Chapter 10, 206-32, in *The Molecular Basis of Cancer*, Mendelsohn et al., eds., W. B. Saunders, (1995). It has been shown that tumors which enlarge to greater than 2 mm in diameter must obtain their own blood supply and do so by inducing the growth of new capillary blood vessels. After these new blood vessels become embedded in the tumor, they provide nutrients and growth factors essential for tumor growth as well as a means for tumor cells to enter the circulation and metastasize to distant sites, such as liver, lung or bone (Weidner, *New Eng. J. Med.*, 324, 1, 1-8 (1991)). When used as drugs in tumor-bearing animals, natural inhibitors of angiogenesis may prevent the growth of small tumors (O'Reilly et al., *Cell*, 79, 315-28 (1994)). In some protocols, the application of such inhibitors leads to tumor regression and dormancy even after cessation of treatment (O'Reilly et al., *Cell*, 88, 277-85 (1997)). Moreover, supplying inhibitors of angiogenesis to certain tumors may potentiate their response to other therapeutic regimens (see, e.g., Teischer et al., *Int. J. Cancer*, 57, 920-25 (1994)).

Although many disease states are driven by persistent unregulated or improperly regulated angiogenesis, some disease states may be treated by enhancing angiogenesis. Tissue growth and repair are biologic events wherein cellular proliferation and angiogenesis occur. Thus an important aspect of wound repair is the revascularization of damaged tissue by angiogenesis.

Chronic, non-healing wounds are a major cause of prolonged morbidity in the aged human population. This is especially the case in bedridden or diabetic patients who develop severe, non-healing skin ulcers. In many of these cases, the delay in healing is a result of inadequate blood supply either as a result of continuous pressure or of vascular blockage. Poor capillary circulation due to small artery atherosclerosis or venous stasis contributes to the failure to repair damaged tissue. Such tissues are often infected with microorganisms that proliferate unchallenged by the innate defense systems of the body which require well vascularized tissue to effectively eliminate pathogenic organisms. As a result, most therapeutic intervention centers on

restoring blood flow to ischemic tissues thereby allowing nutrients and immunological factors access to the site of the wound.

Atherosclerotic lesions in large vessels may cause tissue ischemia that could be ameliorated by modulating blood vessel growth to the affected tissue. For example, atherosclerotic lesions in the coronary arteries may cause angina and myocardial infarction that could be prevented if one could restore blood flow by stimulating the growth of collateral arteries. Similarly, atherosclerotic lesions in the large arteries that supply the legs may cause ischemia in the skeletal muscle that limits mobility and in some cases necessitates amputation, which may also be prevented by improving blood flow with angiogenic therapy.

Other diseases such as diabetes and hypertension are characterized by a decrease in the number and density of small blood vessels such as arterioles and capillaries. These small blood vessels are important for the delivery of oxygen and nutrients. A decrease in the number and density of these vessels contributes to the adverse consequences of hypertension and diabetes including claudication, ischemic ulcers, accelerated hypertension, and renal failure. These common disorders and many other less common ailments, such as Burgers disease, could be ameliorated by increasing the number and density of small blood vessels using angiogenic therapy.

Thus, there is a continuing need to identify regulators of angiogenesis.

In view of the foregoing, there is a need to identify biochemical targets in the treatment of angiogenesis mediated disorders. However, angiogenesis involves the action of multiple growth factors and their cognate receptor tyrosine kinases (RTKs), Yancopoulos et al., Nature, 407,242-248, 2000). Vascular endothelial growth factor (VEGF), for example, is important for the differentiation of endothelial cells into nascent blood vessels in the embryonic vasculature. Further, VEGF enhances blood vessel development in the adult vasculature. Administration of exogenous VEGF enhances the development of the collateral vasculature and improves blood flow to ischemic tissues.

To date, three VEGF RTKs have been identified, VEGFR1 (FLT-1), VEGFR2 (KDR), and VEGFR3 (FLT-4). Although these receptors are highly conserved, based on biochemical characterization and biological activity, each has specific and non-overlapping functions. Of the three receptors, VEGFR2 is believed to play the predominant role in mediating VEGF actions in the developing vasculature and during angiogenesis in adults. However, both VEGFR1 and VEGFR3 are required for normal development of the embryonic vasculature and may also be

important for angiogenesis in adult tissues. Upon VEGF binding and dimerization, a conformational change in the VEGFR2 kinase domain enhances its kinase activity resulting in “autophosphorylation” of the other member of the pair on specific tyrosine residues. These autophosphorylation events serve to further enhance the kinase activity and provide anchor points for the association of intracellular signaling molecules.

However, activation of a single angiogenic pathway may not be sufficient to produce persistent and functional vessels that provide adequate perfusion to ischemic tissue. These findings, together with fact that multiple RTKs are involved in the assembly of embryonic vasculature, indicate that biochemical targets that modulate multiple angiogenic pathways will have advantages over administration of a single growth factor.

Protein tyrosine phosphatases (PTPs) comprise a large family of closely related enzymes that dephosphorylate proteins that contain phosphotyrosine residues. Recent evidence suggests that one function of PTPs is to limit the phosphorylation and activation of RTKs. For example, HCPTPA, a low molecular weight protein tyrosine phosphatase, was shown to associate with VEGFR2 and negatively regulate its activation in cultured endothelial cells and its biological activity in angiogenesis assays, (Huang et al., *Journal of Biological Chemistry*, 274, 38183-38185, 1999).

In addition to VEGFR2, signaling input from another RTK, Tie-2, the receptor for the angiopoietins (Ang1 and Ang2), is also important. Deletion of either the Ang1 or Tie-2 gene in mice may result in embryonic lethality secondary to abnormalities in the developing vasculature (Yancopoulos et al., *Nature*, 407, 242-248, 2000). In addition, overexpression of Ang1 in the skin increases skin vascularity and administration of exogenous Ang1 increases blood flow to ischemic skeletal muscle (Suri et al., *Science*, 282, 468-471, 1998). Moreover, inhibiting the activation of Tie-2 inhibits angiogenesis and limits tumor progression in animal models of cancer, (Lin et al., *J Clin. Invest.*, 100, 2072-2078, 1997). In addition to its angiogenic activities, activation of Tie-2 by exogenous administration of Ang1 blocks VEGF mediated vascular leak and pro-inflammatory effects, but enhances its angiogenic effects (Thurston et al., *Nature Medicine*, 6, 460-463, 2000). Therefore, biological targets that modulate both VEGFR2 and Tie-2 signaling may yield superior proangiogenic or antiangiogenic therapies.

HPTPbeta (first described in Kruegar et al., *EMBO J.*, 9, (1990)) has been suggested for modulating the activity of angiopoietin receptor-type tyrosine kinase Tie-2, e.g., WO 00/65088).

HPTPbeta is also suggested for regulating activities of VEGFR2, e.g., US Pat. Pub. No. 2004/0077065.

It would be desirable to develop antibodies, e.g., a humanized monoclonal antibody, which selectively regulate the activity of HPTPbeta and thereby enhance angiogenic signaling, stimulate blood vessel growth (angiogenesis), and/or increase blood flow in ischemic tissue, or reduce angiogenic signaling, reduce blood vessel growth, and/or decrease blood flow to the effected tissue. Herein are described antibodies and fragments thereof that bind HPTPbeta and regulate angiogenic cell signaling, which in turn, regulates angiogenesis.

10

SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention relates to antibodies that bind human protein tyrosine phosphatase beta HPTPbeta and thereby regulate angiogenic cell signaling, which in turn, regulates angiogenesis.

15

In one embodiment, the invention relates to an isolated antibody or antigen-binding fragment thereof which binds to human protein tyrosine phosphatase beta, wherein said antibody or antigen-binding fragment thereof regulates angiogenic cell signaling, which in turn, regulates angiogenesis.

20

In another embodiment, the invention relates to an antibody that binds the N-terminal portion of human protein tyrosine phosphatase beta.

In another embodiment, the invention relates to an antibody that binds the first FN3 repeat of human protein tyrosine phosphatase beta.

25

In another embodiment, the invention relates to an antibody that binds the first FN3 repeat of human protein tyrosine phosphatase beta, wherein the first FN3 repeat of human protein tyrosine phosphatase beta has the sequence as shown in SEQ ID NO: 11, or a portion thereof.

In another embodiment, the invention relates to an antibody wherein the antibody is a monoclonal antibody.

30

In another embodiment, the invention relates to an antibody wherein the antibody is the monoclonal antibody R15E6 (Mouse hybridoma, Balbc spleen cells (B cells) deposited with American Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108 USA on 04 May 2006, assigned ATCC No. PTA-7580).

In another embodiment, the invention relates to an antibody having the same, or substantially the same, biological characteristics of R15E6.¹¹

In another embodiment, the invention relates to an antibody, wherein the antibody or the antigen binding fragment is humanized.

5 In another embodiment, the invention relates to an antibody, wherein the antibody comprises antigen binding region residues from the monoclonal antibody R15E6 and is humanized.

In another embodiment, the invention relates to an antigen binding fragment of an antibody, wherein the fragment comprises heavy and light chain variable regions.

10 In another embodiment, the invention relates to an antigen binding fragment of an antibody, wherein the antigen-binding fragment is selected from the group consisting of an Fv fragment, an Fab fragment, an Fab' fragment, and an F(ab')₂ fragment.

In another embodiment, the invention relates to an a method of treating an angiogenesis regulated disorder in a subject, comprising: identifying a subject in need of regulation of
15 angiogenesis; and administering to the subject an effective amount of an antibody or antigen-binding fragment thereof which binds HPTPbeta and regulates angiogenesis.

In another embodiment, the invention relates to a method of treating an angiogenesis regulated disorder in a subject, wherein the angiogenesis regulated disorder is an angiogenesis elevated disorder, and is selected from the group consisting of diabetic retinopathy, macular
20 degeneration, cancer, sickle cell anemia, sarcoid, syphilis, pseudoxanthoma elasticum, Paget's disease, vein occlusion, artery occlusion, carotid obstructive disease, chronic uveitis/vitritis, mycobacterial infections, Lyme's disease, systemic lupus erythematosus, retinopathy of prematurity, Eales' disease, Behcet's disease, infections causing a retinitis or choroiditis, presumed ocular histoplasmosis, Best's disease, myopia, optic pits, Stargardt's disease, pars
25 planitis, chronic retinal detachment, hyperviscosity syndrome, toxoplasmosis, trauma and post-laser complications, diseases associated with rubeosis, and proliferative vitreoretinopathy.

In another embodiment, the invention relates to a method of treating an angiogenesis regulated disorder in a subject, wherein the angiogenesis regulated disorder is an angiogenesis elevated disorder, and is selected from the group including but not limited to diabetic retinopathy,
30 macular degeneration, cancer, rheumatoid arthritis, hemangiomas, Osler-Weber-Rendu disease, or hereditary hemorrhagic telangiectasia, and solid or blood borne tumors

In another embodiment, the invention relates to a method of treating an angiogenesis regulated disorder in a subject, wherein the angiogenesis regulated disorder is an angiogenesis elevated disorder, and is selected from the group consisting of inflammatory bowel diseases such as Crohn's disease and ulcerative colitis, psoriasis, sarcoidosis, rheumatoid arthritis, hemangiomas, Osler-Weber-Rendu disease, or hereditary hemorrhagic telangiectasia, solid or blood borne tumors and acquired immune deficiency syndrome.

In another embodiment, the invention relates to a method of treating an angiogenesis regulated disorder in a subject, wherein the angiogenesis regulated disorder is an angiogenesis reduced disorder and is selected from the group including but not limited to skeletal muscle or myocardial ischemia, stroke, coronary artery disease, peripheral vascular disease, coronary artery disease, cerebrovascular disease, diabetic neuropathy and wound healing.

In another embodiment, the invention relates to a method of treating an angiogenesis regulated disorder in a subject, wherein the angiogenesis regulated disorder is an angiogenesis reduced disorder and is selected from the group consisting of skeletal muscle and myocardial ischemia, stroke, coronary artery disease, peripheral vascular disease, coronary artery disease.

In another embodiment, the invention relates to a method of treating an angiogenesis reduced disorder in a subject, wherein the angiogenesis reduced disorder is peripheral vascular disease.

In another embodiment, the invention relates to a method of treating an angiogenesis reduced disorder in a subject, wherein the angiogenesis reduced disorder is coronary artery disease.

In another embodiment, the invention relates to a pharmaceutical composition, comprising: an antibody or a fragment thereof which binds to human protein tyrosine phosphatase beta; and a pharmaceutically acceptable carrier.

In another embodiment, the invention relates to a pharmaceutical composition, comprising: an antibody or a fragment thereof which binds to human protein tyrosine phosphatase beta, wherein the antibody is the monoclonal antibody R15E6; and a pharmaceutically acceptable carrier.

In another embodiment, the invention relates to a pharmaceutical composition, comprising: an antibody or a fragment thereof which binds to human protein tyrosine phosphatase beta, wherein the antibody is a monoclonal antibody having the same, or substantially the same, biological characteristics of R15E6; and a pharmaceutically acceptable carrier.

In another embodiment, the invention relates to a pharmaceutical composition, comprising: an antibody or a fragment thereof which binds to human protein tyrosine phosphatase beta, wherein the antibody or the antigen binding fragment is humanized; and a pharmaceutically acceptable carrier.

5 In another embodiment, the invention relates to a pharmaceutical composition, comprising: an antibody or a fragment thereof which binds to human protein tyrosine phosphatase beta, wherein the antibody comprises antigen binding region residues from the monoclonal antibody R15E6 and is humanized; and a pharmaceutically acceptable carrier.

10 BRIEF DESCRIPTION OF THE FIGURES

Figure 1. Design and production of the HPTP β ECD protein. (Panel A) Schematic representation of the full-length HPTP β and the HPTP β extracellular domain-6His fusion protein. (Panel B) Silver stain of Imidazole eluates from a Ni-NTA column loaded with supernatant from HEK293 cells transfected with a vector directing the expression of β ECD-6His. A single high molecular weight band consistent with the HPTP β extracellular domain-6His protein is detected.

Figure 2. R15E6 Recognizes Endogenous HPTP β on Endothelial Cells. (Panel A) Endothelial cell lysates are immunoprecipitated with a control antibody (Lane 1), with R15E6 (Lane 2) or with a mixture of anti-Tie2 and anti-VEGFR2 antibodies (Lane 3). Immunoprecipitates are resolved by SDS-PAGE, transferred to a PVD membrane and probed by western blot with a mixture of R15E6, anti-Tie2 and anti-VEGFR2 antibodies. A single major high molecular weight band consistent with HPTP β is seen with R15E6 (Lane 2) and not with the control antibody (Lane 1) or the mixture of anti-Tie2 and anti-VEGFR2 (Lane 3). (Panel B) Endothelial cells are subjected to FACS analysis with R15E6 (white peak) or a no primary antibody control (black peak). The robust shift in fluorescence indicates that R15E6 binds to HPTP β on the surface of intact endothelial cells.

Figure 3. R15E6 Enhances Tie2 Receptor Activation in HUVEC's. Tie2 activation is measured in human endothelial cells as described in Example 4. R15E6 dose dependently enhances both basal and Ang1-induced Tie2 activation.

Figure 4. R15E6 Enhances HUVEC Survival. Survival of serum starved human endothelial cells is measured as described in Example 4. Consistent with its effects on Tie2 activation, R15E6 dose dependently enhances both basal and Ang1-induced endothelial cell survival (Panel A). In addition, R15E6 also dose dependently enhances VEGF and FGF-mediated endothelial cell survival (Panels B and C). A control antibody fails to enhance endothelial cell survival (Panel D).

Figure 5. R15E6 Enhances HUVEC Migration. Migration of human endothelial cells is measured as described in Example 4. R15E6 dose dependently enhances both basal and VEGF-induced endothelial cell migration.

Figure 6. R15E6 Enhances Capillary Morphogenesis in the HUVEC/Bead Sprouting Assay. Capillary morphogenesis of human endothelial cells is measured in the bead sprouting assay as described in Example 4. R15E6 enhances both basal and VEGF-induced endothelial cell capillary morphogenesis.

Figure 7. Western blot analysis localizes the R15E6 binding epitope to the N-terminal FN3 repeat of the HPTP β extracellular domain. (Panel A) By western analysis, R15E6 binds to all of the C-terminal truncation mutants demonstrating that the binding epitope is located in the N-terminal 2 FN3 repeats. (Panel B) Analysis of mouse/human chimeric proteins further localizes the R15E6 binding epitope to the HPTP β N-terminal FN3 repeat.

Figure 8. MSD analysis confirms localization of the R15E6 binding epitope to the N-terminal FN3 repeat of the HPTP β extracellular domain. (Panel A) By MSD analysis, R15E6 binds to all of the C-terminal truncation mutants confirming that the binding epitope is located in the N-terminal 2 FN3 repeats. (Panel B) Analysis of mouse/human chimeric proteins further confirms the localization of the R15E6 binding epitope to the HPTP β N-terminal FN3 repeat.

Figure 9. MSD analysis demonstrates that the monovalent R15E6 Fab fragment also binds the N-terminal FN3 repeat of HPTP β . (Panel A) Similar to the intact R15 E6 antibody, the R15E6 Fab fragment binds to all of the C-terminal truncation mutants confirming that the binding epitope is

located in the N-terminal 2 FN3 repeats. (Panel B) Analysis of mouse/human chimeric proteins further localizes the binding epitope of the R15E6 Fab fragment to the HPTPβ N-terminal FN3 repeat.

5 Figure 10. The monovalent R15E6 Fab fragment fails to enhance Tie2 activation and blocks Tie2 activation by intact R15E6.

Figure 11. The R15E6 Fab fragment potently inhibits endothelial cell survival. (Panel A) Compared to a control Fab fragment, the R15E6 Fab fragment potently inhibits endothelial cell
10 survival. (Panel B) The inhibitory effect of the R15E6 Fab fragment is rescued by competition with intact R15E6.

Figure 12. The R15E6 Fab fragment inhibits VEGF mediated endothelial cell migration.

15

SEQUENCE LISTING DESCRIPTION

Each of the nucleotide and protein sequences in the sequence listing, along with the corresponding Genbank or Derwent accession number(s), where applicable, and species from which it is derived, is shown in Table I.

Table I

Sequence Description	SEQ ID NOs: Nucleotide, Protein	Species	Equivalent Genbank Acc. No.
Extracellular domain of HPTPbeta with His and Gly tag	1, 2	<i>Homo Sapiens</i>	
Extracellular domain of full-length HPTPbeta	3	<i>Homo Sapiens</i>	X54131 NM_002837
1/2 (AA1-730, 8 FN3's)775 aa	4	<i>Homo Sapiens</i>	
1/4 (AA1-376, 4 FN3's)421 aa	5	<i>Homo Sapiens</i>	
1/8 (AA1-202, 2 FN3's)247 aa	6	<i>Homo Sapiens</i>	
Mouse full length ECD1632 aa	7	<i>Mus musculus</i>	NM_029928

Sequence Description	SEQ ID NOs: Nucleotide, Protein	Species	Equivalent Genbank Acc. No.
First human FN3-Mouse ½	8	Human-mouse chimera	
Second human FN3-Mouse ½	9	Human-mouse chimera	
First two human FN3, - Mouse ½	10	Human-mouse chimera	
Human FN3, first repeat	11	<i>Homo sapiens</i>	

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The present invention relates to antibodies that bind HPTPbeta and uses thereof.

Standard techniques may be used for recombinant DNA, oligonucleotide synthesis, and
5 tissue culture and transformation (e.g., electroporation, lipofection). Enzymatic reactions and
purification techniques may be performed according to manufacturer's specifications or as
commonly accomplished in the art or as described herein. The techniques and procedures are
generally performed according to conventional methods known in the art and as described in
various general and more specific references that are cited and discussed throughout the present
10 specification. Unless specific definitions are provided, the nomenclature utilized in connection
with, and the laboratory procedures and techniques of, analytical chemistry, synthetic organic
chemistry, and medicinal and pharmaceutical chemistry described herein are those known and
commonly used in the art. Standard techniques may be used for chemical syntheses, chemical
analyses, pharmaceutical preparation, formulation, and delivery, and treatment of patients.

15 The following terms, unless otherwise indicated, shall be understood to have the
following meanings:

"Protein," is used herein interchangeably with peptide and polypeptide. HPTPbeta is
human protein tyrosine phosphatase as defined in the sequence listing. In some of the
embodiments, various fragments of HPTPbeta are used. Homologs, orthologs, fragments,
20 variants, and mutants of HPTPbeta protein and gene, as described below, are considered as within
the scope of the term "HPTPbeta".

By "fragment" is intended a portion of the nucleotide or protein sequence. Fragments
may retain the biological activity of the native protein. Fragments of a nucleotide sequence are
also useful as hybridization probes and primers or to regulate expression of a gene, e.g.,

antisense, siRNA, or micro RNA. A biologically active portion may be prepared by isolating a portion of one of the nucleotide sequences of the invention, expressing the encoded portion (e.g., by recombinant expression *in vitro*), and assessing the activity of the encoded protein.

One of skill in the art would also recognize that genes and proteins from species other than those listed in the sequence listing, particularly vertebrate species, may be useful. Such species include, but are not limited to, mice, rats, guinea pigs, rabbits, dogs, pigs, goats, cows, monkeys, chimpanzees, sheep, hamsters, and zebrafish. One of skill in the art would further recognize that by using probes from the known species' sequences, cDNA or genomic sequences homologous to the known sequence could be obtained from the same or alternate species by known cloning methods. Such homologs and orthologs are contemplated to be useful in practicing the invention.

By "variants" are intended similar sequences. For example, conservative variants may include those sequences that, because of the degeneracy of the genetic code, encode the amino acid sequence of one of the polypeptides of the invention. Naturally occurring allelic variants, and splice variants may be identified with the use of known techniques, e.g., with polymerase chain reaction (PCR), single nucleotide polymorphism (SNP) analysis, and hybridization techniques. To isolate orthologs and homologs, generally stringent hybridization conditions are utilized, dictated by specific sequences, sequence length, guanine + cytosine (GC) content, and other parameters. Variant nucleotide sequences also include synthetically derived nucleotide sequences, e.g., derived by using site-directed mutagenesis. Variants may contain additional sequences from the genomic locus alone or in combination with other sequences.

The molecules of the invention also include truncated and/or mutated proteins wherein regions of the protein not required for ligand binding or signaling have been deleted or modified. Similarly, they may be mutated to modify their ligand binding or signaling activities. Such mutations may involve non-conservative mutations, deletions, or additions of amino acids or protein domains. Variant proteins may or may not retain biological activity. Such variants may result from, e.g., genetic polymorphism or from human manipulation.

Fusions proteins are also contemplated herein. Using known methods, one of skill in the art would be able to make fusion proteins of the proteins of the invention; that, while different from native form, may be useful. For example, the fusion partner may be a signal (or leader) polypeptide sequence that co-translationally or post-translationally directs transfer of the protein from its site of synthesis to another site (e.g., the yeast α -factor leader). Alternatively, it may be

added to facilitate purification or identification of the protein of the invention (e.g., poly-His, Flag peptide, or fluorescent proteins).

The term "antigen" refers to a molecule or a portion of a molecule capable of being bound by a selective binding agent, such as an antibody, and additionally is capable of being used in an animal to produce antibodies capable of binding to an epitope of that antigen. An antigen may have one or more epitopes.

The term "epitope" includes any antigenic determinant, preferably a polypeptide determinant, capable of specific binding to an immunoglobulin or a T-cell receptor. In certain embodiments, epitope determinants include chemically active surface groupings such as amino acids, sugars, lipids, phosphoryl, or sulfonyl, and, in certain embodiments, may have specific three dimensional structural characteristics, and/or specific charge characteristics. An epitope is a region of an antigen that is bound by an antibody. In certain embodiments, an antibody is said to specifically bind an antigen when it preferentially recognizes its target antigen in a complex mixture of proteins and/or macromolecules. An antibody is also said to specifically bind an antigen when it exhibits higher affinity to the antigen than other related and/or unrelated molecules.

The term "antibody" (Ab) as used herein includes monoclonal antibodies, polyclonal antibodies, multi-specific antibodies (e.g. bispecific antibodies), single chain antibodies, e.g., antibodies from llama and camel, antibody fragments, e.g., variable regions and/or constant region fragments, so long as they exhibit a desired biological activity, e.g., antigen-binding activity. The term "immunoglobulin" (Ig) is used interchangeably with "antibody" herein.

An "isolated antibody" is one which has been identified, and/or separated, and/or recovered from its natural environment.

The basic four-chain antibody unit is a heterotetrameric glycoprotein composed of two identical light (L) chains and two identical heavy (H) chains (an IgM antibody consists of 5 of the basic heterotetramer unit along with an additional polypeptide called J chain, and therefore contain 10 antigen binding sites, while secreted IgA antibodies may polymerize to form polyvalent assemblages comprising 2-5 of the basic 4-chain units along with J chain). In the case of IgGs, the four-chain unit is generally about 150 kilo Daltons (kDa). Each L chain is linked to an H chain by one covalent disulfide bond, while the two H chains are linked to each other by one or more disulfide bonds depending on the H chain isotype. Each H and L chain also has regularly spaced intrachain disulfide bridges. Each H chain has at the N-terminus, a variable domain (V_H)

followed by three constant domains (C_H) for each of the α and γ chains and four C_H domains for μ and ϵ isotypes. Each L chain has at the N-terminus, a variable domain (V_L) followed by a constant domain (C_L) at its other end. The V_L is aligned with the V_H and the C_L is aligned with the first constant domain of the heavy chain (C_{H1}). Particular amino acid residues are believed to form an interface between the light chain and heavy chain variable domains. The pairing of a V_H and V_L together forms a single antigen-binding site. For the structure and properties of the different classes of antibodies, see, e.g., Basic and Clinical Immunology, 8th edition, Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, 1994, page 71 and Chapter 6.

The L chain from any vertebrate species may be assigned to one of two clearly distinct types, called kappa and lambda, based on the amino acid sequences of their constant domains. Depending on the amino acid sequence of the constant domain of their heavy chains (C_H), immunoglobulins may be assigned to different classes or isotypes. There are five classes of immunoglobulins: IgA, IgD, IgE, IgG, and IgM, having heavy chains designated α , δ , ϵ , γ and μ , respectively. The γ and α classes are further divided into subclasses on the basis of relatively minor differences in C_H sequence and function, e.g., humans express the following subclasses: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, and IgA2.

Members of the Camelidae family, e.g., llama, camel, and dromedaries, contain a unique type of antibody, that are devoid of light chains, and further lack the C_{H1} domain (Muyldermans, S., Rev. Mol. Biotechnol., 74, 277-302 (2001)). The variable region of these heavy chain antibodies are termed V_{HH} or VHH, and constitute the smallest available intact antigen binding fragment (15 kDa) derived from a functional immunoglobulin.

The term "variable" refers to the fact that certain segments of the variable domains differ extensively in sequence among antibodies. The V domain mediates antigen binding and defines specificity of a particular antibody for its antigen. However, the variability is not evenly distributed across the 110-amino acid span of the variable domains. Instead, the V regions consist of relatively invariant stretches called framework regions (FR) of 15-30 amino acids separated by shorter regions of extreme variability called "hypervariable regions" that are each 9-12 amino acids long. The variable domains of native heavy and light chains each comprise four FRs, largely adopting a β -sheet configuration, connected by three hypervariable regions, which form loops connecting, and in some cases forming part of, the β -sheet structure. The hypervariable regions in each chain are held together in close proximity by the FRs and, with the

hypervariable regions from the other chain, contribute to the formation of the antigen-binding site of antibodies. The constant domains are not involved directly in binding an antibody to an antigen, but exhibit various effector functions, such as participation of the antibody in antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC).

5 The term "hypervariable region" when used herein refers to the amino acid residues of an antibody which are responsible for antigen-binding. The hypervariable region generally comprises amino acid residues from a "complementarity determining region" or "CDR" (e.g. around about residues 24-34 (L1), 50-56 (L2) and 89-97 (L3) in the V_L , and around about 1-35 (H1), 50-65 (H2) and 95-102 (H3) in the V_H ; Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)) and/or those residues from a "hypervariable loop".

15 The term "monoclonal antibody" as used herein refers to an antibody obtained from a population of substantially homogeneous antibodies, i.e., the individual antibodies comprising the population are identical except for possible naturally occurring mutations that may be present in minor amounts. In contrast to polyclonal antibody preparations which include different antibodies directed against different epitopes, each monoclonal antibody is directed against a single epitope, i.e., a single antigenic determinant. In addition to their specificity, the monoclonal antibodies are advantageous in that they may be synthesized uncontaminated by other antibodies. The modifier "monoclonal" is not to be construed as requiring production of the antibody by any

20 particular method. For example, the monoclonal antibodies useful in the present invention may be prepared by the hybridoma methodology or may be made using recombinant DNA methods in bacterial, eukaryotic animal or plant cells (see, e.g., U.S. Pat. No. 4,816,567). The "monoclonal antibodies" may also be isolated from phage antibody libraries, using the available techniques, e.g., Clackson et al., *Nature*, 352:624-628 (1991).

25 The monoclonal antibodies herein include "chimeric" antibodies in which a portion of the heavy and/or light chain is identical with or homologous to corresponding sequences in antibodies derived from a particular species or belonging to a particular antibody class or subclass, while the remainder of the chain(s) is identical with or homologous to corresponding sequences in antibodies derived from another species or belonging to another antibody class or

30 subclass, as well as fragments of such antibodies, so long as they exhibit the desired biological activity (see U.S. Pat. No. 4,816,567; and Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81, 6851-6855 (1984)).

An "antibody fragment" comprises a portion of a multimeric antibody, preferably the antigen binding or variable region of the intact antibody. Examples of antibody fragments include Fab, Fab', F(ab')₂, dimmers and trimers of Fab conjugates, Fv, scFv, minibodies,; dia-, tria-, and tetrabodies; linear antibodies (See Hudson et al, Nature Med. 9, 129-134 (2003)).

5 "Fv" is the minimum antibody fragment which contains a complete antigen binding site. This fragment consists of a dimer of one heavy- and one light-chain variable region domain in tight, non-covalent association. From the folding of these two domains emanate six hypervariable loops (3 loops each from the H and L chain) that contribute the amino acid residues for antigen binding and confer antigen binding specificity to the antibody. However, even a
10 single variable domain (or half of an Fv comprising only three CDRs specific for an antigen) has the ability to recognize and bind antigen, and are therefore included in the definition of Fv.

"Single-chain Fv" also abbreviated as "sFv" or "scFv" are antibody fragments that comprise the V_H and V_L antibody domains connected into a single polypeptide chain. Preferably, the sFv polypeptide further comprises a polypeptide linker between the V_H and V_L domains which
15 enables the sFv to form the desired structure for antigen binding.

The terms "dia-, tria-, and tetrabodies" refer to small antibody fragments prepared by constructing sFv fragments with short linkers (about 5-10 residues) between the V_H and V_L domains such that inter-chain but not intra-chain pairing of the V domains is achieved, resulting in a multivalent fragment.

20 The term "humanized antibody" or "human antibody" refers to antibodies which comprise heavy and light chain variable region sequences from a non-human species (e.g., a mouse) but in which at least a portion of the V_H and/or V_L sequence has been altered to be more "human-like", i.e., more similar to human germline variable sequences. One type of humanized antibody is a CDR-grafted antibody, in which human CDR sequences are introduced into non-human V_H and
25 V_L sequences to replace the corresponding nonhuman CDR sequences. Means for making chimeric, CDR-grafted and humanized antibodies are known to those of ordinary skill in the art (see, e.g., U.S. Pat. Nos. 4,816,567 and 5,225,539). One method for making human antibodies employs the use of transgenic animals, such as a transgenic mouse. These transgenic animals contain a substantial portion of the human antibody producing genome inserted into their own
30 genome and the animal's own endogenous antibody production is rendered deficient in the production of antibodies. Methods for making such transgenic animals are known in the art. Such transgenic animals may be made using XenoMouse^{RTM} technology or by using a

"minilocus" approach. Methods for making XenoMice^{RTM} are described in U.S. Patent Nos. 6,162,963, 6,150,584, 6,114,598 and 6,075,181. Methods for making transgenic animals using the "minilocus" approach are described in U.S. Pat. Nos. 5,545,807, 5,545,806 and 5,625,825, and WO 93/12227.

5 Humanization of a non-human antibody has become routine in recent years, and is now within the knowledge of one skilled in the art. Several companies provide services to make a humanized antibody, e.g., Xoma, Aries, Medarex, PDL, and Cambridge Antibody Technologies. Humanization protocols are extensively described in technical literature, e.g., Kipriyanov and Le Gall, *Molecular Biotechnol.*, Vol. 26, pp 39-60 (2004), Humana Press, Totowa, NJ; Lo, *Methods*
10 *Mol. Biol.*, Vol. 248, pp 135-159 (2004), Humana Press, Totowa, NJ; Wu et al, *J. Mol. Biol.* 294, 151-162 (1999).

In certain embodiments, antibodies of the present invention may be expressed in cell lines other than hybridoma cell lines. Sequences encoding particular antibodies may be used for transformation of a suitable mammalian host cell by known methods for introducing
15 polynucleotides into a host cell, including, for example packaging the polynucleotide in a virus (or into a viral vector) and transducing a host cell with the virus (or vector), or by transfection procedures known in the art, as exemplified by U.S. Pat. Nos. 4,399, 216, 4,912,040, 4,740,461, and 4,959,455. The transformation procedure used may depend upon the host to be transformed. Methods for introduction of heterologous polynucleotides into mammalian cells are known in the
20 art and include; but are not limited to, dextran-mediated transfection, calcium phosphate precipitation, polybrene mediated transfection, protoplast fusion, electroporation, encapsulation of the polynucleotide(s) in liposomes, mixing nucleic acid with positively-charged lipids, and direct microinjection of the DNA into nuclei.

A nucleic acid molecule encoding the amino acid sequence of a heavy chain constant
25 region, a heavy chain variable region, a light chain constant region, or a light chain variable region of an antibody, or a fragment thereof in a suitable combination if desired, is/are inserted into an appropriate expression vector using standard ligation techniques. The antibody heavy chain or light chain constant region may be appended to the C terminus of the appropriate variable region and is ligated into an expression vector. The vector is typically selected to be
30 functional in the particular host cell employed (i.e., the vector is compatible with the host cell machinery such that amplification of the gene and/or expression of the gene may occur). For a

review of expression vectors, see Methods Enzymol. vol. 185 (Goeddel, ed.), 1990, Academic Press.

Antibodies and fragments thereof of the present invention bind HPTPbeta and regulate
5 angiogenesis. As defined above, the term antibody is used as to denote an antigen binding
fragment. The uses of such antibodies and antigen binding fragments are further described
below.

Screening Assays using in vitro and in vivo models of angiogenesis

10 Antibodies of the invention may be screened in angiogenesis assays that are known in the
art. Such assays include *in vitro* assays that measure surrogates of blood vessel growth in
cultured cells or formation of vascular structures from tissue explants and *in vivo* assays that
measure blood vessel growth directly or indirectly (Auerbach, R., et al. (2003). Clin Chem 49, 32-
40, Vailhe, B., et al. (2001). Lab Invest 81, 439-452).

15 In vitro models of angiogenesis

Most of these assays employ cultured endothelial cells or tissue explants and measure the
effect of agents on "angiogenic" cell responses or on the formation of blood capillary-like
structures. Examples of *in vitro* angiogenesis assays include but are not limited to endothelial
cell migration and proliferation, capillary tube formation, endothelial sprouting, the aortic ring
20 explant assay and the chick aortic arch assay.

In vivo models of angiogenesis

In these assays agents or antibodies are administered locally or systemically in the
presence or absence of growth factors (i.e. VEGF or angiopoietin 1) and new blood vessel growth
25 is measured by direct observation or by measuring a surrogate marker such as hemoglobin
content or a fluorescent indicator. Examples of angiogenesis include but are not limited to chick
chorioallantoic membrane assay, the corneal angiogenesis assay, and the MATRIGEL™ plug
assay.

30 Treatment of angiogenesis regulated disorders

The term "regulate" is defined as in its accepted dictionary meanings. Thus, the meaning of the term "regulate" includes, but is not limited to, up-regulate or down-regulate, to fix, to bring order or uniformity, to govern, or to direct by various means. In one aspect, an antibody may be used in a method for the treatment of an "angiogenesis elevated disorder" or "angiogenesis reduced disorder". As used herein, an "angiogenesis elevated disorder" is one that involves unwanted or elevated angiogenesis in the biological manifestation of the disease, disorder, and/or condition; in the biological cascade leading to the disorder; or as a symptom of the disorder. Similarly, the "angiogenesis reduced disorder" is one that involves wanted or reduced angiogenesis in the biological manifestations. This "involvement" of angiogenesis in an angiogenesis elevated/reduced disorder includes, but is not limited to, the following:

(1) The angiogenesis as a "cause" of the disorder or biological manifestation, whether the level of angiogenesis is elevated or reduced genetically, by infection, by autoimmunity, trauma, biomechanical causes, lifestyle, or by some other causes.

(2) The angiogenesis as part of the observable manifestation of the disease or disorder. That is, the disease or disorder is measurable in terms of the increased or reduced angiogenesis. From a clinical standpoint, angiogenesis indicates the disease; however, angiogenesis need not be the "hallmark" of the disease or disorder.

(3) The angiogenesis is part of the biochemical or cellular cascade that results in the disease or disorder. In this respect, regulation of angiogenesis may interrupt the cascade, and may control the disease. Non-limiting examples of angiogenesis regulated disorders that may be treated by the present invention are herein described below.

Antibodies of the present invention may be used to treat diseases associated with retinal/choroidal neovascularization that include, but are not limited to, diabetic retinopathy, macular degeneration, cancer, sickle cell anemia, sarcoid, syphilis, pseudoxanthoma elasticum, Paget's disease, vein occlusion, artery occlusion, carotid obstructive disease, chronic uveitis/vitritis, mycobacterial infections, Lyme's disease, systemic lupus erythematosus, retinopathy of prematurity, Eales' disease, Behcet's disease, infections causing a retinitis or choroiditis, presumed ocular histoplasmosis, Best's disease, myopia, optic pits, Stargardt's disease, pars planitis, chronic retinal detachment, hyperviscosity syndromes, toxoplasmosis, trauma and post-laser complications. Other diseases include, but are not limited to, diseases associated with rubeosis (neovascularization of the iris) and diseases caused by the abnormal

proliferation of fibrovascular or fibrous tissue including all forms of proliferative vitreoretinopathy, whether or not associated with diabetes.

Antibodies of the present invention may be used to treat diseases associated with chronic inflammation. Diseases with symptoms of chronic inflammation include inflammatory bowel diseases such as Crohn's disease and ulcerative colitis, psoriasis, sarcoidosis and rheumatoid arthritis. Angiogenesis is a key element that these chronic inflammatory diseases have in common. The chronic inflammation depends on continuous formation of capillary sprouts to maintain an influx of inflammatory cells. The influx and presence of the inflammatory cells produce granulomas and thus, maintain the chronic inflammatory state. Inhibition of angiogenesis by the compositions and methods of the present invention would prevent the formation of the granulomas and alleviate the disease.

Crohn's disease and ulcerative colitis are characterized by chronic inflammation and angiogenesis at various sites in the gastrointestinal tract. Crohn's disease is characterized by chronic granulomatous inflammation throughout the gastrointestinal tract consisting of new capillary sprouts surrounded by a cylinder of inflammatory cells. Prevention of angiogenesis inhibits the formation of the sprouts and prevents the formation of granulomas. Crohn's disease occurs as a chronic transmural inflammatory disease that most commonly affects the distal ileum and colon but may also occur in any part of the gastrointestinal tract from the mouth to the anus and perianal area. Patients with Crohn's disease generally have chronic diarrhea associated with abdominal pain, fever, anorexia, weight loss and abdominal swelling. Ulcerative colitis is also a chronic, nonspecific, inflammatory and ulcerative disease arising in the colonic mucosa and is characterized by the presence of bloody diarrhea.

The inflammatory bowel diseases also show extraintestinal manifestations such as skin lesions. Such lesions are characterized by inflammation and angiogenesis and may occur at many sites other than the gastrointestinal tract. Antibodies of the present invention may be capable of treating these lesions by preventing the angiogenesis, thus reducing the influx of inflammatory cells and the lesion formation.

Sarcoidosis is another chronic inflammatory disease that is characterized as a multisystem granulomatous disorder. The granulomas of this disease may form anywhere in the body and thus the symptoms depend on the site of the granulomas and whether the disease active. The granulomas are created by the angiogenic capillary sprouts providing a constant supply of inflammatory cells.

Antibodies of the present invention may also treat the chronic inflammatory conditions associated with psoriasis. Psoriasis, a skin disease, is another chronic and recurrent disease that is characterized by papules and plaques of various sizes. Prevention of the formation of the new blood vessels necessary to maintain the characteristic lesions leads to relief from the symptoms.

5 Rheumatoid arthritis is a chronic inflammatory disease characterized by nonspecific inflammation of the peripheral joints. It is believed that the blood vessels in the synovial lining of the joints undergo angiogenesis. In addition to forming new vascular networks, the endothelial cells release factors and reactive oxygen species that lead to pannus growth and cartilage destruction. The factors involved in angiogenesis may actively contribute to, and help maintain,
10 the chronically inflamed state of rheumatoid arthritis. Other diseases that may be treated according to the present invention are hemangiomas, Osler-Weber-Rendu disease, or hereditary hemorrhagic telangiectasia, solid or blood borne tumors and acquired immune deficiency syndrome.

Antibodies of the present invention may also be used to treat an "angiogenesis reduced
15 disorder". As used herein, an "angiogenesis reduced disorder" is one that angiogenesis would be considered beneficial to treat a disease, disorder, and/or condition. The disorder is one characterized by tissue that is suffering from or at risk of suffering from ischemic damage, infection, and/or poor healing, which results when the tissue is deprived of an adequate supply of oxygenated blood due to inadequate circulation. As used herein, "tissue" is used in the broadest
20 sense, to include, but not limited to, the following: cardiac tissue, such as myocardium and cardiac ventricles; erectile tissue; skeletal muscle; neurological tissue, such as from the cerebellum; internal organs, such as the brain, heart, pancreas, liver, spleen, and lung; or generalized area of the body such as entire limbs, a foot, or distal appendages such as fingers or toes.

25

Methods of vascularizing ischemic tissue

In one aspect, antibodies may be used in a method of vascularizing ischemic tissue. As used herein, "ischemic tissue," means tissue that is deprived of adequate blood flow. Examples of ischemic tissue include, but are not limited to, tissue that lack adequate blood supply resulting
30 from myocardial and cerebral infarctions, mesenteric or limb ischemia, or the result of a vascular occlusion or stenosis. In one example, the interruption of the supply of oxygenated blood may be caused by a vascular occlusion. Such vascular occlusion may be caused by arteriosclerosis,

trauma, surgical procedures, disease, and/or other etiologies. Standard routine techniques are available to determine if a tissue is at risk of suffering ischemic damage from undesirable vascular occlusion. For example, in myocardial disease these methods include a variety of imaging techniques (e.g., radiotracer methodologies, x-ray, and MRI) and physiological tests.

- 5 Therefore, induction of angiogenesis is an effective means of preventing or attenuating ischemia in tissues affected by or at risk of being affected by a vascular occlusion. Further, the treatment of skeletal muscle and myocardial ischemia, stroke, coronary artery disease, peripheral vascular disease, coronary artery disease is fully contemplated.

- A person skilled in the art of using standard techniques may measure the vascularization of tissue. Non-limiting examples of measuring vascularization in a subject include SPECT
10 (single photon emission computed tomography); PET (positron emission tomography); MRI (magnetic resonance imaging); and combination thereof, by measuring blood flow to tissue before and after treatment. Angiography may be used as an assessment of macroscopic vascularity. Histologic evaluation may be used to quantify vascularity at the small vessel level.
15 These and other techniques are discussed in Simons, et al., "Clinical trials in coronary angiogenesis," *Circulation*, 102, 73-86 (2000).

Methods of repairing tissue

- In one aspect, antibodies may be used in a method of repairing tissue. As used herein,
20 "repairing tissue" means promoting tissue repair, regeneration, growth, and/or maintenance including, but not limited to, wound repair or tissue engineering. One skilled in the art appreciates that new blood vessel formation is required for tissue repair. In turn, tissue may be damaged by, including, but not limited to, traumatic injuries or conditions including arthritis, osteoporosis and other skeletal disorders, and burns. Tissue may also be damaged by injuries due
25 to surgical procedures, irradiation, laceration, toxic chemicals, viral infection or bacterial infections, or burns. Tissue in need of repair also includes non-healing wounds. Examples of non-healing wounds include non-healing skin ulcers resulting from diabetic pathology; or fractures that do not heal readily.

- Antibodies may also be used in tissue repair in the context of guided tissue regeneration
30 (GTR) procedures. Such procedures are currently used by those skilled in the arts to accelerate wound healing following invasive surgical procedures.

Antibodies may be used in a method of promoting tissue repair characterized by enhanced tissue growth during the process of tissue engineering. As used herein, "tissue engineering" is defined as the creation, design, and fabrication of biological prosthetic devices, in combination with synthetic or natural materials, for the augmentation or replacement of body tissues and organs. Thus, the present methods may be used to augment the design and growth of human tissues outside the body for later implantation in the repair or replacement of diseased tissues. For example, antibodies may be useful in promoting the growth of skin graft replacements that are used as a therapy in the treatment of burns.

In another aspect of tissue engineering, antibodies of the present invention may be included in cell-containing or cell-free devices that induce the regeneration of functional human tissues when implanted at a site that requires regeneration. As previously discussed, biomaterial-guided tissue regeneration may be used to promote bone regrowth in, for example, periodontal disease. Thus, antibodies may be used to promote the growth of reconstituted tissues assembled into three-dimensional configurations at the site of a wound or other tissue in need of such repair.

In another aspect of tissue engineering, antibodies may be included in external or internal devices containing human tissues designed to replace the function of diseased internal tissues. This approach involves isolating cells from the body, placing them with structural matrices, and implanting the new system inside the body or using the system outside the body. For example, antibodies may be included in a cell-lined vascular graft to promote the growth of the cells contained in the graft. It is envisioned that the methods of the invention may be used to augment tissue repair, regeneration and engineering in products such as cartilage and bone, central nervous system tissues, muscle, liver, and pancreatic islet (insulin-producing) cells.

Pharmaceutical Formulations and Methods for Use

The antibodies of the invention may be administered to individuals to treat or to prevent diseases or disorders that are regulated by genes and proteins of the invention. The term "treatment" is used herein to mean that administration of a compound of the present invention mitigates a disease or a disorder in a host. Thus, the term "treatment" includes, preventing a disorder from occurring in a host, particularly when the host is predisposed to acquiring the disease, but has not yet been diagnosed with the disease; inhibiting the disorder; and/or alleviating or reversing the disorder. Insofar as the methods of the present invention are directed to preventing disorders, it is understood that the term "prevent" does not require that the disease

state be completely thwarted. (See Webster's Ninth Collegiate Dictionary.) Rather, as used herein, the term preventing refers to the ability of the skilled artisan to identify a population that is susceptible to disorders, such that administration of the compounds of the present invention may occur prior to onset of a disease. The term does not imply that the disease state be
5 completely avoided. The compounds identified by the screening methods of the present invention may be administered in conjunction with other compounds.

Safety and therapeutic efficacy of compounds identified may be determined by standard procedures using *in vitro* or *in vivo* technologies. Compounds that exhibit large therapeutic indices may be preferred, although compounds with lower therapeutic indices may be useful if
10 the level of side effects is acceptable. The data obtained from the *in vitro* and *in vivo* toxicological and pharmacological techniques may be used to formulate the range of doses.

Effectiveness of a compound may further be assessed either in animal models or in clinical trials of patients with unregulated or improperly regulated angiogenesis.

As used herein, "pharmaceutically acceptable carrier" is intended to include all solvents, dispersion media, coatings, antibacterial and antifungal agents, isotonic and absorption delaying agents, and the like, compatible with pharmaceutical administration. The use of such media and agents for pharmaceutically active substances is known in the art. Except insofar as any conventional media or agent is incompatible with the active compound, such media may be used in the compositions of the invention. Supplementary active compounds may also be incorporated
20 into the compositions. A pharmaceutical composition of the invention is formulated to be compatible with its intended route of administration. Examples of routes of administration include parenteral, e.g., intravenous, intradermal, subcutaneous, oral (e.g., inhalation), transdermal (topical), transmucosal, and rectal administration. Solutions or suspensions used for parenteral, intradermal, or subcutaneous application may include the following components: a
25 sterile diluent such as water for injection, saline solution, fixed oils, polyethylene glycols, glycerin, propylene glycol or other synthetic solvents; antibacterial agents such as benzyl alcohol or methyl parabens; antioxidants such as ascorbic acid or sodium bisulfite; chelating agents such as ethylenediaminetetraacetic acid; buffers such as acetates, citrates or phosphates and agents for the adjustment of tonicity such as sodium chloride or dextrose. pH may be adjusted with acids or
30 bases, such as hydrochloric acid or sodium hydroxide. The parenteral preparation may be enclosed in ampoules, disposable syringes or multiple dose vials made of glass or plastic.

Pharmaceutical compositions suitable for injectable use include sterile aqueous solutions (where water-soluble), or dispersions and sterile powders for the extemporaneous preparation of sterile injectable solutions or dispersion. For intravenous administration, suitable carriers include physiological saline, bacteriostatic water, CREMOPHOR ELTM (BASF, Parsippany, N.J.) or
5 phosphate buffered saline (PBS). In all cases, the composition must be sterile and should be fluid to the extent that easy syringability exists. It must be stable under the conditions of manufacture and storage and must be preserved against the contaminating action of microorganisms such as bacteria and fungi. The carrier may be a solvent or dispersion medium containing, for example, water, ethanol, polyol (for example, glycerol, propylene glycol, and liquid polyethylene glycol,
10 and the like), and suitable mixtures thereof. The proper fluidity may be maintained, for example, by the use of a coating such as lecithin, by the maintenance of the required particle size in the case of dispersion and by the use of surfactants. Prevention of the action of microorganisms may be achieved by various antibacterial and antifungal agents, for example, parabens, chlorobutanol, phenol, ascorbic acid, thimerosal, and the like. In many cases, it will be preferable to include
15 isotonic agents, for example, sugars, polyalcohols such as mannitol, sorbitol, and sodium chloride in the composition. Prolonged absorption of the injectable compositions may be brought about by including in the composition an agent that delays absorption, for example, aluminum monostearate and gelatin.

Sterile injectable solutions may be prepared by incorporating the active compound in the
20 required amount in an appropriate solvent with one or a combination of ingredients enumerated above, as required, followed by filtered sterilization. Generally, dispersions are prepared by incorporating the active compound into a sterile vehicle that contains a basic dispersion medium and the required other ingredients. In the case of sterile powders for the preparation of sterile injectable solutions, the preferred methods of preparation are vacuum drying and freeze-drying
25 which yields a powder of the active ingredient plus any additional desired ingredient from a previously sterile-filtered solution thereof.

Systemic administration may also be by transmucosal or transdermal means. For transmucosal or transdermal administration, penetrants appropriate to the barrier to be permeated are used in the formulation. Such penetrants are generally known in the art, and include, for
30 example, for transmucosal administration, detergents, bile salts, and fusidic acid derivatives. Transmucosal administration may be accomplished using nasal sprays or suppositories. For

transdermal administration, the active compounds are formulated into ointments, salves, gels, or creams as generally known in the art.

The compounds may also be prepared in the form of suppositories (e.g., with conventional suppository bases such as cocoa butter and other glycerides) or retention enemas for rectal delivery.

In one embodiment, the active compounds are prepared with carriers that will protect the compound against rapid elimination from the body, such as a controlled release formulation, including implants and microencapsulated delivery systems. Biodegradable, biocompatible polymers may be used, such as ethylene vinyl acetate, polyanhydrides, polyglycolic acid, collagen, polyorthoesters, and polylactic acid. Methods for preparation of such formulations will be apparent to those skilled in the art. The materials may also be obtained commercially from Alza Corporation and Nova Pharmaceuticals, Inc. Liposomal suspensions (including liposomes targeted to infected cells with monoclonal antibodies to viral antigens) may also be used as pharmaceutically acceptable carriers. These may be prepared according to methods known to those skilled in the art, for example, as described in U.S. Patent No. 4,522,811.

It is especially advantageous to formulate oral or parenteral compositions in dosage unit form for ease of administration and uniformity of dosage. "Dosage unit form" as used herein refers to physically discrete units suited as unitary dosages for the subject to be treated, each unit containing a predetermined quantity of active compound calculated to produce the desired therapeutic effect in association with the required pharmaceutical carrier. The specification for the dosage unit forms are dictated by and are directly dependent on the unique characteristics of the active compound and the particular therapeutic effect to be achieved, and the limitations inherent in the art of compounding such an active compound for the treatment of individuals.

EXAMPLES

Example 1. Production of the HPTP β extracellular domain protein.

Methods: Full length HPTP β is cloned from a human placental library according to the manufacturer's (Origene) instructions. The clone is identical to a previously reported cDNA clone (Genbank accession # X54131) except it is missing FNIII repeat # 5. A cDNA encoding the entire soluble extracellular domain (ECD) of HPTP β is cloned by PCR from the full length cDNA (see sequence below) coding for AA 1-1534 with an added c-terminal His-His-His-His-

His-His-Gly (6His-Gly) (SEQ ID NO: 1). The resulting cDNA is cloned into mammalian expression vectors for transient (pShuttle-CMV) or stable (pcDNA3.1(-)) expression in HEK293 cells. To obtain purified HPTP β ECD (β ECD), HEK293 cells transfected with a β ECD expression vector are incubated in OptiMEM-serum free (Gibco) for 24 hours under normal growth conditions. The conditioned media is then recovered, centrifuged to remove debris (1000 rpm x 5 minutes), and 1 mL of washed Ni-NTA agarose (Qiagen) (500 μ L packed material) is added to each 10 mL of cleared media and allowed to rock overnight at 4°C. On the following day, the mixture is loaded into a column and washed with 20 bed volumes of 50 mM NaH₂PO₄, 300 mM NaCl, 20 mM Imidazole, pH 8. The purified HPTP β extracellular domain protein (SEQ ID NO: 2) is then eluted in six fractions with 200 μ L/elution in 50 mM NaH₂PO₄, 300 mM NaCl, 250 mM Imidazole, pH 8. Fractions are analyzed for protein content using reducing-denaturing SDS-polyacrylimide gel electrophoresis and detected by silver stain (Invitrogen) and confirmed by mass spectrometry.

Results: To develop an antibody to the extracellular domain of HPTP β , expression vectors directing the expression of a 6-His tagged HPTP β extracellular domain protein (Figure 1, Panel A) are developed. Subsequently, the 6-His tagged HPTP β extracellular domain protein is purified to near homogeneity (Figure 1, Panel B) from the conditioned media of HEK293 cells transfected with the expression vector.

Example 2. Generation of monoclonal antibodies to HPTP β extracellular domain.

Methods: For production of the HPTP β extracellular domain immunogen, the purified HPTP β extracellular domain-6His protein is conjugated to porcine thyroglobulin (Sigma) using EDC coupling chemistry (Hockfield, S. et al, (1993) Cold Spring Habor Laboratory Press. Volume 1 pp. 111-201, Immunocytochemistry). The resulting HPTP β extracellular domain-thyroglobulin conjugate is dialyzed against PBS, pH 7.4. Adult Balb/c mice are then immunized subcutaneously with the conjugate (100-200 μ g) and complete Freund's adjuvant in a 1:1 mixture. After 2-3 weeks, the mice are injected intraperitoneally or subcutaneously with incomplete Freund's adjuvant and the conjugate in a 1:1 mixture. The injection is repeated at 4-6 weeks. Sera are collected from mice 7 days post-third-injection and assayed for immunoreactivity to HPTP β extracellular domain antigen by ELISA and western blotting. Mice that display a good response to the antigen are boosted by a single intra-spleen injection with 50 μ L of purified

HPTP β extracellular domain protein mixed 1:1 with Alum hydroxide using a 31 gauge extra long needle (Goding, J. W., (1996) *Monoclonal Antibodies: Principles and Practices*. Third Edition, Academic Press Limited, p.145). Briefly, mice are anesthetized with 2.5% avertin, and a 1 centimeter incision is created on the skin and left oblique body wall. The antigen mixture is administered by inserting the needle from the posterior portion to the anterior portion of the spleen in a longitudinal injection. The body wall is sutured and the skin is sealed with two small metal clips. Mice are monitored for safe recovery. Four days after surgery the mouse spleen is removed and single cell suspensions are made for fusion with mouse myeloma cells for the creation of hybridoma cell lines (Spitz, M., (1986) *Methods In Enzymology*, Volume 121. Eds. John J, Lagone and Helen Van Vunakis. PP.33-41 (Academic Press, New York, NY)). Resulting hybridomas are cultured in Dulbeccos modified media (Gibco) supplemented with 15 % fetal calf serum (Hyclone) and hypoxathine, aminopterin and thymidine.

Screening for positive hybridomas begins 8 days after the fusion and continues for 15 days. Hybridomas producing anti-HPTP β extracellular domain antibodies are identified by ELISA on two sets of 96-well plates: one coated with the histidine tagged-HPTP β extracellular domain and another one coated with a histidine-tagged bacterial MurA protein as a negative control. The secondary antibody is a donkey anti-mouse IgG labeled with horseradish peroxidase (HRP) (Jackson ImmunoResearch). Immunoreactivity is monitored in wells using color development initiated by ABTS tablets dissolved in TBS buffer, pH 7.5. The individual HRP reaction mixtures are terminated by adding 100 microliters of 1% SDS and reading absorbance at 405 nm with a spectrophotometer. Hybridomas producing antibodies that interact with HPTP β extracellular domain-6His, and not with the murA-6His protein are used for further analysis. Limiting dilutions (0.8 cells per well) are performed twice on positive clones in 96 well plates, with clonality defined as having greater than 99% of the wells with positive reactivity. Isotypes of antibodies are determined using the iso-strip technology (Roche). To obtain purified antibody for further evaluation, tissue culture supernatants are affinity purified using a protein A or protein G columns.

Results: Five monoclonal antibodies immunoreactive to HPTP β extracellular domain protein are isolated and given the following nomenclature, R15E6, R12A7, R3A2, R11C3, R15G2 and R5A8.

The monoclonal antibody R15E6 is deposited with American Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108 USA on 04 May 2006.

Example 3. R15E6 binds to endogenous HPTP β on human endothelial cells.

5 A. R15E6 binds endogenous HPTP β as demonstrated by immunoprecipitation and western blot.

Materials: Human umbilical vein endothelial cells (HUVECs), EGM media, and trypsin neutralizing solution from Cambrex; OPTIMEM I (Gibco), bovine serum albumin (BSA; Santa Cruz), phosphate buffered saline (PBS; Gibco), Growth Factors including Angiopoietin 1 (Ang1),
10 vascular endothelial growth factor (VEGF) and fibroblast growth factor (FGF) (R&D Systems), Tie2 monoclonal antibody (Duke University/P&GP), VEGF receptor 2 (VEGFR2) polyclonal antibody (Whitaker et. al), protein A/G agarose (Santa Cruz), Tris-Glycine pre-cast gel electrophoresis/transfer system (6-8%) (Invitrogen), PVDF membranes (Invitrogen), lysis buffer (20 mM Tris-HCl, 137 mM NaCl, 10% glycerol, 1% triton-X-100, 2 mM EDTA, 1 mM NaOV, 1
15 mM NaF, 1 mM PMSF, 1 μ g/ml leupeptin, 1 μ g/ml pepstatin).

Method: HUVECs are pre-treated for 30 min with antibody (in OPTIMEM) or OPTIMEM I alone. After removal of pre-treatment, cells are treated with Ang1 (100 ng/ml) for 6 minutes in PBS + 0.2% BSA and lysed in lysis buffer. Lysates are run directly on a Tris-Glycine gel or immunoprecipitated with 2-5 μ g/ml Tie-2 antibody or 10 μ g/ml R15E6 antibody and
20 protein A/G agarose. Immunoprecipitated samples are rinsed 1x with lysis buffer and boiled for 5 min in 1 x sample buffer. Samples are resolved on a Tris-Glycine gel, transferred to a PVDF membrane, and detected by western blot using the indicated antibodies (pTYR Ab (PY99, Santa Cruz), Tie-2, VEGFR2 and/or R15E6).

Results: By IP/western blotting, R15E6 recognizes a major, high molecular weight band
25 consistent with the size of HPTP β (Figure 2, Panel A, Lane 2). The less intense, lower molecular weight bands likely represent less glycosylated precursor forms of HPTP β . An immunoprecipitation (IP) with control, non-immune IgG shows no bands in the molecular weight range of HPTP β (Figure 2, Panel A, Lane 1), and a combined Tie2/VEGFR2 IP shows bands of the expected molecular weight (Figure 2, Panel A, Lane 3). This result demonstrates that R15E6
30 recognizes and is specific for HPTP β .

B. R15E6 binds endogenous HPTP β as demonstrated by FACS analysis

Materials: HUVECs, EGM media, and trypsin neutralizing solution from Cambrex; Secondary Alexfluor 488-tagged antibody from Molecular Probes; Hanks balanced salt solution (Gibco); FACSCAN flow cytometer and CellQuest software from Becton Dickenson.

5 Method: HUVECs are trypsinized, treated with trypsin neutralizing solution and rinsed with HBSS. R15E6 antibody (0.6 μ g) is added to 250,000 cells in 50 μ l of HBSS and incubated on ice for 20 minutes. Cells are rinsed with 1 ml HBSS followed by adding 2 μ g of fluorescent-conjugated secondary antibody for 20 minutes on ice. Cells are rinsed and resuspended in 1 ml HBSS then analyzed on the FACSCAN flow cytometer with CellQuest software. Control cells
10 are treated with fluorescent-conjugated secondary antibody only.

Results: By FACS analysis, intact HUVECs, R15E6 causes a robust shift (>90% of cells) in the fluorescence signal compared to the secondary antibody alone (Figure 2, Panel B). This result indicates that R15E6 binds to endogenous HPTP β presented on the surface of intact endothelial cells.

15

Example 4. R15E6 enhances Tie2 activation, and promotes multiple angiogenic responses (endothelial cell survival, migration and capillary morphogenesis).

A. R15E6 enhances Tie2 phosphorylation in the absence and presence of the angiopoietin 1 (Ang1), the Tie2 ligand.

20

Methods: HUVECs are cultured in serum free media as described above in the presence or absence of various concentrations of R15E6 and with or without added Ang1. Lysates are prepared, immunoprecipitated with a Tie2 antibody, resolved by polyacrylamide gel electrophoresis and transferred to a PVDF membrane. Membrane-bound immunoprecipitated proteins are then serially western blotted with an antiphosphotyrosine antibody to quantify Tie2
25 phosphorylation followed by a Tie2 antibody to quantify total Tie2. Tie2 phosphorylation is expressed as the ratio of the antiphosphotyrosine signal over the total Tie2 signal.

Results: R15E6 enhances Tie2 phosphorylation both in the absence and presence of Ang1 (Figure 3). This result indicates that binding of R15E6 to HPTP β on the surface of endothelial cells modulates its biological function resulting in enhanced activation of Tie2 in the absence or
30 presence of ligand.

B. R15E6 enhances endothelial cell survival in the absence and in the presence of endothelial growth factors.

Materials: HUVECs, EGM media, and trypsin neutralizing solution from Cambrex; DMEM (Cell Gro), Delipidized BSA (BD Falcon), Cell Titer Glo ATP Assay (Promega),
5 Growth Factors (Ang1, VEGF 165, and FGF) (R&D Systems), Victor V Multilabel plate reader (Perkin Elmer Wallac).

Method: HUVECs are plated at 10,000 cells/well, serum starved in DMEM/0.2% BSA and treated for 72h in the presence or absence of growth factor (Ang1, VEGF, or FGF), with or without various concentrations of R15E6 antibody. After 72 hours, the cells are rinsed with
10 DMEM and surviving cells are quantified by measuring ATP levels using the Cell Titer Glo Luminescence Assay according to manufacturer's instructions (Promega).

Results: Consistent with the results of the Tie2 activation assay, R15E6 enhances endothelial cell survival in the absence of added growth factor at concentrations between 0.5 and 5 nM (Figure 4, Panel A). Similarly, R15E6 enhances Ang1 mediated endothelial cell survival
15 (Figure 4, Panel A) as well as cell survival mediated by VEGF and FGF (Figure 4, Panels B and C). No enhanced survival is seen with a control monoclonal antibody (Figure 4, Panel D). These results demonstrate that R15E6 binding to HPTP β on the endothelial cell surface enhances baseline endothelial cell survival as well as cell survival mediated by multiple angiogenic pathways (Ang1, VEGF, and FGF).

20

C. R15E6 enhances endothelial cell migration in the absence and in the presence of VEGF.

Materials: HUVECs, EGM media, and trypsin neutralizing solution from Cambrex; EBM-phenol red free (PRF-EBM, Cambrex), Delipidized BSA (BD Falcon), BD Falcon Biocoat
25 Endothelial Cell Migration system (BD Falcon), Calcein AM (Molecular Probes); Growth Factors (VEGF 165) (R&D Systems), Victor V Multilabel plate reader (Perkin Elmer Wallac).

Method: HUVECs are resuspended in PRF-EBM+0.1% BSA and plated at 50,000 cells/transwell (BD Bioscience, 3 μ m pore size). Growth Factor/ R15E6 is placed in the bottom well of the transwell chamber and incubated 4-22h. Cells migrating through the membrane are
30 detected by labeling with 4 μ g/ml Calcein AM for 90'. Fluorescence is measured using a Victor V instrument (485/535).

Results: Consistent with the results in the survival study, R15E6 enhances both baseline and VEGF-mediated endothelial cell migration (Figure 5).

D. R15E6 enhances endothelial cell sprouting and capillary morphogenesis in the absence and in the presence of endothelial growth factors.

Materials: HUVECs and EGM media from Cambrex; Cytodex beads and type I collagen from Sigma; Dulbecco's PBS and M199 media from Gibco; VEGF from R&D.

Method: HUVECs passage 4 (2×10^6 cells) are cultured with 5 mg of Cytodex beads in 10 ml of EGM in 100 mm non-tissue culture treated bacteriological dishes for 48 hours with occasional swirling. Cell coated beads are transferred to a 50 ml conical tube and resuspended in 380 μ l D-PBS. Collagen gels are prepared by adding 71.4 μ l of cell coated beads to 2.8 ml of a matrix solution consisting of 3 mg/ml collagen in M199 media supplemented with 0.005 N NaOH, 20 mM HEPES, and 26 mM NaHCO_3 . Three hundred and fifty microliters of the beads are dispensed into a well on a 24 well tissue culture plate and the matrix is allowed to solidify for 1 hour at 37°C/5% CO_2 . One ml of EGM medium with or without VEGF (10 ng/ml) or R15E6 (7.5 μ g/ml) is added per well and returned to the incubator. After 48 hours, a blinded observer visualizes the sprouts with a phase contrast inverted microscope and observes 50 beads per well, in triplicate wells, for the presence of endothelial cell sprouts. Results are expressed as the number of sprouts per bead.

Results: Consistent with the results in the other assays, R15E6 also enhances baseline and VEGF mediated capillary morphogenesis in the endothelial bead sprouting assay (Figure 6).

Example 5. The binding epitope for R15E6 is in the N-terminal FN3 repeat of the human HPTP β extracellular domain.

A. Western blot analysis of recombinant c-terminal truncation mutants and mouse/human chimeric proteins show that the R15E6 binding epitope is in the N-terminal FN3 repeat of the HPTP β extracellular domain.

Methods: HEK293 cells are transfected with expression vectors encoding the indicated HPTP β truncation mutant or mouse/human chimera. Transfected cells are then incubated in OptiMEM for an additional 24 hours after which conditioned media containing the indicated HPTP β extracellular domain is harvested and either stored for future use or used immediately for

western blot or ECL (see below) studies. For western blot analysis, 20 µl of conditioned media containing the indicated HPTPβ protein or no recombinant protein (Mock, empty vector transfected) is resolved by PAGE, transferred to a PVDF membrane and probed with R15E6.

Results: By western blot analysis, R15E6 binds all of the HPTPβ C-terminal deletion mutants (Figure 7A) indicating that the binding epitope is within the first two N-terminal FN3 repeats. R15E6 fails to bind murine HPTPβ (SEQ ID NO: 7) extracellular domain demonstrating specificity for the human protein (Figure 7B lane 6 vs. lane 2). Replacing the murine 1st or 1st and 2nd N-terminal FN3 repeats with the human sequences restored R15E6 binding (Figure 7B lanes 3 and 5). Conversely, replacing only the murine 2nd FN3 repeat with the human sequence fails to restore binding (Figure 7B lane 4). Taken together, these findings localize the binding epitope of R15E6 to the N-terminal FN3 repeat (~100 amino acids) of human HPTPβ.

B. ECL (electrochemiluminescent) analysis of C-terminal truncation mutants and mouse/human chimeric proteins confirms that the R15E6 binding epitope is in the N-terminal FN3 repeat of the HPTPβ extracellular domain.

Methods: Supernatants containing the indicated HPTPβ protein are coated on a 96 well High bind MSD (Meso Scale Discovery) plate, allowed to dry, and blocked with 3% BSA for 1 h. The protein is then incubated with the R15E6 monoclonal antibody or the R15E6 Fab fragment (10 nM or 1.5 µg/ml) for 1 h, rinsed, and incubated with a goat anti-mouse antibody with an MSD-Tag label (10 nM) for 1 h. The excess antibody is rinsed off and MSD read buffer is added. Light emission is measured using the Sector 2400 reader (MSD). MSD utilizes electrochemiluminescent detection to detect binding events on patterned arrays. Meso Scale Discovery's technology uses proprietary MULTI-ARRAY™ and MULTI-SPOT™ microplates with electrodes integrated into the bottom of the plate. MSD's electrodes are made from carbon and biological reagents may be attached to the carbon simply by passive adsorption and retain a high level of biological activity. MSD assays use electrochemiluminescent labels for ultra-sensitive detection. These electrochemiluminescent labels emit light when electrochemically stimulated. The detection process is initiated at the built in electrodes located in the bottom of MSD's microplates and only labels near the electrode are excited and light detected at 620 nm.

Results: Consistent with the western blot studies, R15E6 binds to all of the HPTPβ C-terminal truncation proteins by MSD analysis (Figure 8A). Also consistent with the western blot

analysis, R15E6 fails to bind the murine HPTP β extracellular domain but binding is restored by replacing the murine N-terminal FN3 repeat with the human N-terminal FN3 domain (Figure 8B). These data confirm that the binding epitope of R15E6 is in the N-terminal FN3 repeat of human HPTP β . As expected, the binding epitope of the monovalent R15E6 Fab fragment could also be mapped to the N-terminal most FN3 repeat of human HPTP β (Figure 9).

Example 6. A monovalent R15E6 Fab fragment blocks R15E6 mediated Tie2 activation and inhibits endothelial cell survival and migration.

Methods: Tie2 activation and endothelial cell survival and migration assays are performed as described above in example 4. Monovalent R15E6 Fab fragments are prepared as previously described. Purified R15E6 is dialyzed in 0.1M Tris-HCL, pH 8.0, containing 2 mM EDTA and 1 mM dithiothreitol. Papain (Pierce) at 1-2 mg/ml is activated in the aforementioned buffer for 15 minutes at 37°C. R15E6 at 10 mg/ml is incubated with papain in the same buffer using an enzyme:substrate ratio of 1:100, for 1h at 37°C. The digestion is terminated by the addition of iodoacetamide (final concentration 20 mM, and held on ice for 1 h, protected from light. The papain digested material is dialyzed overnight against phosphate-buffered saline, to remove iodoacetamide. The extent of digestion is monitored by SDS-PAGE with the disappearance of the gamma heavy chain (MW 55,000 kDa) and the appearance of the Fc fragment of gamma (MW 27,000 kDa) and light chains (MW 22,000-25,000 kDa).

Results: Unlike the intact R15E6 antibody, the Fab fragments fails to enhance Tie2 activation (Figure 10). Moreover, in the presence of excess Fab fragment, R15E6-mediated Tie2 activation is blocked (Figure 10). Surprisingly, the R15E6 Fab fragment markedly inhibits endothelial cell survival compared to a control Fab (Figure 11A) and this effect could be rescued by the addition of intact R15E6 (Figure 11B). Consistent with the negative effect on endothelial survival, the R15E6 Fab also blocks VEGF mediated endothelial cell migration (Figure 12). These findings demonstrate that the intact, dimeric R15E6 is required for the enhancement of angiogenic signaling and that monomeric R15E6 blocks these actions and actually has a negative effect on angiogenic endothelial cell responses.

Except as otherwise noted, all amounts including quantities, percentages, portions, and proportions, are understood to be modified by the word "about", and amounts are not intended to indicate significant digits.

Except as otherwise noted, the articles "a", "an", and "the" mean "one or more".

All documents cited are, in relevant part, incorporated herein by reference; the citation of any document is not to be construed as an admission that it is prior art with respect to the present invention. To the extent that any meaning or definition of a term in this written document
5 conflicts with any meaning or definition of the term in a document incorporated by reference, the meaning or definition assigned to the term in this written document shall govern.

While particular embodiments of the present invention have been illustrated and described, it would be obvious to those skilled in the art that various other changes and modifications may be made without departing from the spirit and scope of the invention. It is
10 therefore intended to cover in the appended claims all such changes and modifications that are within the scope of this invention.

CLAIMS

What is claimed is:

1. An isolated antibody or antigen-binding fragment thereof which binds to human protein tyrosine phosphatase beta (HPTP β), wherein said antibody or antigen-binding fragment thereof regulates angiogenesis.
2. An antibody according to claim 1, wherein the antibody binds the N-terminal portion of HPTP β .
3. An antibody according to claim 2, wherein the antibody binds the first FN3 repeat of HPTP β .
4. An antibody according to claim 3, wherein the first FN3 repeat of HPTP β has the sequence as shown in SEQ ID NO: 11, or a fragment thereof.
5. An antibody according to claim 1, wherein the antibody is a monoclonal antibody.
6. A monoclonal antibody according to claim 5, produced by hybridoma cell line ATCC No. PTA-7580 or a fragment of a monoclonal antibody according to claim 5, produced by hybridoma cell line ATCC No. PTA-7580.
7. An antibody or an antigen binding fragment according to any preceding claim, wherein the antibody or the antigen binding fragment is humanized.
8. An antibody according to claim 6, which comprises antigen binding region residues from the monoclonal antibody R15E6 and is humanized.
9. An antigen binding fragment of an antibody according to claim 7, wherein the fragment comprises heavy and light chain variable regions.

10. An antigen binding fragment of an antibody according to claim 7, wherein the antigen-binding fragment is selected from the group consisting of an Fv fragment, an Fab fragment, an Fab' fragment, and an F(ab')₂ fragment.
- 5 11. The use of an antibody or antigen-binding fragment thereof which binds HPTPbeta and regulates angiogenesis in the manufacture of a medicament for use in treating an angiogenesis regulated disorder.
- 10 12. A use according to claim 11, wherein the angiogenesis regulated disorder is an angiogenesis elevated disorder selected from diabetic retinopathy, macular degeneration, cancer, sickle cell anemia, sarcoid, syphilis, pseudoxanthoma elasticum, Paget's disease, vein occlusion, artery occlusion, carotid obstructive disease, chronic uveitis/vitritis, mycobacterial infections, Lyme's disease, systemic lupus erythematosus, retinopathy of prematurity, Eales' disease, Behcet's disease, infections causing a retinitis or choroiditis,
15 presumed ocular histoplasmosis, Best's disease, myopia, optic pits, Stargardt's disease, pars planitis, chronic retinal detachment, hyperviscosity syndrome, toxoplasmosis, trauma and post-laser complications, diseases associated with rubeosis, and proliferative vitreoretinopathy.
- 20 13. A use according to claim 11, wherein the angiogenesis regulated disorder is an angiogenesis elevated disorder selected from inflammatory bowel diseases including Crohn's disease and ulcerative colitis, psoriasis, sarcoidosis, rheumatoid arthritis, hemangiomas, Osler-Weber-Rendu disease, or hereditary hemorrhagic telangiectasia, solid or blood borne tumors and acquired immune deficiency syndrome.
- 25 14. A use according to claim 11, wherein the angiogenesis regulated disorder is an angiogenesis reduced disorder selected from skeletal muscle and myocardial ischemia, stroke, coronary artery disease, peripheral vascular disease, and coronary artery disease, preferably wherein the angiogenesis reduced disorder is peripheral vascular disease or
30 coronary artery disease.
15. The monoclonal antibody R15E6.

16. An antibody having the same, or substantially the same, biological characteristics of the monoclonal antibody R15E6.
- 5 17. A pharmaceutical composition, comprising:
 - a. an antibody or a fragment thereof according to any one of claims 1, 6, 7, 8, 15, or 16; and
 - b. a pharmaceutically acceptable carrier.

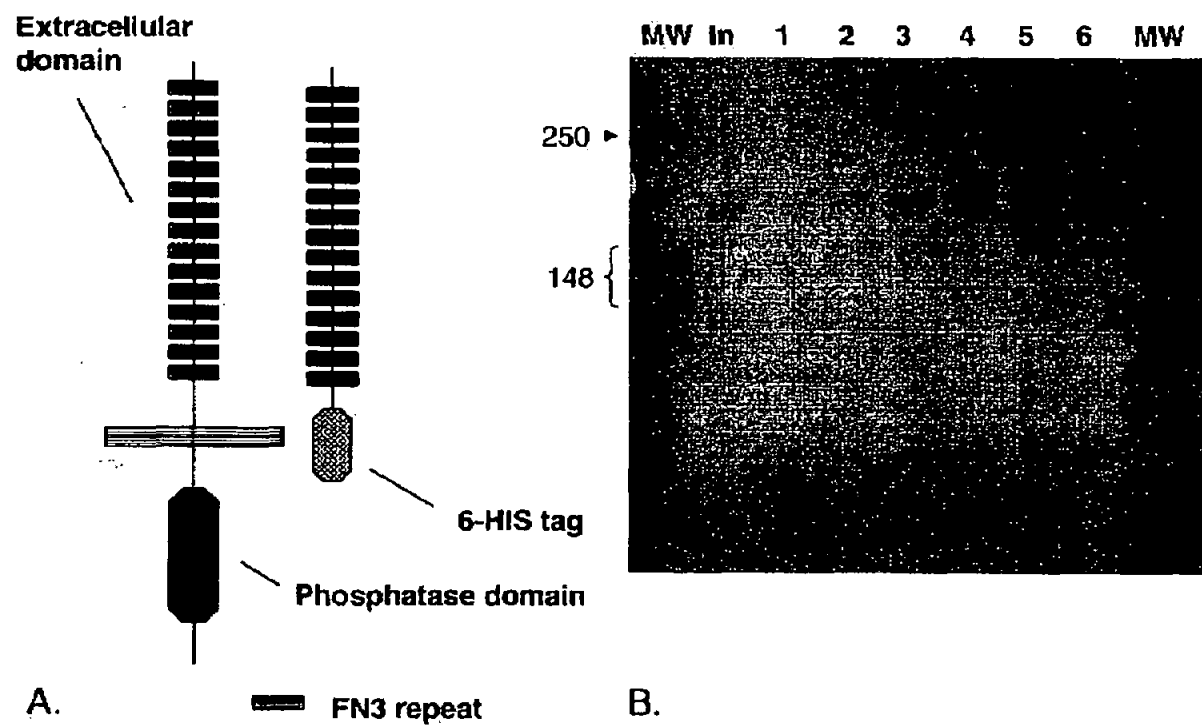


FIGURE 1.

2/12

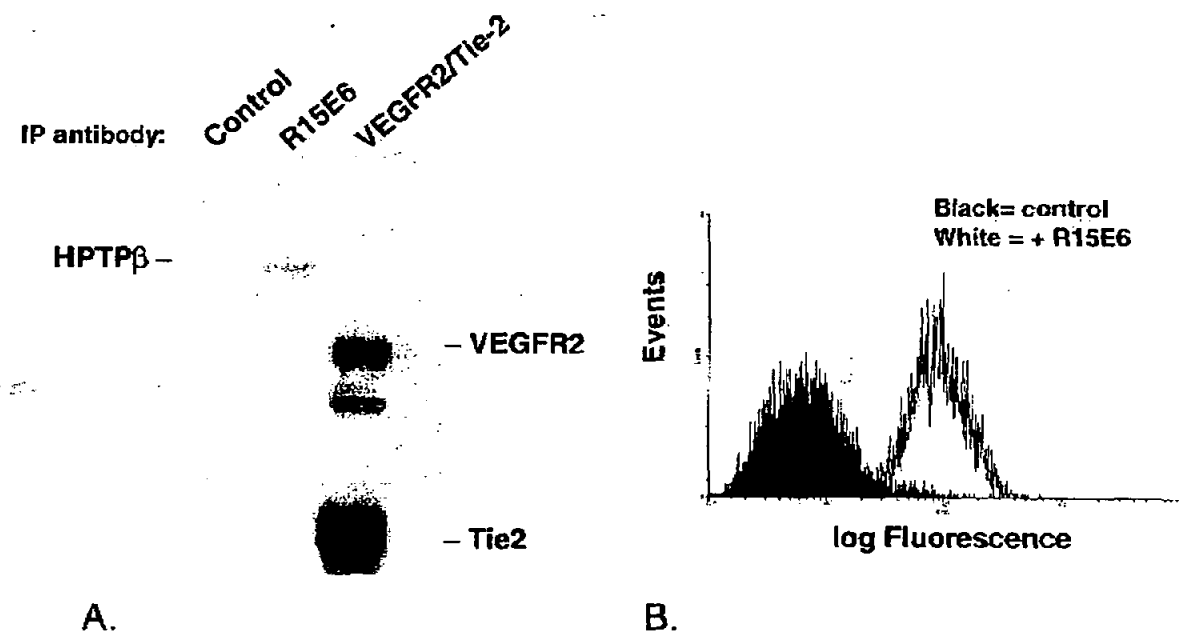


FIGURE 2.

3/12

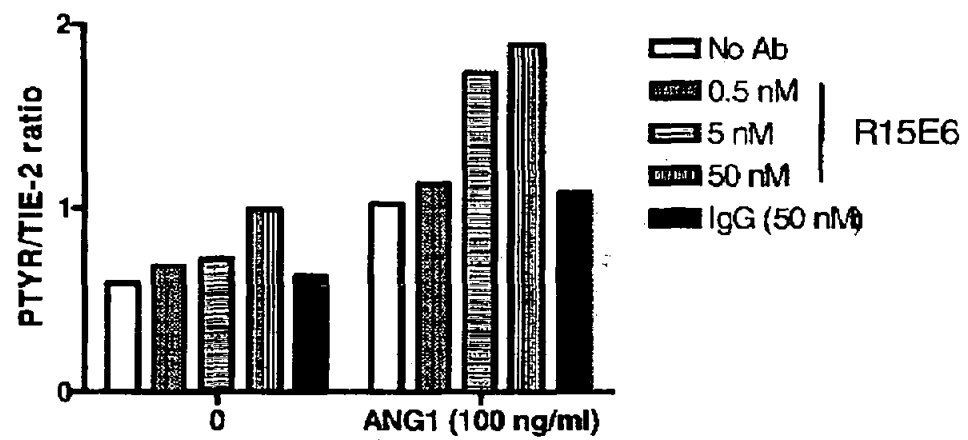


FIGURE 3.

4/12

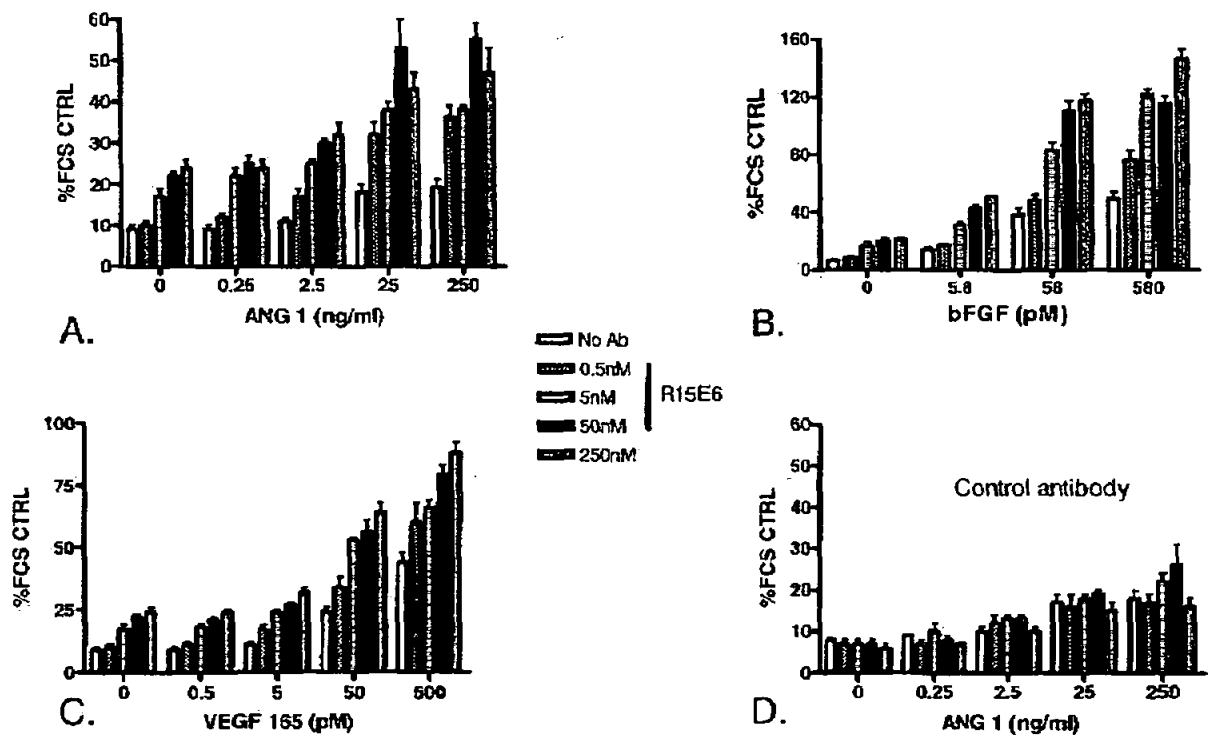


FIGURE 4.

5/12

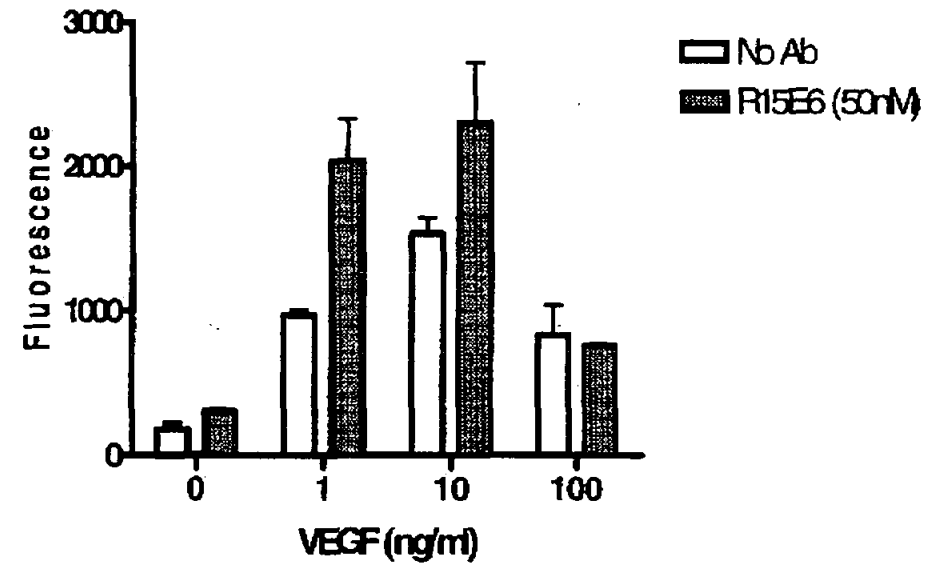


FIGURE 5.

6/12

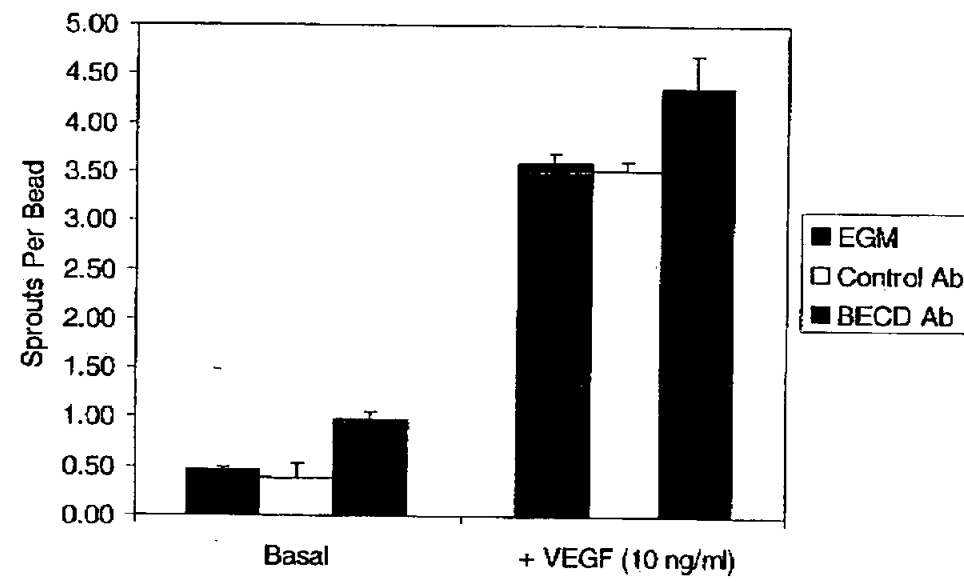


FIGURE 6.

7/12

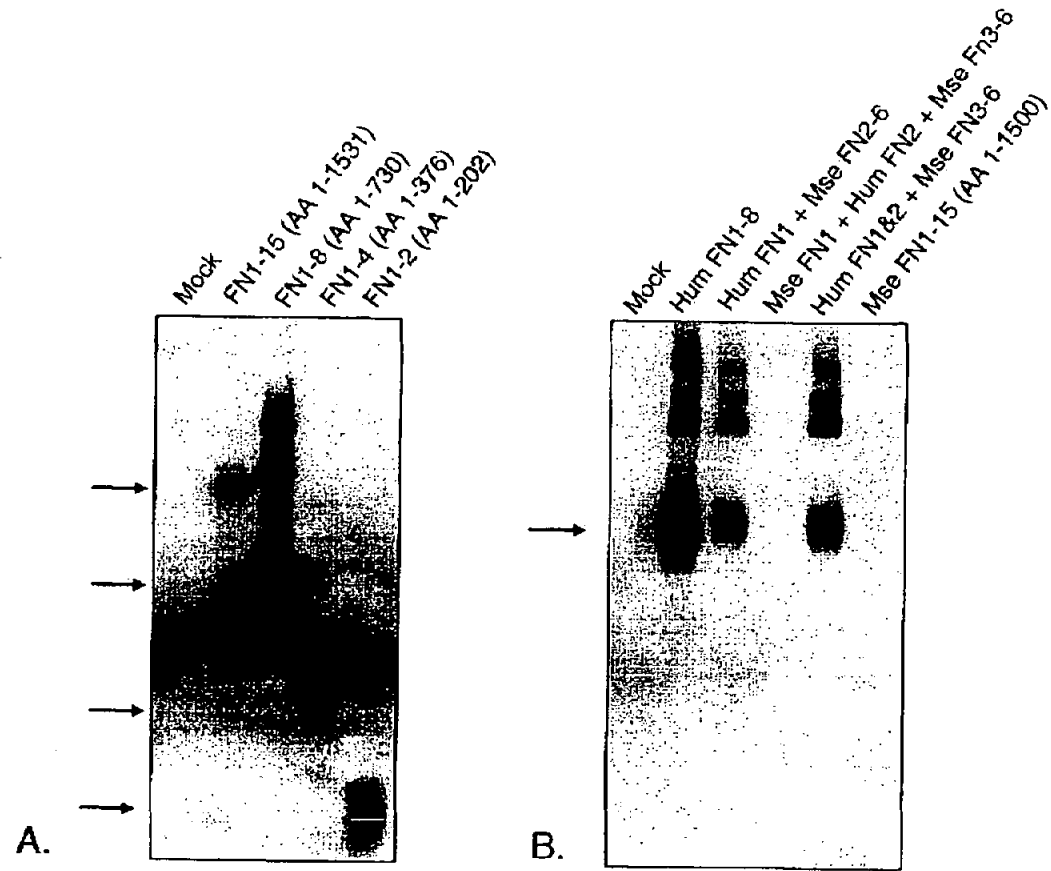


FIGURE 7.

600008

8/12

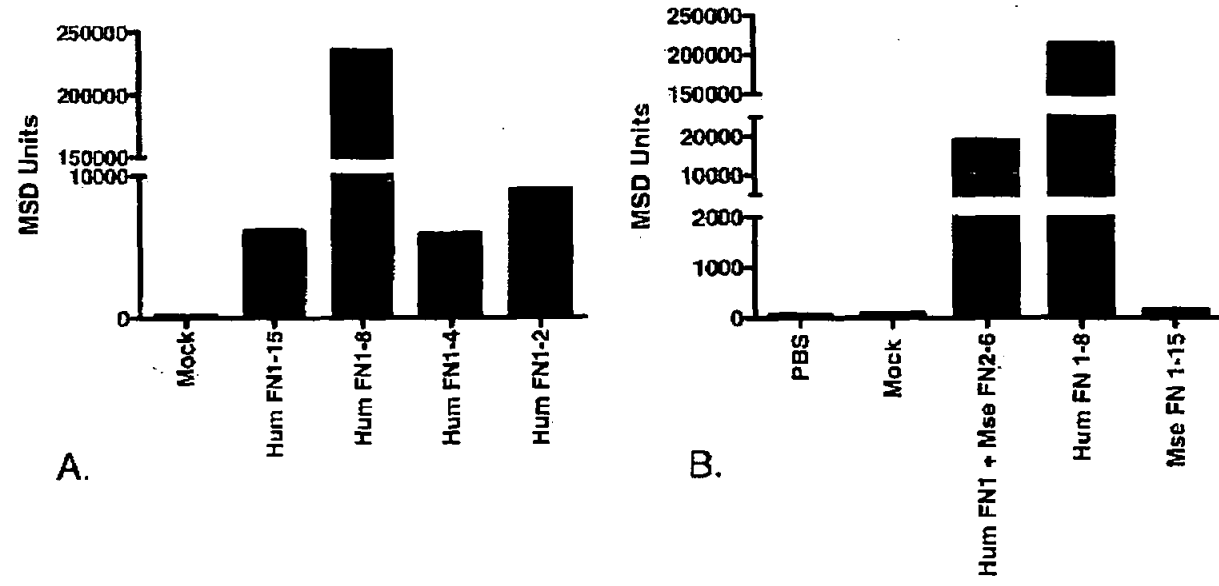


FIGURE 8.

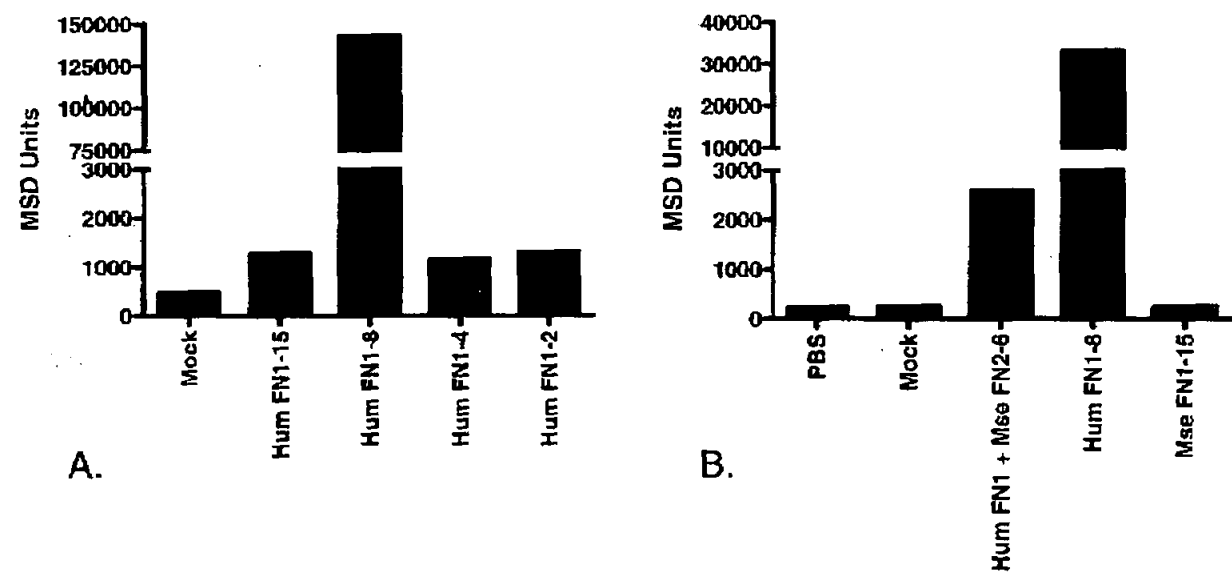


FIGURE 9.

9/12

10/12

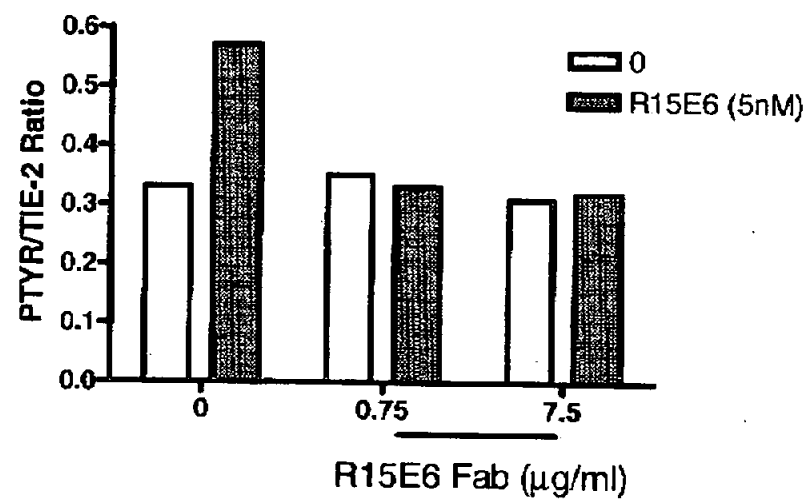


FIGURE 10.

11/12

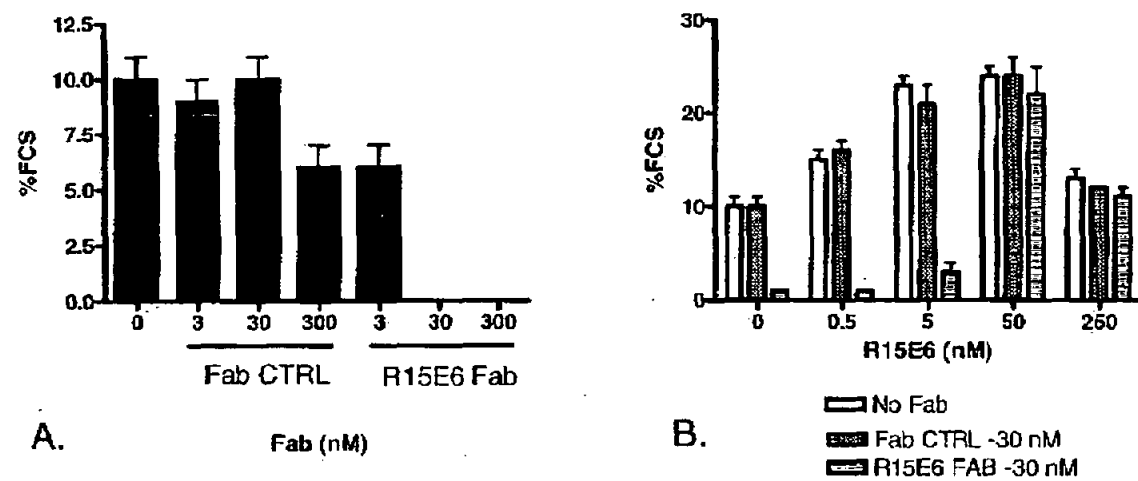


FIGURE 11.

12/12

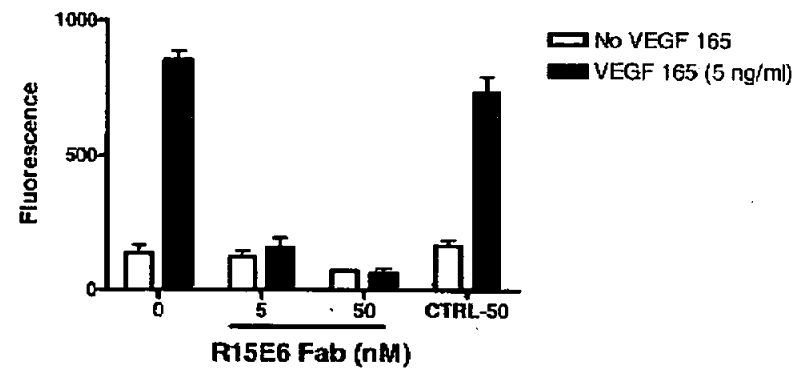


FIGURE 12.

SEQUENCE LISTING

<110> The Procter & Gamble Company
 Rotello, Rocco J
 Peters, Kevin G
 Davis, Michael G

<120> Antibodies That Bind Human ProteinTyrosine Phosphatase beta
 (HPTPbeta) and Uses Thereof

<130> 10365P2

<140> Not Yet Assigned

<141> 2006-05-09

<160> 11

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 4623

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(4623)

<400> 1

atg ctg agc cat gga gcc ggg ttg gcc ttg tgg atc aca ctg agc ctg 48
 Met Leu Ser His Gly Ala Gly Leu Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Leu
 1 5 10 15

ctg cag act gga ctg gcg gag cca gag aga tgt aac ttc acc ctg gcg 96
 Leu Gln Thr Gly Leu Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala
 20 25 30

gag tcc aag gcc tcc agc cat tct gtg tct atc cag tgg aga att ttg 144
 Glu Ser Lys Ala Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu
 35 40 45

ggc tca ccc tgt aac ttt agc ctc atc tat agc agt gac acc ctg ggg 192
 Gly Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly
 50 55 60

gcc gcg ttg tgc cct acc ttt cgg ata gac aac acc aca tac gga tgt 240

Ala Ala Leu Cys Pro Thr Phe Arg Ile Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys
65 70 75 80

aac ctt caa gat tta caa gca gga acc atc tat aac ttc aag att att 288
Asn Leu Gln Asp Leu Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Lys Ile Ile
 85 90 95

tct ctg gat gaa gag aga act gtg gtc ttg caa aca gat cct tta cct 336
Ser Leu Asp Glu Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu Pro
 100 105 110

cct gct agg ttt gga gtc agt aaa gag aag acg act tca acc ggc ttg 384
Pro Ala Arg Phe Gly Val Ser Lys Glu Lys Thr Thr Ser Thr Gly Leu
 115 120 125

cat gtt tgg tgg act cct tct tcc gga aaa gtc acc tca tat gag gtg 432
His Val Trp Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Thr Ser Tyr Glu Val
 130 135 140

caa tta ttt gat gaa aat aac caa aag ata cag ggg gtt caa att caa 480
Gln Leu Phe Asp Glu Asn Asn Gln Lys Ile Gln Gly Val Gln Ile Gln
145 150 155 160

gaa agt act tca tgg aat gaa tac act ttt ttc aat ctc act gct ggt 528
Glu Ser Thr Ser Trp Asn Glu Tyr Thr Phe Phe Asn Leu Thr Ala Gly
 165 170 175

agt aaa tac aat att gcc atc aca gct gtt tct gga gga aaa cgt tct 576
Ser Lys Tyr Asn Ile Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Gly Lys Arg Ser
 180 185 190

ttt tca gtt tat acc aat gga tca aca gtg cca tct cca gtg aaa gat 624
Phe Ser Val Tyr Thr Asn Gly Ser Thr Val Pro Ser Pro Val Lys Asp
 195 200 205

att ggt att tcc aca aaa gcc aat tct ctc ctg att tcc tgg tcc cat 672
Ile Gly Ile Ser Thr Lys Ala Asn Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser His
 210 215 220

ggt tct ggg aat gtg gaa cga tac cgg ctg atg cta atg gat aaa ggg 720
Gly Ser Gly Asn Val Glu Arg Tyr Arg Leu Met Leu Met Asp Lys Gly
225 230 235 240

atc cta gtt cat ggc ggt gtt gtg gac aaa cat gct act tcc tat gct 768
Ile Leu Val His Gly Gly Val Val Asp Lys His Ala Thr Ser Tyr Ala
 245 250 255

ttt cac ggg ctg acc cct ggc tac ctc tac aac ctc act gtt atg act 816
Phe His Gly Leu Thr Pro Gly Tyr Leu Tyr Asn Leu Thr Val Met Thr
260 265 270

gag gct gca ggg ctg caa aac tac agg tgg aaa cta gtc agg aca gcc 864
Glu Ala Ala Gly Leu Gln Asn Tyr Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr Ala
275 280 285

ccc atg gaa gtc tca aat ctg aag gtg aca aat gat ggc agt ttg acc 912
Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Ser Leu Thr
290 295 300

tct cta aaa gtc aaa tgg caa aga cct cct gga aat gtg gat tct tac 960
Ser Leu Lys Val Lys Trp Gln Arg Pro Pro Gly Asn Val Asp Ser Tyr
305 310 315 320

aat atc acc ctg tct cac aaa ggg acc atc aag gaa tcc aga gta tta 1008
Asn Ile Thr Leu Ser His Lys Gly Thr Ile Lys Glu Ser Arg Val Leu
325 330 335

gca cct tgg att act gaa act cac ttt aaa gag tta gtc ccc ggt cga 1056
Ala Pro Trp Ile Thr Glu Thr His Phe Lys Glu Leu Val Pro Gly Arg
340 345 350

ctt tat caa gtt act gtc agc tgt gtc tct ggt gaa ctg tct gct cag 1104
Leu Tyr Gln Val Thr Val Ser Cys Val Ser Gly Glu Leu Ser Ala Gln
355 360 365

aag atg gca gtg ggc aga aca ttc ccc ctg gct gtc ctc cag ctt cgt 1152
Lys Met Ala Val Gly Arg Thr Phe Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg
370 375 380

gtc aaa cat gcc aat gaa acc tca ctg agt atc atg tgg cag acc cct 1200
Val Lys His Ala Asn Glu Thr Ser Leu Ser Ile Met Trp Gln Thr Pro
385 390 395 400

gta gca gaa tgg gag aaa tac atc att tcc cta gct gac aga gac ctc 1248
Val Ala Glu Trp Glu Lys Tyr Ile Ile Ser Leu Ala Asp Arg Asp Leu
405 410 415

tta ctg atc cac aag tca ctc tcc aaa gat gcc aaa gaa ttc act ttt 1296
Leu Leu Ile His Lys Ser Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe
420 425 430

act gac ctg gtg cct gga cga aaa tac atg gct aca gtc acc agt att 1344
Thr Asp Leu Val Pro Gly Arg Lys Tyr Met Ala Thr Val Thr Ser Ile
435 440 445

agt gga gac tta aaa aat tcc tct tca gta aaa gga aga aca gtg cct 1392
 Ser Gly Asp Leu Lys Asn Ser Ser Ser Val Lys Gly Arg Thr Val Pro
 450 455 460

gcc caa gtg act gac ttg cat gtg gcc aac caa gga atg acc agt agt 1440
 Ala Gln Val Thr Asp Leu His Val Ala Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser
 465 470 475 480

ctg ttt act aac tgg acc cag gca caa gga gac gta gaa ttt tac caa 1488
 Leu Phe Thr Asn Trp Thr Gln Ala Gln Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln
 485 490 495

gtc tta ctg atc cat gaa aat gtg gtc att aaa aat gaa agc atc tcc 1536
 Val Leu Leu Ile His Glu Asn Val Val Ile Lys Asn Glu Ser Ile Ser
 500 505 510

agt gag acc agc aga tac agc ttc cac tct ctc aag tcc ggc agc ctg 1584
 Ser Glu Thr Ser Arg Tyr Ser Phe His Ser Leu Lys Ser Gly Ser Leu
 515 520 525

tac tcc gtg gtg gta aca aca gtg agt gga ggg atc tct tcc cga caa 1632
 Tyr Ser Val Val Val Thr Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln
 530 535 540

gtg gtt gtg gag gga aga aca gtc cct tcc agt gtg agt gga gta acg 1680
 Val Val Val Glu Gly Arg Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr
 545 550 555 560

gtg aac aat tcc ggt cgt aat gac tac ctc agc gtt tcc tgg ctg ctg 1728
 Val Asn Asn Ser Gly Arg Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Leu
 565 570 575

gcg ccc gga gat gtg gat aac tat gag gta aca ttg tct cat gac ggc 1776
 Ala Pro Gly Asp Val Asp Asn Tyr Glu Val Thr Leu Ser His Asp Gly
 580 585 590

aag gtg gtt cag tcc ctt gtc att gcc aag tct gtc aga gaa tgt tcc 1824
 Lys Val Val Gln Ser Leu Val Ile Ala Lys Ser Val Arg Glu Cys Ser
 595 600 605

ttc agc tcc ctc acc cca ggc cgc ctc tac acc gtg acc ata act aca 1872
 Phe Ser Ser Leu Thr Pro Gly Arg Leu Tyr Thr Val Thr Ile Thr Thr
 610 615 620

agg agt ggc aag tat gaa aat cac tcc ttc agc caa gag cgg aca gtg 1920
 Arg Ser Gly Lys Tyr Glu Asn His Ser Phe Ser Gln Glu Arg Thr Val

625 630 635 640
 cct gac aaa gtc cag gga gtc agt gtt agc aac tca gcc agg agt gac 1968
 Pro Asp Lys Val Gln Gly Val Ser Val Ser Asn Ser Ala Arg Ser Asp
 645 650 655
 tat tta agg gta tcc tgg gtg cat gcc act gga gac ttt gat cac tat 2016
 Tyr Leu Arg Val Ser Trp Val His Ala Thr Gly Asp Phe Asp His Tyr
 660 665 670
 gaa gtc acc att aaa aac aaa aac aac ttc att caa act aaa agc att 2064
 Glu Val Thr Ile Lys Asn Lys Asn Asn Phe Ile Gln Thr Lys Ser Ile
 675 680 685
 ccc aag tca gaa aac gaa tgt gta ttt gtt cag cta gtc cct gga cgg 2112
 Pro Lys Ser Glu Asn Glu Cys Val Phe Val Gln Leu Val Pro Gly Arg
 690 695 700
 ttg tac agt gtc act gtt act aca aaa agt gga caa tat gaa gcc aat 2160
 Leu Tyr Ser Val Thr Val Thr Thr Lys Ser Gly Gln Tyr Glu Ala Asn
 705 710 715 720
 gaa caa ggg aat ggg aga aca att cca gag cct gtt aag gat cta aca 2208
 Glu Gln Gly Asn Gly Arg Thr Ile Pro Glu Pro Val Lys Asp Leu Thr
 725 730 735
 ttg cgc aac agg agc act gag gac ttg cat gtg act tgg tca gga gct 2256
 Leu Arg Asn Arg Ser Thr Glu Asp Leu His Val Thr Trp Ser Gly Ala
 740 745 750
 aat ggg gat gtc gac caa tat gag atc cag ctg ctc ttc aat gac atg 2304
 Asn Gly Asp Val Asp Gln Tyr Glu Ile Gln Leu Leu Phe Asn Asp Met
 755 760 765
 aaa gta ttt cct cct ttt cac ctt gta aat acc gca acc gag tat cga 2352
 Lys Val Phe Pro Pro Phe His Leu Val Asn Thr Ala Thr Glu Tyr Arg
 770 775 780
 ttt act tcc cta aca cca ggc cgc caa tac aaa att ctt gtc ttg acg 2400
 Phe Thr Ser Leu Thr Pro Gly Arg Gln Tyr Lys Ile Leu Val Leu Thr
 785 790 795 800
 att agc ggg gat gta cag cag tca gcc ttc att gag ggc ttc aca gtt 2448
 Ile Ser Gly Asp Val Gln Gln Ser Ala Phe Ile Glu Gly Phe Thr Val
 805 810 815
 cct agt gct gtc aaa aat att cac att tct ccc aat gga gca aca gat 2496

Pro Ser Ala Val Lys Asn Ile His Ile Ser Pro Asn Gly Ala Thr Asp
 820 825 830

agc ctg acg gtg aac tgg act cct ggt ggg gga gac gtt gat tcc tac 2544
 Ser Leu Thr Val Asn Trp Thr Pro Gly Gly Gly Asp Val Asp Ser Tyr
 835 840 845

acg gtg tgg gca ttc agg cac agt caa aag gtt gac tct cag act att 2592
 Thr Val Ser Ala Phe Arg His Ser Gln Lys Val Asp Ser Gln Thr Ile
 850 855 860

ccc aag cac gtc ttt gag cac acg ttc cac aga ctg gag gcc ggg gag 2640
 Pro Lys His Val Phe Glu His Thr Phe His Arg Leu Glu Ala Gly Glu
 865 870 875 880

cag tac cag atc atg att gcc tca gtc agc ggg tcc ctg aag aat cag 2688
 Gln Tyr Gln Ile Met Ile Ala Ser Val Ser Gly Ser Leu Lys Asn Gln
 885 890 895

ata aat gtg gtt ggg cgg aca gtt cca gca tct gtc caa gga gta att 2736
 Ile Asn Val Val Gly Arg Thr Val Pro Ala Ser Val Gln Gly Val Ile
 900 905 910

gca gac aat gca tac agc agt tat tcc tta ata gta agt tgg caa aaa 2784
 Ala Asp Asn Ala Tyr Ser Ser Tyr Ser Leu Ile Val Ser Trp Gln Lys
 915 920 925

gct gct ggt gtg gca gaa aga tat gat atc ctg ctt cta act gaa aat 2832
 Ala Ala Gly Val Ala Glu Arg Tyr Asp Ile Leu Leu Leu Thr Glu Asn
 930 935 940

gga atc ctt ctg cgc aac aca tca gag cca gcc acc act aag caa cac 2880
 Gly Ile Leu Leu Arg Asn Thr Ser Glu Pro Ala Thr Thr Lys Gln His
 945 950 955 960

aaa ttt gaa gat cta aca cca ggc aag aaa tac aag ata cag atc cta 2928
 Lys Phe Glu Asp Leu Thr Pro Gly Lys Lys Tyr Lys Ile Gln Ile Leu
 965 970 975

act gtc agt gga ggc ctc ttt agc aag gaa gcc cag act gaa ggc cga 2976
 Thr Val Ser Gly Gly Leu Phe Ser Lys Glu Ala Gln Thr Glu Gly Arg
 980 985 990

aca gtc cca gca gct gtc acc gac ctg agg atc aca gag aac tcc acc 3024
 Thr Val Pro Ala Ala Val Thr Asp Leu Arg Ile Thr Glu Asn Ser Thr
 995 1000 1005

agg cac ctg tcc ttc cgc tgg acc gcc tca gag ggg gag ctc agc 3069
Arg His Leu Ser Phe Arg Trp Thr Ala Ser Glu Gly Glu Leu Ser
1010 1015 1020

tgg tac aac atc ttt ttg tac aac cca gat ggg aat ctc cag gag 3114
Trp Tyr Asn Ile Phe Leu Tyr Asn Pro Asp Gly Asn Leu Gln Glu
1025 1030 1035

aga gct caa gtt gac cca cta gtc cag agc ttc tct ttc cag aac 3159
Arg Ala Gln Val Asp Pro Leu Val Gln Ser Phe Ser Phe Gln Asn
1040 1045 1050

ttg cta caa ggc aga atg tac aag atg gtg att gta act cac agt 3204
Leu Leu Gln Gly Arg Met Tyr Lys Met Val Ile Val Thr His Ser
1055 1060 1065

ggg gag ctg tct aat gag tct ttc ata ttt ggt aga aca gtc cca 3249
Gly Glu Leu Ser Asn Glu Ser Phe Ile Phe Gly Arg Thr Val Pro
1070 1075 1080

gcc tct gtg agt cat ctc agg ggg tcc aat cgg aac acg aca gac 3294
Ala Ser Val Ser His Leu Arg Gly Ser Asn Arg Asn Thr Thr Asp
1085 1090 1095

agc ctt tgg ttc aac tgg agt cca gcc tct ggg gac ttt gac ttt 3339
Ser Leu Trp Phe Asn Trp Ser Pro Ala Ser Gly Asp Phe Asp Phe
1100 1105 1110

tat gag ctg att ctc tat aat ccc aat ggc aca aag aag gaa aac 3384
Tyr Glu Leu Ile Leu Tyr Asn Pro Asn Gly Thr Lys Lys Glu Asn
1115 1120 1125

tgg aaa gac aag gac ctg acg gag tgg cgg ttt caa ggc ctt gtt 3429
Trp Lys Asp Lys Asp Leu Thr Glu Trp Arg Phe Gln Gly Leu Val
1130 1135 1140

cct gga agg aag tac gtg ctg tgg gtg gta act cac agt gga gat 3474
Pro Gly Arg Lys Tyr Val Leu Trp Val Val Thr His Ser Gly Asp
1145 1150 1155

ctc agc aat aaa gtc aca gcg gag agc aga aca gct cca agt cct 3519
Leu Ser Asn Lys Val Thr Ala Glu Ser Arg Thr Ala Pro Ser Pro
1160 1165 1170

ccc agt ctt atg tca ttt gct gac att gca aac aca tcc ttg gcc 3564
Pro Ser Leu Met Ser Phe Ala Asp Ile Ala Asn Thr Ser Leu Ala
1175 1180 1185

atc acg tgg aaa ggg ccc cca gac tgg aca gac tac aac gac ttt 3609
 Ile Thr Trp Lys Gly Pro Pro Asp Trp Thr Asp Tyr Asn Asp Phe
 1190 1195 1200

gag ctg cag tgg ttg ccc aga gat gca ctt act gtc ttc aac ccc 3654
 Glu Leu Gln Trp Leu Pro Arg Asp Ala Leu Thr Val Phe Asn Pro
 1205 1210 1215

tac aac aac aga aaa tca gaa gga cgc att gtg tat ggt ctt cgt 3699
 Tyr Asn Asn Arg Lys Ser Glu Gly Arg Ile Val Tyr Gly Leu Arg
 1220 1225 1230

cca ggg aga tcc tat caa ttc aac gtc aag act gtc agt ggt gat 3744
 Pro Gly Arg Ser Tyr Gln Phe Asn Val Lys Thr Val Ser Gly Asp
 1235 1240 1245

tcc tgg aaa act tac agc aaa cca att ttt gga tct gtg agg aca 3789
 Ser Trp Lys Thr Tyr Ser Lys Pro Ile Phe Gly Ser Val Arg Thr
 1250 1255 1260

aag cct gac aag ata caa aac ctg cat tgc cgg cct cag aac tcc 3834
 Lys Pro Asp Lys Ile Gln Asn Leu His Cys Arg Pro Gln Asn Ser
 1265 1270 1275

acg gcc att gcc tgt tct tgg atc cct cct gat tct gac ttt gat 3879
 Thr Ala Ile Ala Cys Ser Trp Ile Pro Pro Asp Ser Asp Phe Asp
 1280 1285 1290

ggt tat agt att gaa tgc cgg aaa atg gac acc caa gaa gtt gag 3924
 Gly Tyr Ser Ile Glu Cys Arg Lys Met Asp Thr Gln Glu Val Glu
 1295 1300 1305

ttt tcc aga aag ctg gag aaa gaa aaa tct ctg ctc aac atc atg 3969
 Phe Ser Arg Lys Leu Glu Lys Glu Lys Ser Leu Leu Asn Ile Met
 1310 1315 1320

atg cta gtg ccc cat aag agg tac ctg gtg tcc atc aaa gtg cag 4014
 Met Leu Val Pro His Lys Arg Tyr Leu Val Ser Ile Lys Val Gln
 1325 1330 1335

tcg gcc ggc atg acc agc gag gtg gtt gaa gac agc act atc aca 4059
 Ser Ala Gly Met Thr Ser Glu Val Val Glu Asp Ser Thr Ile Thr
 1340 1345 1350

atg ata gac cgc ccc cct cct cca ccc cca cac att cgt gtg aat 4104
 Met Ile Asp Arg Pro Pro Pro Pro Pro Pro His Ile Arg Val Asn

1355 1360 1365
 gaa aag gat gtg cta att agc aag tct tcc atc aac ttt act gtc 4149
 Glu Lys Asp Val Leu Ile Ser Lys Ser Ser Ile Asn Phe Thr Val
 1370 1375 1380
 aac tgc agc tgg ttc agc gac acc aat gga gct gtg aaa tac ttc 4194
 Asn Cys Ser Trp Phe Ser Asp Thr Asn Gly Ala Val Lys Tyr Phe
 1385 1390 1395
 aca gtg gtg gtg aga gag gct gat ggc agt gat gag ctg aag cca 4239
 Thr Val Val Val Arg Glu Ala Asp Gly Ser Asp Glu Leu Lys Pro
 1400 1405 1410
 gaa cag cag cac cct ctc cct tcc tac ctg gag tac agg cac aat 4284
 Glu Gln Gln His Pro Leu Pro Ser Tyr Leu Glu Tyr Arg His Asn
 1415 1420 1425
 gcc tcc att cgg gtg tat cag act aat tat ttt gcc agc aaa tgt 4329
 Ala Ser Ile Arg Val Tyr Gln Thr Asn Tyr Phe Ala Ser Lys Cys
 1430 1435 1440
 gcc gaa aat cct aac agc aac tcc aag agt ttt aac att aag ctt 4374
 Ala Glu Asn Pro Asn Ser Asn Ser Lys Ser Phe Asn Ile Lys Leu
 1445 1450 1455
 gga gca gag atg gag agc cta ggt gga aaa tgc gat ccc act cag 4419
 Gly Ala Glu Met Glu Ser Leu Gly Gly Lys Cys Asp Pro Thr Gln
 1460 1465 1470
 caa aaa ttc tgt gat gga cca ctg aag cca cac act gcc tac aga 4464
 Gln Lys Phe Cys Asp Gly Pro Leu Lys Pro His Thr Ala Tyr Arg
 1475 1480 1485
 atc agc att cga gct ttt aca cag ctc ttt gat gag gac ctg aag 4509
 Ile Ser Ile Arg Ala Phe Thr Gln Leu Phe Asp Glu Asp Leu Lys
 1490 1495 1500
 gaa ttc aca aag cca ctc tat tca gac aca ttt ttt tct tta ccc 4554
 Glu Phe Thr Lys Pro Leu Tyr Ser Asp Thr Phe Phe Ser Leu Pro
 1505 1510 1515
 atc act act gaa tca gag ccc ttg ttt gga gct att gaa cgc ggc 4599
 Ile Thr Thr Glu Ser Glu Pro Leu Phe Gly Ala Ile Glu Arg Gly
 1520 1525 1530
 cgc cat cat cat cat cat cac gga 4623

Arg His His His His His Gly
1535 1540

<210> 2

<211> 1541

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Leu Ser His Gly Ala Gly Leu Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Leu
1 5 10 15

Leu Gln Thr Gly Leu Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala
20 25 30

Glu Ser Lys Ala Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu
35 40 45

Gly Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly
50 55 60

Ala Ala Leu Cys Pro Thr Phe Arg Ile Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys
65 70 75 80

Asn Leu Gln Asp Leu Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Lys Ile Ile
85 90 95

Ser Leu Asp Glu Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu Pro
100 105 110

Pro Ala Arg Phe Gly Val Ser Lys Glu Lys Thr Thr Ser Thr Gly Leu
115 120 125

His Val Trp Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Thr Ser Tyr Glu Val
130 135 140

Gln Leu Phe Asp Glu Asn Asn Gln Lys Ile Gln Gly Val Gln Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ser Thr Ser Trp Asn Glu Tyr Thr Phe Phe Asn Leu Thr Ala Gly
165 170 175

Ser Lys Tyr Asn Ile Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Gly Lys Arg Ser
180 185 190

Phe Ser Val Tyr Thr Asn Gly Ser Thr Val Pro Ser Pro Val Lys Asp
195 200 205

Ile Gly Ile Ser Thr Lys Ala Asn Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser His
210 215 220

Gly Ser Gly Asn Val Glu Arg Tyr Arg Leu Met Leu Met Asp Lys Gly
225 230 235 240

Ile Leu Val His Gly Gly Val Val Asp Lys His Ala Thr Ser Tyr Ala
245 250 255

Phe His Gly Leu Thr Pro Gly Tyr Leu Tyr Asn Leu Thr Val Met Thr
260 265 270

Glu Ala Ala Gly Leu Gln Asn Tyr Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr Ala
275 280 285

Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Ser Leu Thr
290 295 300

Ser Leu Lys Val Lys Trp Gln Arg Pro Pro Gly Asn Val Asp Ser Tyr
305 310 315 320

Asn Ile Thr Leu Ser His Lys Gly Thr Ile Lys Glu Ser Arg Val Leu
325 330 335

Ala Pro Trp Ile Thr Glu Thr His Phe Lys Glu Leu Val Pro Gly Arg
340 345 350

Leu Tyr Gln Val Thr Val Ser Cys Val Ser Gly Glu Leu Ser Ala Gln
355 360 365

Lys Met Ala Val Gly Arg Thr Phe Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg
370 375 380

Val Lys His Ala Asn Glu Thr Ser Leu Ser Ile Met Trp Gln Thr Pro
385 390 395 400

Val Ala Glu Trp Glu Lys Tyr Ile Ile Ser Leu Ala Asp Arg Asp Leu
405 410 415

Leu Leu Ile His Lys Ser Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe
420 425 430

Thr Asp Leu Val Pro Gly Arg Lys Tyr Met Ala Thr Val Thr Ser Ile
435 440 445

Ser Gly Asp Leu Lys Asn Ser Ser Ser Val Lys Gly Arg Thr Val Pro
450 455 460

Ala Gln Val Thr Asp Leu His Val Ala Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser
465 470 475 480

Leu Phe Thr Asn Trp Thr Gln Ala Gln Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln
485 490 495

Val Leu Leu Ile His Glu Asn Val Val Ile Lys Asn Glu Ser Ile Ser
500 505 510

Ser Glu Thr Ser Arg Tyr Ser Phe His Ser Leu Lys Ser Gly Ser Leu
515 520 525

Tyr Ser Val Val Val Thr Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln
530 535 540

Val Val Val Glu Gly Arg Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr
545 550 555 560

Val Asn Asn Ser Gly Arg Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Leu
565 570 575

Ala Pro Gly Asp Val Asp Asn Tyr Glu Val Thr Leu Ser His Asp Gly
580 585 590

Lys Val Val Gln Ser Leu Val Ile Ala Lys Ser Val Arg Glu Cys Ser
595 600 605

Phe Ser Ser Leu Thr Pro Gly Arg Leu Tyr Thr Val Thr Ile Thr Thr
610 615 620

Arg Ser Gly Lys Tyr Glu Asn His Ser Phe Ser Gln Glu Arg Thr Val
625 630 635 640

Pro Asp Lys Val Gln Gly Val Ser Val Ser Asn Ser Ala Arg Ser Asp
645 650 655

Tyr Leu Arg Val Ser Trp Val His Ala Thr Gly Asp Phe Asp His Tyr
660 665 670

Glu Val Thr Ile Lys Asn Lys Asn Asn Phe Ile Gln Thr Lys Ser Ile
675 680 685

Pro Lys Ser Glu Asn Glu Cys Val Phe Val Gln Leu Val Pro Gly Arg
690 695 700

Leu Tyr Ser Val Thr Val Thr Thr Lys Ser Gly Gln Tyr Glu Ala Asn

705 710 715 720
 Glu Gln Gly Asn Gly Arg Thr Ile Pro Glu Pro Val Lys Asp Leu Thr
 725 730 735
 Leu Arg Asn Arg Ser Thr Glu Asp Leu His Val Thr Trp Ser Gly Ala
 740 745 750
 Asn Gly Asp Val Asp Gln Tyr Glu Ile Gln Leu Leu Phe Asn Asp Met
 755 760 765
 Lys Val Phe Pro Pro Phe His Leu Val Asn Thr Ala Thr Glu Tyr Arg
 770 775 780
 Phe Thr Ser Leu Thr Pro Gly Arg Gln Tyr Lys Ile Leu Val Leu Thr
 785 790 795 800
 Ile Ser Gly Asp Val Gln Gln Ser Ala Phe Ile Glu Gly Phe Thr Val
 805 810 815
 Pro Ser Ala Val Lys Asn Ile His Ile Ser Pro Asn Gly Ala Thr Asp
 820 825 830
 Ser Leu Thr Val Asn Trp Thr Pro Gly Gly Gly Asp Val Asp Ser Tyr
 835 840 845
 Thr Val Ser Ala Phe Arg His Ser Gln Lys Val Asp Ser Gln Thr Ile
 850 855 860
 Pro Lys His Val Phe Glu His Thr Phe His Arg Leu Glu Ala Gly Glu
 865 870 875 880
 Gln Tyr Gln Ile Met Ile Ala Ser Val Ser Gly Ser Leu Lys Asn Gln
 885 890 895

Ile Asn Val Val Gly Arg Thr Val Pro Ala Ser Val Gln Gly Val Ile
 900 905 910

Ala Asp Asn Ala Tyr Ser Ser Tyr Ser Leu Ile Val Ser Trp Gln Lys
 915 920 925

Ala Ala Gly Val Ala Glu Arg Tyr Asp Ile Leu Leu Leu Thr Glu Asn
 930 935 940

Gly Ile Leu Leu Arg Asn Thr Ser Glu Pro Ala Thr Thr Lys Gln His
 945 950 955 960

Lys Phe Glu Asp Leu Thr Pro Gly Lys Lys Tyr Lys Ile Gln Ile Leu
 965 970 975

Thr Val Ser Gly Gly Leu Phe Ser Lys Glu Ala Gln Thr Glu Gly Arg
 980 985 990

Thr Val Pro Ala Ala Val Thr Asp Leu Arg Ile Thr Glu Asn Ser Thr
 995 1000 1005

Arg His Leu Ser Phe Arg Trp Thr Ala Ser Glu Gly Glu Leu Ser
 1010 1015 1020

Trp Tyr Asn Ile Phe Leu Tyr Asn Pro Asp Gly Asn Leu Gln Glu
 1025 1030 1035

Arg Ala Gln Val Asp Pro Leu Val Gln Ser Phe Ser Phe Gln Asn
 1040 1045 1050

Leu Leu Gln Gly Arg Met Tyr Lys Met Val Ile Val Thr His Ser
 1055 1060 1065

Gly Glu Leu Ser Asn Glu Ser Phe Ile Phe Gly Arg Thr Val Pro
 1070 1075 1080

Ala Ser Val Ser His Leu Arg Gly Ser Asn Arg Asn Thr Thr Asp
1085 1090 1095

Ser Leu Trp Phe Asn Trp Ser Pro Ala Ser Gly Asp Phe Asp Phe
1100 1105 1110

Tyr Glu Leu Ile Leu Tyr Asn Pro Asn Gly Thr Lys Lys Glu Asn
1115 1120 1125

Trp Lys Asp Lys Asp Leu Thr Glu Trp Arg Phe Gln Gly Leu Val
1130 1135 1140

Pro Gly Arg Lys Tyr Val Leu Trp Val Val Thr His Ser Gly Asp
1145 1150 1155

Leu Ser Asn Lys Val Thr Ala Glu Ser Arg Thr Ala Pro Ser Pro
1160 1165 1170

Pro Ser Leu Met Ser Phe Ala Asp Ile Ala Asn Thr Ser Leu Ala
1175 1180 1185

Ile Thr Trp Lys Gly Pro Pro Asp Trp Thr Asp Tyr Asn Asp Phe
1190 1195 1200

Glu Leu Gln Trp Leu Pro Arg Asp Ala Leu Thr Val Phe Asn Pro
1205 1210 1215

Tyr Asn Asn Arg Lys Ser Glu Gly Arg Ile Val Tyr Gly Leu Arg
1220 1225 1230

Pro Gly Arg Ser Tyr Gln Phe Asn Val Lys Thr Val Ser Gly Asp
1235 1240 1245

Ser Trp Lys Thr Tyr Ser Lys Pro Ile Phe Gly Ser Val Arg Thr
1250 1255 1260

Lys Pro Asp Lys Ile Gln Asn Leu His Cys Arg Pro Gln Asn Ser
1265 1270 1275

Thr Ala Ile Ala Cys Ser Trp Ile Pro Pro Asp Ser Asp Phe Asp
1280 1285 1290

Gly Tyr Ser Ile Glu Cys Arg Lys Met Asp Thr Gln Glu Val Glu
1295 1300 1305

Phe Ser Arg Lys Leu Glu Lys Glu Lys Ser Leu Leu Asn Ile Met
1310 1315 1320

Met Leu Val Pro His Lys Arg Tyr Leu Val Ser Ile Lys Val Gln
1325 1330 1335

Ser Ala Gly Met Thr Ser Glu Val Val Glu Asp Ser Thr Ile Thr
1340 1345 1350

Met Ile Asp Arg Pro Pro Pro Pro Pro Pro His Ile Arg Val Asn
1355 1360 1365

Glu Lys Asp Val Leu Ile Ser Lys Ser Ser Ile Asn Phe Thr Val
1370 1375 1380

Asn Cys Ser Trp Phe Ser Asp Thr Asn Gly Ala Val Lys Tyr Phe
1385 1390 1395

Thr Val Val Val Arg Glu Ala Asp Gly Ser Asp Glu Leu Lys Pro
1400 1405 1410

Glu Gln Gln His Pro Leu Pro Ser Tyr Leu Glu Tyr Arg His Asn
1415 1420 1425

Ala Ser Ile Arg Val Tyr Gln Thr Asn Tyr Phe Ala Ser Lys Cys

1430 1435 1440

Ala Glu Asn Pro Asn Ser Asn Ser Lys Ser Phe Asn Ile Lys Leu
1445 1450 1455

Gly Ala Glu Met Glu Ser Leu Gly Gly Lys Cys Asp Pro Thr Gln
1460 1465 1470

Gln Lys Phe Cys Asp Gly Pro Leu Lys Pro His Thr Ala Tyr Arg
1475 1480 1485

Ile Ser Ile Arg Ala Phe Thr Gln Leu Phe Asp Glu Asp Leu Lys
1490 1495 1500

Glu Phe Thr Lys Pro Leu Tyr Ser Asp Thr Phe Phe Ser Leu Pro
1505 1510 1515

Ile Thr Thr Glu Ser Glu Pro Leu Phe Gly Ala Ile Glu Arg Gly
1520 1525 1530

Arg His His His His His Gly
1535 1540

<210> 3
<211> 1621
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Leu Ser His Gly Ala Gly Leu Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Leu
1 5 10 15

Leu Gln Thr Gly Leu Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala
20 25 30

Glu Ser Lys Ala Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu

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

Gly Ser Gly Asn Val Glu Arg Tyr Arg Leu Met Leu Met Asp Lys Gly
225 230 235 240

Ile Leu Val His Gly Gly Val Val Asp Lys His Ala Thr Ser Tyr Ala
245 250 255

Phe His Gly Leu Ser Pro Gly Tyr Leu Tyr Asn Leu Thr Val Met Thr
260 265 270

Glu Ala Ala Gly Leu Gln Asn Tyr Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr Ala
275 280 285

Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Ser Leu Thr
290 295 300

Ser Leu Lys Val Lys Trp Gln Arg Pro Pro Gly Asn Val Asp Ser Tyr
305 310 315 320

Asn Ile Thr Leu Ser His Lys Gly Thr Ile Lys Glu Ser Arg Val Leu
325 330 335

Ala Pro Trp Ile Thr Glu Thr His Phe Lys Glu Leu Val Pro Gly Arg
340 345 350

Leu Tyr Gln Val Thr Val Ser Cys Val Ser Gly Glu Leu Ser Ala Gln
355 360 365

Lys Met Ala Val Gly Arg Thr Phe Pro Asp Lys Val Ala Asn Leu Glu
370 375 380

Ala Asn Asn Asn Gly Arg Met Arg Ser Leu Val Val Ser Trp Ser Pro
385 390 395 400

Pro Ala Gly Asp Trp Glu Gln Tyr Arg Ile Leu Leu Phe Asn Asp Ser
405 410 415

Val Val Leu Leu Asn Ile Thr Val Gly Lys Glu Glu Thr Gln Tyr Val
 420 425 430

Met Asp Asp Thr Gly Leu Val Pro Gly Arg Gln Tyr Glu Val Glu Val
 435 440 445

Ile Val Glu Ser Gly Asn Leu Lys Asn Ser Glu Arg Cys Gln Gly Arg
 450 455 460

Thr Val Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg Val Lys His Ala Asn Glu
 465 470 475 480

Thr Ser Leu Ser Ile Met Trp Gln Thr Pro Val Ala Glu Trp Glu Lys
 485 490 495

Tyr Ile Ile Ser Leu Ala Asp Arg Asp Leu Leu Leu Ile His Lys Ser
 500 505 510

Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe Thr Asp Leu Val Pro Gly
 515 520 525

Arg Lys Tyr Met Ala Thr Val Thr Ser Ile Ser Gly Asp Leu Lys Asn
 530 535 540

Ser Ser Ser Val Lys Gly Arg Thr Val Pro Ala Gln Val Thr Asp Leu
 545 550 555 560

His Val Ala Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser Leu Phe Thr Asn Trp Thr
 565 570 575

Gln Ala Gln Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln Val Leu Leu Ile His Glu
 580 585 590

Asn Val Val Ile Lys Asn Glu Ser Ile Ser Ser Glu Thr Ser Arg Tyr
 595 600 605

Ser Phe His Ser Leu Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Ser Val Val Val Thr
 610 615 620

Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln Val Val Val Glu Gly Arg
 625 630 635 640

Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr Val Asn Asn Ser Gly Arg
 645 650 655

Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Leu Ala Pro Gly Asp Val Asp
 660 665 670

Asn Tyr Glu Val Thr Leu Ser His Asp Gly Lys Val Val Gln Ser Leu
 675 680 685

Val Ile Ala Lys Ser Val Arg Glu Cys Ser Phe Ser Ser Leu Thr Pro
 690 695 700

Gly Arg Leu Tyr Thr Val Thr Ile Thr Thr Arg Ser Gly Lys Tyr Glu
 705 710 715 720

Asn His Ser Phe Ser Gln Glu Arg Thr Val Pro Asp Lys Val Gln Gly
 725 730 735

Val Ser Val Ser Asn Ser Ala Arg Ser Asp Tyr Leu Arg Val Ser Trp
 740 745 750

Val His Ala Thr Gly Asp Phe Asp His Tyr Glu Val Thr Ile Lys Asn
 755 760 765

Lys Asn Asn Phe Ile Gln Thr Lys Ser Ile Pro Lys Ser Glu Asn Glu
 770 775 780

Cys Val Phe Val Gln Leu Val Pro Gly Arg Leu Tyr Ser Val Thr Val

785 790 795 800
 Thr Thr Lys Ser Gly Gln Tyr Glu Ala Asn Glu Gln Gly Asn Gly Arg
 805 810 815
 Thr Ile Pro Glu Pro Val Lys Asp Leu Thr Leu Arg Asn Arg Ser Thr
 820 825 830
 Glu Asp Leu His Val Thr Trp Ser Gly Ala Asn Gly Asp Val Asp Gln
 835 840 845
 Tyr Glu Ile Gln Leu Leu Phe Asn Asp Met Lys Val Phe Pro Pro Phe
 850 855 860
 His Leu Val Asn Thr Ala Thr Glu Tyr Arg Phe Thr Ser Leu Thr Pro
 865 870 875 880
 Gly Arg Gln Tyr Lys Ile Leu Val Leu Thr Ile Ser Gly Asp Val Gln
 885 890 895
 Gln Ser Ala Phe Ile Glu Gly Phe Thr Val Pro Ser Ala Val Lys Asn
 900 905 910
 Ile His Ile Ser Pro Asn Gly Ala Thr Asp Ser Leu Thr Val Asn Trp
 915 920 925
 Thr Pro Gly Gly Gly Asp Val Asp Ser Tyr Thr Val Ser Ala Phe Arg
 930 935 940
 His Ser Gln Lys Val Asp Ser Gln Thr Ile Pro Lys His Val Phe Glu
 945 950 955 960
 His Thr Phe His Arg Leu Glu Ala Gly Glu Gln Tyr Gln Ile Met Ile
 965 970 975

Ala Ser Val Ser Gly Ser Leu Lys Asn Gln Ile Asn Val Val Gly Arg
 980 985 990

Thr Val Pro Ala Ser Val Gln Gly Val Ile Ala Asp Asn Ala Tyr Ser
 995 1000 1005

Ser Tyr Ser Leu Ile Val Ser Trp Gln Lys Ala Ala Gly Val Ala
 1010 1015 1020

Glu Arg Tyr Asp Ile Leu Leu Leu Thr Glu Asn Gly Ile Leu Leu
 1025 1030 1035

Arg Asn Thr Ser Glu Pro Ala Thr Thr Lys Gln His Lys Phe Glu
 1040 1045 1050

Asp Leu Thr Pro Gly Lys Lys Tyr Lys Ile Gln Ile Leu Thr Val
 1055 1060 1065

Ser Gly Gly Leu Phe Ser Lys Glu Ala Gln Thr Glu Gly Arg Thr
 1070 1075 1080

Val Pro Ala Ala Val Thr Asp Leu Arg Ile Thr Glu Asn Ser Thr
 1085 1090 1095

Arg His Leu Ser Phe Arg Trp Thr Ala Ser Glu Gly Glu Leu Ser
 1100 1105 1110

Trp Tyr Asn Ile Phe Leu Tyr Asn Pro Asp Gly Asn Leu Gln Glu
 1115 1120 1125

Arg Ala Gln Val Asp Pro Leu Val Gln Ser Phe Ser Phe Gln Asn
 1130 1135 1140

Leu Leu Gln Gly Arg Met Tyr Lys Met Val Ile Val Thr His Ser
 1145 1150 1155

Gly Glu Leu Ser Asn Glu Ser Phe Ile Phe Gly Arg Thr Val Pro
1160 1165 1170

Ala Ser Val Ser His Leu Arg Gly Ser Asn Arg Asn Thr Thr Asp
1175 1180 1185

Ser Leu Trp Phe Asn Trp Ser Pro Ala Ser Gly Asp Phe Asp Phe
1190 1195 1200

Tyr Glu Leu Ile Leu Tyr Asn Pro Asn Gly Thr Lys Lys Glu Asn
1205 1210 1215

Trp Lys Asp Lys Asp Leu Thr Glu Trp Arg Phe Gln Gly Leu Val
1220 1225 1230

Pro Gly Arg Lys Tyr Val Leu Trp Val Val Thr His Ser Gly Asp
1235 1240 1245

Leu Ser Asn Lys Val Thr Ala Glu Ser Arg Thr Ala Pro Ser Pro
1250 1255 1260

Pro Ser Leu Met Ser Phe Ala Asp Ile Ala Asn Thr Ser Leu Ala
1265 1270 1275

Ile Thr Trp Lys Gly Pro Pro Asp Trp Thr Asp Tyr Asn Asp Phe
1280 1285 1290

Glu Leu Gln Trp Leu Pro Arg Asp Ala Leu Thr Val Phe Asn Pro
1295 1300 1305

Tyr Asn Asn Arg Lys Ser Glu Gly Arg Ile Val Tyr Gly Leu Arg
1310 1315 1320

Pro Gly Arg Ser Tyr Gln Phe Asn Val Lys Thr Val Ser Gly Asp
1325 1330 1335

Ser Trp Lys Thr Tyr Ser Lys Pro Ile Phe Gly Ser Val Arg Thr
 1340 1345 1350

Lys Pro Asp Lys Ile Gln Asn Leu His Cys Arg Pro Gln Asn Ser
 1355 1360 1365

Thr Ala Ile Ala Cys Ser Trp Ile Pro Pro Asp Ser Asp Phe Asp
 1370 1375 1380

Gly Tyr Ser Ile Glu Cys Arg Lys Met Asp Thr Gln Glu Val Glu
 1385 1390 1395

Phe Ser Arg Lys Leu Glu Lys Glu Lys Ser Leu Leu Asn Ile Met
 1400 1405 1410

Met Leu Val Pro His Lys Arg Tyr Leu Val Ser Ile Lys Val Gln
 1415 1420 1425

Ser Ala Gly Met Thr Ser Glu Val Val Glu Asp Ser Thr Ile Thr
 1430 1435 1440

Met Ile Asp Arg Pro Pro Pro Pro Pro Pro His Ile Arg Val Asn
 1445 1450 1455

Glu Lys Asp Val Leu Ile Ser Lys Ser Ser Ile Asn Phe Thr Val
 1460 1465 1470

Asn Cys Ser Trp Phe Ser Asp Thr Asn Gly Ala Val Lys Tyr Phe
 1475 1480 1485

Thr Val Val Val Arg Glu Ala Asp Gly Ser Asp Glu Leu Lys Pro
 1490 1495 1500

Glu Gln Gln His Pro Leu Pro Ser Tyr Leu Glu Tyr Arg His Asn

1505	1510	1515	
Ala Ser Ile Arg Val Tyr Gln Thr Asn Tyr Phe Ala Ser Lys Cys			
1520	1525	1530	
Ala Glu Asn Pro Asn Ser Asn Ser Lys Ser Phe Asn Ile Lys Leu			
1535	1540	1545	
Gly Ala Glu Met Glu Ser Leu Gly Gly Lys Arg Asp Pro Thr Gln			
1550	1555	1560	
Gln Lys Phe Cys Asp Gly Pro Leu Lys Pro His Thr Ala Tyr Arg			
1565	1570	1575	
Ile Ser Ile Arg Ala Phe Thr Gln Leu Phe Asp Glu Asp Leu Lys			
1580	1585	1590	
Glu Phe Thr Lys Pro Leu Tyr Ser Asp Thr Phe Phe Ser Leu Pro			
1595	1600	1605	
Ile Thr Thr Glu Ser Glu Pro Leu Phe Gly Ala Ile Glu			
1610	1615	1620	
<210> 4			
<211> 775			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<400> 4			
Met Leu Ser His Gly Ala Gly Leu Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Leu			
1	5	10	15
Leu Gln Thr Gly Leu Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala			
20	25	30	
Glu Ser Lys Ala Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu			

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

Gly Ser Gly Asn Val Glu Arg Tyr Arg Leu Met Leu Met Asp Lys Gly
225 230 235 240

Ile Leu Val His Gly Gly Val Val Asp Lys His Ala Thr Ser Tyr Ala
245 250 255

Phe His Gly Leu Thr Pro Gly Tyr Leu Tyr Asn Leu Thr Val Met Thr
260 265 270

Glu Ala Ala Gly Leu Gln Asn Tyr Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr Ala
275 280 285

Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Ser Leu Thr
290 295 300

Ser Leu Lys Val Lys Trp Gln Arg Pro Pro Gly Asn Val Asp Ser Tyr
305 310 315 320

Asn Ile Thr Leu Ser His Lys Gly Thr Ile Lys Glu Ser Arg Val Leu
325 330 335

Ala Pro Trp Ile Thr Glu Thr His Phe Lys Glu Leu Val Pro Gly Arg
340 345 350

Leu Tyr Gln Val Thr Val Ser Cys Val Ser Gly Glu Leu Ser Ala Gln
355 360 365

Lys Met Ala Val Gly Arg Thr Phe Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg
370 375 380

Val Lys His Ala Asn Glu Thr Ser Leu Ser Ile Met Trp Gln Thr Pro
385 390 395 400

Val Ala Glu Trp Glu Lys Tyr Ile Ile Ser Leu Ala Asp Arg Asp Leu
405 410 415

Leu Leu Ile His Lys Ser Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe
420 425 430

Thr Asp Leu Val Pro Gly Arg Lys Tyr Met Ala Thr Val Thr Ser Ile
435 440 445

Ser Gly Asp Leu Lys Asn Ser Ser Ser Val Lys Gly Arg Thr Val Pro
450 455 460

Ala Gln Val Thr Asp Leu His Val Ala Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser
465 470 475 480

Leu Phe Thr Asn Trp Thr Gln Ala Gln Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln
485 490 495

Val Leu Leu Ile His Glu Asn Val Val Ile Lys Asn Glu Ser Ile Ser
500 505 510

Ser Glu Thr Ser Arg Tyr Ser Phe His Ser Leu Lys Ser Gly Ser Leu
515 520 525

Tyr Ser Val Val Val Thr Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln
530 535 540

Val Val Val Glu Gly Arg Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr
545 550 555 560

Val Asn Asn Ser Gly Arg Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Leu
565 570 575

Ala Pro Gly Asp Val Asp Asn Tyr Glu Val Thr Leu Ser His Asp Gly
580 585 590

Lys Val Val Gln Ser Leu Val Ile Ala Lys Ser Val Arg Glu Cys Ser
595 600 605

Phe Ser Ser Leu Thr Pro Gly Arg Leu Tyr Thr Val Thr Ile Thr Thr
610 615 620

Arg Ser Gly Lys Tyr Glu Asn His Ser Phe Ser Gln Glu Arg Thr Val
625 630 635 640

Pro Asp Lys Val Gln Gly Val Ser Val Ser Asn Ser Ala Arg Ser Asp
645 650 655

Tyr Leu Arg Val Ser Trp Val His Ala Thr Gly Asp Phe Asp His Tyr
660 665 670

Glu Val Thr Ile Lys Asn Lys Asn Asn Phe Ile Gln Thr Lys Ser Ile
675 680 685

Pro Lys Ser Glu Asn Glu Cys Val Phe Val Gln Leu Val Pro Gly Arg
690 695 700

Leu Tyr Ser Val Thr Val Thr Thr Lys Ser Gly Gln Tyr Glu Ala Asn
705 710 715 720

Glu Gln Gly Asn Gly Arg Thr Ile Pro Glu Lys Gly Asn Ser Ala Asp
725 730 735

Ile Gln His Ser Gly Gly Arg Ser Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu
740 745 750

Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr
755 760 765

Gly His His His His His His
770 775

<210> 5

<211> 421
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 5

Met Leu Ser His Gly Ala Gly Leu Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Leu
 1 5 10 15

Leu Gln Thr Gly Leu Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala
 20 25 30

Glu Ser Lys Ala Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu
 35 40 45

Gly Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly
 50 55 60

Ala Ala Leu Cys Pro Thr Phe Arg Ile Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys
 65 70 75 80

Asn Leu Gln Asp Leu Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Lys Ile Ile
 85 90 95

Ser Leu Asp Glu Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu Pro
 100 105 110

Pro Ala Arg Phe Gly Val Ser Lys Glu Lys Thr Thr Ser Thr Gly Leu
 115 120 125

His Val Trp Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Thr Ser Tyr Glu Val
 130 135 140

Gln Leu Phe Asp Glu Asn Asn Gln Lys Ile Gln Gly Val Gln Ile Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Thr Ser Trp Asn Glu Tyr Thr Phe Phe Asn Leu Thr Ala Gly

165	170	175
Ser Lys Tyr Asn Ile Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Gly Lys Arg Ser		
180	185	190
Phe Ser Val Tyr Thr Asn Gly Ser Thr Val Pro Ser Pro Val Lys Asp		
195	200	205
Ile Gly Ile Ser Thr Lys Ala Asn Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser His		
210	215	220
Gly Ser Gly Asn Val Glu Arg Tyr Arg Leu Met Leu Met Asp Lys Gly		
225	230	235 240
Ile Leu Val His Gly Gly Val Val Asp Lys His Ala Thr Ser Tyr Ala		
245	250	255
Phe His Gly Leu Thr Pro Gly Tyr Leu Tyr Asn Leu Thr Val Met Thr		
260	265	270
Glu Ala Ala Gly Leu Gln Asn Tyr Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr Ala		
275	280	285
Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Ser Leu Thr		
290	295	300
Ser Leu Lys Val Lys Trp Gln Arg Pro Pro Gly Asn Val Asp Ser Tyr		
305	310	315 320
Asn Ile Thr Leu Ser His Lys Gly Thr Ile Lys Glu Ser Arg Val Leu		
325	330	335
Ala Pro Trp Ile Thr Glu Thr His Phe Lys Glu Leu Val Pro Gly Arg		
340	345	350

Leu Tyr Gln Val Thr Val Ser Cys Val Ser Gly Glu Leu Ser Ala Gln
355 360 365

Lys Met Ala Val Gly Arg Thr Phe Lys Gly Asn Ser Ala Asp Ile Gln
370 375 380

His Ser Gly Gly Arg Ser Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu Gly Lys
385 390 395 400

Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr Gly His
405 410 415

His His His His His
420

<210> 6
<211> 247
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Leu Ser His Gly Ala Gly Leu Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Leu
1 5 10 15

Leu Gln Thr Gly Leu Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala
20 25 30

Glu Ser Lys Ala Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu
35 40 45

Gly Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly
50 55 60

Ala Ala Leu Cys Pro Thr Phe Arg Ile Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys
65 70 75 80

Asn Leu Gln Asp Leu Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Lys Ile Ile
85 90 95

Ser Leu Asp Glu Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu Pro
100 105 110

Pro Ala Arg Phe Gly Val Ser Lys Glu Lys Thr Thr Ser Thr Gly Leu
115 120 125

His Val Trp Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Thr Ser Tyr Glu Val
130 135 140

Gln Leu Phe Asp Glu Asn Asn Gln Lys Ile Gln Gly Val Gln Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ser Thr Ser Trp Asn Glu Tyr Thr Phe Phe Asn Leu Thr Ala Gly
165 170 175

Ser Lys Tyr Asn Ile Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Gly Lys Arg Ser
180 185 190

Phe Ser Val Tyr Thr Asn Gly Ser Thr Val Lys Gly Asn Ser Ala Asp
195 200 205

Ile Gln His Ser Gly Gly Arg Ser Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu
210 215 220

Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr
225 230 235 240

Gly His His His His His His
245

<210> 7
<211> 1632
<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 7

Met Leu Arg His Gly Ala Leu Thr Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Val
1 5 10 15

Val Gln Thr Gly Val Ala Glu Gln Val Lys Cys Asn Phe Thr Leu Leu
20 25 30

Glu Ser Arg Val Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gln Trp Arg Thr Phe
35 40 45

Ala Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Ser Gly
50 55 60

Pro Met Trp Cys His Pro Ile Arg Ile Asp Asn Phe Thr Tyr Gly Cys
65 70 75 80

Asn Pro Lys Asp Leu Gln Ala Gly Thr Val Tyr Asn Phe Arg Ile Val
85 90 95

Ser Leu Asp Gly Glu Glu Ser Thr Leu Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu
100 105 110

Pro Pro Ala Arg Phe Glu Val Asn Arg Glu Lys Thr Ala Ser Thr Thr
115 120 125

Leu Gln Val Arg Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Ser Trp Tyr Glu
130 135 140

Val Gln Leu Phe Asp His Asn Asn Gln Lys Ile Gln Glu Val Gln Val
145 150 155 160

Gln Glu Ser Thr Thr Trp Ser Gln Tyr Thr Phe Leu Asn Leu Thr Glu
165 170 175

Gly Asn Ser Tyr Lys Val Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Glu Lys Arg
180 185 190

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

Asp Leu Gly Ile Ser Pro Asn Pro Asn Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser
210 215 220

Arg Gly Ser Gly Asn Val Glu Gln Tyr Arg Leu Val Leu Met Asp Lys
225 230 235 240

Gly Ala Ile Val Gln Asp Thr Asn Val Asp Arg Arg Asp Thr Ser Tyr
245 250 255

Ala Phe His Glu Leu Thr Pro Gly His Leu Tyr Asn Leu Thr Ile Val
260 265 270

Thr Met Ala Ser Gly Leu Gln Asn Ser Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr
275 280 285

Ala Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Arg Leu
290 295 300

Thr Ser Leu Asn Val Lys Trp Gln Lys Pro Pro Gly Asp Val Asp Ser
305 310 315 320

Tyr Ser Ile Thr Leu Ser His Gln Gly Thr Ile Lys Glu Ser Lys Thr
325 330 335

Leu Ala Pro Pro Val Thr Glu Thr Gln Phe Lys Asp Leu Val Pro Gly
340 345 350

Arg Leu Tyr Gln Val Thr Ile Ser Cys Ile Ser Gly Glu Leu Ser Ala
355 360 365

Glu Lys Ser Ala Ala Gly Arg Thr Val Pro Glu Lys Val Arg Asn Leu
370 375 380

Val Ser Tyr Asn Glu Ile Trp Met Lys Ser Phe Thr Val Asn Trp Thr
385 390 395 400

Pro Pro Ala Gly Asp Trp Glu His Tyr Arg Ile Val Leu Phe Asn Glu
405 410 415

Ser Leu Val Leu Leu Asn Thr Thr Val Gly Lys Glu Glu Thr His Tyr
420 425 430

Ala Leu Asp Gly Leu Glu Leu Ile Pro Gly Arg Gln Tyr Glu Ile Glu
435 440 445

Val Ile Val Glu Ser Gly Asn Leu Arg Asn Ser Glu Arg Cys Gln Gly
450 455 460

Arg Thr Val Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg Val Lys His Ala Asn
465 470 475 480

Glu Thr Ser Leu Gly Ile Thr Trp Arg Ala Pro Leu Gly Glu Trp Glu
485 490 495

Lys Tyr Ile Ile Ser Leu Met Asp Arg Glu Leu Leu Val Ile His Lys
500 505 510

Ser Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe Thr Asp Leu Met Pro
515 520 525

Gly Arg Asn Tyr Lys Ala Thr Val Thr Ser Met Ser Gly Asp Leu Lys
530 535 540

Gln Ser Ser Ser Ile Lys Gly Arg Thr Val Pro Ala Gln Val Thr Asp

545 550 555 560
 Leu His Val Asn Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser Leu Phe Thr Asn Trp
 565 570 575
 Thr Lys Ala Leu Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln Val Leu Leu Ile His
 580 585 590
 Glu Asn Val Val Val Lys Asn Glu Ser Val Ser Ser Asp Thr Ser Arg
 595 600 605
 Tyr Ser Phe Arg Ala Leu Lys Pro Gly Ser Leu Tyr Ser Val Val Val
 610 615 620
 Thr Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln Val Val Ala Glu Gly
 625 630 635 640
 Arg Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr Val Asn Asn Ser Gly
 645 650 655
 Arg Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Pro Ala Pro Gly Glu Val
 660 665 670
 Asp His Tyr Val Val Ser Leu Ser His Glu Gly Lys Val Asp Gln Phe
 675 680 685
 Leu Ile Ile Ala Lys Ser Val Ser Glu Cys Ser Phe Ser Ser Leu Thr
 690 695 700
 Pro Gly Arg Leu Tyr Asn Val Thr Val Thr Thr Lys Ser Gly Asn Tyr
 705 710 715 720
 Ala Ser His Ser Phe Thr Glu Glu Arg Thr Val Pro Asp Lys Val Gln
 725 730 735

Gly Ile Ser Val Ser Asn Ser Ala Arg Ser Asp Tyr Leu Lys Val Ser
 740 745 750

Trp Val His Ala Thr Gly Asp Phe Asp His Tyr Glu Val Thr Ile Lys
 755 760 765

Asn Arg Glu Ser Phe Ile Gln Thr Lys Thr Ile Pro Lys Ser Glu Asn
 770 775 780

Glu Cys Glu Phe Ile Glu Leu Val Pro Gly Arg Leu Tyr Ser Val Thr
 785 790 795 800

Val Ser Thr Lys Ser Gly Gln Tyr Glu Ala Ser Glu Gln Gly Thr Gly
 805 810 815

Arg Thr Ile Pro Glu Pro Val Lys Asp Leu Thr Leu Leu Asn Arg Ser
 820 825 830

Thr Glu Asp Leu His Val Thr Trp Ser Arg Ala Asn Gly Asp Val Asp
 835 840 845

Gln Tyr Glu Val Gln Leu Leu Phe Asn Asp Met Lys Val Phe Pro His
 850 855 860

Ile His Leu Val Asn Thr Ala Thr Glu Tyr Lys Phe Thr Ala Leu Thr
 865 870 875 880

Pro Gly Arg His Tyr Lys Ile Leu Val Leu Thr Ile Ser Gly Asp Val
 885 890 895

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

Asn Ile His Ile Ser Ala Asn Gly Ala Thr Asp Arg Leu Met Val Thr
 915 920 925

Trp Ser Pro Gly Gly Gly Asp Val Asp Ser Tyr Val Val Ser Ala Phe
930 935 940

Arg Gln Asp Glu Lys Val Asp Ser Gln Thr Ile Pro Lys His Ala Ser
945 950 955 960

Glu His Thr Phe His Arg Leu Glu Ala Gly Ala Lys Tyr Arg Ile Ala
965 970 975

Ile Val Ser Val Ser Gly Ser Leu Arg Asn Gln Ile Asp Ala Leu Gly
980 985 990

Gln Thr Val Pro Ala Ser Val Gln Glu Val Val Ala Ala Asn Ala Tyr
995 1000 1005

Ser Ser Asn Ser Leu Thr Val Ser Trp Gln Lys Ala Leu Gly Val
1010 1015 1020

Ala Glu Arg Tyr Asp Ile Leu Leu Leu Asn Glu Asn Gly Leu Leu
1025 1030 1035

Leu Ser Asn Val Ser Glu Pro Ala Thr Ala Arg Gln His Lys Phe
1040 1045 1050

Glu Asp Leu Thr Pro Gly Lys Lys Tyr Lys Met Gln Ile Leu Thr
1055 1060 1065

Val Ser Gly Gly Leu Phe Ser Lys Glu Ser Gln Ala Glu Gly Arg
1070 1075 1080

Thr Val Pro Ala Ala Val Thr Asn Leu Arg Ile Thr Glu Asn Ser
1085 1090 1095

Ser Arg Tyr Leu Ser Phe Gly Trp Thr Ala Ser Glu Gly Glu Leu
1100 1105 1110

Ser Trp Tyr Asn Ile Phe Leu Tyr Asn Pro Asp Arg Thr Leu Gln
1115 1120 1125

Glu Arg Ala Gln Val Asp Pro Leu Val Gln Ser Phe Ser Phe Gln
1130 1135 1140

Asn Leu Leu Gln Gly Arg Met Tyr Lys Met Val Ile Val Thr His
1145 1150 1155

Ser Gly Glu Leu Ser Asn Glu Ser Phe Ile Phe Gly Arg Thr Val
1160 1165 1170

Pro Ala Ala Val Asn His Leu Lys Gly Ser His Arg Asn Thr Thr
1175 1180 1185

Asp Ser Leu Trp Phe Ser Trp Ser Pro Ala Ser Gly Asp Phe Asp
1190 1195 1200

Phe Tyr Glu Leu Ile Leu Tyr Asn Pro Asn Gly Thr Lys Lys Glu
1205 1210 1215

Asn Trp Lys Glu Lys Asp Val Thr Glu Trp Arg Phe Gln Gly Leu
1220 1225 1230

Val Pro Gly Arg Lys Tyr Thr Leu Tyr Val Val Thr His Ser Gly
1235 1240 1245

Asp Leu Ser Asn Lys Val Thr Gly Glu Gly Arg Thr Ala Pro Ser
1250 1255 1260

Pro Pro Ser Leu Leu Ser Phe Ala Asp Val Ala Asn Thr Ser Leu
1265 1270 1275

Ala Ile Thr Trp Lys Gly Pro Pro Asp Trp Thr Asp Tyr Asn Asp

1280	1285	1290
Phe Glu	Leu Gln Trp Phe Pro	Gly Asp Ala Leu Thr Ile Phe Asn
1295	1300	1305
Pro Tyr	Ser Ser Arg Lys Ser	Glu Gly Arg Ile Val Tyr Gly Leu
1310	1315	1320
His Pro	Gly Arg Ser Tyr Gln	Phe Ser Val Lys Thr Val Ser Gly
1325	1330	1335
Asp Ser	Trp Lys Thr Tyr Ser	Lys Pro Ile Ser Gly Ser Val Arg
1340	1345	1350
Thr Lys	Pro Asp Lys Ile Gln	Asn Leu His Cys Arg Pro Gln Asn
1355	1360	1365
Ser Thr	Ala Ile Ala Cys Ser	Trp Ile Pro Pro Asp Ser Asp Phe
1370	1375	1380
Asp Gly	Tyr Ser Ile Glu Cys	Arg Lys Met Asp Thr Gln Glu Ile
1385	1390	1395
Glu Phe	Ser Arg Lys Leu Glu	Lys Glu Lys Ser Leu Leu Asn Ile
1400	1405	1410
Met Met	Leu Val Pro His Lys	Arg Tyr Leu Val Ser Ile Lys Val
1415	1420	1425
Gln Ser	Ala Gly Met Thr Ser	Glu Val Val Glu Asp Ser Thr Ile
1430	1435	1440
Thr Met	Ile Asp Arg Pro Pro	Gln Pro Pro Pro His Ile Arg Val
1445	1450	1455

Asn Glu Lys Asp Val Leu Ile Ser Lys Ser Ser Ile Asn Phe Thr
1460 1465 1470

Val Asn Cys Ser Trp Phe Ser Asp Thr Asn Gly Ala Val Lys Tyr
1475 1480 1485

Phe Ala Val Val Val Arg Glu Ala Asp Ser Met Asp Glu Leu Lys
1490 1495 1500

Pro Glu Gln Gln His Pro Leu Pro Ser Tyr Leu Glu Tyr Arg His
1505 1510 1515

Asn Ala Ser Ile Arg Val Tyr Gln Thr Asn Tyr Phe Ala Ser Lys
1520 1525 1530

Cys Ala Glu Ser Pro Asp Ser Ser Ser Lys Ser Phe Asn Ile Lys
1535 1540 1545

Leu Gly Ala Glu Met Asp Ser Leu Gly Gly Lys Cys Asp Pro Ser
1550 1555 1560

Gln Gln Lys Phe Cys Asp Gly Pro Leu Lys Pro His Thr Ala Tyr
1565 1570 1575

Arg Ile Ser Ile Arg Ala Phe Thr Gln Leu Phe Asp Glu Asp Leu
1580 1585 1590

Lys Glu Phe Thr Lys Pro Leu Tyr Ser Asp Thr Phe Phe Ser Met
1595 1600 1605

Pro Ile Thr Thr Glu Ser Glu Pro Leu Phe Gly Val Ile Glu Arg
1610 1615 1620

Gly Arg His His His His His Gly
1625 1630

<210> 8
 <211> 774
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> human-mouse chimeric molecule

<400> 8

Met Leu Arg His Gly Ala Leu Thr Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Val
 1 5 10 15

Val Gln Thr Gly Val Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala
 20 25 30

Glu Ser Lys Ala Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu
 35 40 45

Gly Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly
 50 55 60

Ala Ala Leu Cys Pro Thr Phe Arg Ile Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys
 65 70 75 80

Asn Leu Gln Asp Leu Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Lys Ile Ile
 85 90 95

Ser Leu Asp Glu Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu Pro
 100 105 110

Pro Ala Arg Phe Gly Val Ser Lys Glu Lys Thr Thr Ser Thr Gly Leu
 115 120 125

His Val Trp Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Thr Ser Tyr Glu Val
 130 135 140

Gln Leu Phe Asp Glu Asn Asn Gln Lys Ile Gln Gly Val Gln Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ser Thr Ser Trp Asn Glu Tyr Thr Phe Phe Asn Leu Thr Ala Gly
165 170 175

Ser Lys Tyr Asn Ile Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Gly Lys Arg Ser
180 185 190

Phe Ser Val Tyr Thr Asn Gly Ser Thr Val Pro Ser Pro Val Lys Asp
195 200 205

Leu Gly Ile Ser Pro Asn Pro Asn Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Arg
210 215 220

Gly Ser Gly Asn Val Glu Gln Tyr Arg Leu Val Leu Met Asp Lys Gly
225 230 235 240

Ala Ile Val Gln Asp Thr Asn Val Asp Arg Arg Asp Thr Ser Tyr Ala
245 250 255

Phe His Glu Leu Thr Pro Gly His Leu Tyr Asn Leu Thr Ile Val Thr
260 265 270

Met Ala Ser Gly Leu Gln Asn Ser Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr Ala
275 280 285

Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Arg Leu Thr
290 295 300

Ser Leu Asn Val Lys Trp Gln Lys Pro Pro Gly Asp Val Asp Ser Tyr
305 310 315 320

Ser Ile Thr Leu Ser His Gln Gly Thr Ile Lys Glu Ser Lys Thr Leu
325 330 335

Ala Pro Pro Val Thr Glu Thr Gln Phe Lys Asp Leu Val Pro Gly Arg
 340 345 350

Leu Tyr Gln Val Thr Ile Ser Cys Ile Ser Gly Glu Leu Ser Ala Glu
 355 360 365

Lys Ser Ala Ala Gly Arg Thr Val Pro Glu Lys Val Arg Asn Leu Val
 370 375 380

Ser Tyr Asn Glu Ile Trp Met Lys Ser Phe Thr Val Asn Trp Thr Pro
 385 390 395 400

Pro Ala Gly Asp Trp Glu His Tyr Arg Ile Val Leu Phe Asn Glu Ser
 405 410 415

Leu Val Leu Leu Asn Thr Thr Val Gly Lys Glu Glu Thr His Tyr Ala
 420 425 430

Leu Asp Gly Leu Glu Leu Ile Pro Gly Arg Gln Tyr Glu Ile Glu Val
 435 440 445

Ile Val Glu Ser Gly Asn Leu Arg Asn Ser Glu Arg Cys Gln Gly Arg
 450 455 460

Thr Val Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg Val Lys His Ala Asn Glu
 465 470 475 480

Thr Ser Leu Gly Ile Thr Trp Arg Ala Pro Leu Gly Glu Trp Glu Lys
 485 490 495

Tyr Ile Ile Ser Leu Met Asp Arg Glu Leu Leu Val Ile His Lys Ser
 500 505 510

Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe Thr Asp Leu Met Pro Gly
 515 520 525

Arg Asn Tyr Lys Ala Thr Val Thr Ser Met Ser Gly Asp Leu Lys Gln
 530 535 540

Ser Ser Ser Ile Lys Gly Arg Thr Val Pro Ala Gln Val Thr Asp Leu
 545 550 555 560

His Val Asn Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser Leu Phe Thr Asn Trp Thr
 565 570 575

Lys Ala Leu Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln Val Leu Leu Ile His Glu
 580 585 590

Asn Val Val Val Lys Asn Glu Ser Val Ser Ser Asp Thr Ser Arg Tyr
 595 600 605

Ser Phe Arg Ala Leu Lys Pro Gly Ser Leu Tyr Ser Val Val Val Thr
 610 615 620

Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln Val Val Ala Glu Gly Arg
 625 630 635 640

Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr Val Asn Asn Ser Gly Arg
 645 650 655

Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Pro Ala Pro Gly Glu Val Asp
 660 665 670

His Tyr Val Val Ser Leu Ser His Glu Gly Lys Val Asp Gln Phe Leu
 675 680 685

Ile Ile Ala Lys Ser Val Ser Glu Cys Ser Phe Ser Ser Leu Thr Pro
 690 695 700

Gly Arg Leu Tyr Asn Val Thr Val Thr Thr Lys Ser Gly Asn Tyr Ala

705 710 715 720

Ser His Ser Phe Thr Glu Glu Arg Thr Lys Gly Asn Ser Ala Asp Ile
 725 730 735

Gln His Ser Gly Gly Arg Ser Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu Gly
 740 745 750

Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr Gly
 755 760 765

His His His His His His
 770

<210> 9

<211> 775

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> human-mouse chimeric molecule

<400> 9

Met Leu Arg His Gly Ala Leu Thr Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Val
 1 5 10 15

Val Gln Thr Gly Val Ala Glu Gln Val Lys Cys Asn Phe Thr Leu Leu
 20 25 30

Glu Ser Arg Val Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gln Trp Arg Thr Phe
 35 40 45

Ala Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Ser Gly
 50 55 60

Pro Met Trp Cys His Pro Ile Arg Ile Asp Asn Phe Thr Tyr Gly Cys
 65 70 75 80

Asn Pro Lys Asp Leu Gln Ala Gly Thr Val Tyr Asn Phe Arg Ile Val
85 90 95

Ser Leu Asp Gly Glu Glu Ser Thr Leu Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu
100 105 110

Pro Pro Ala Arg Phe Gly Val Ser Lys Glu Lys Thr Thr Ser Thr Gly
115 120 125

Leu His Val Trp Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Thr Ser Tyr Glu
130 135 140

Val Gln Leu Phe Asp Glu Asn Asn Gln Lys Ile Gln Gly Val Gln Ile
145 150 155 160

Gln Glu Ser Thr Ser Trp Asn Glu Tyr Thr Phe Phe Asn Leu Thr Ala
165 170 175

Gly Ser Lys Tyr Asn Ile Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Gly Lys Arg
180 185 190

Ser Phe Ser Val Tyr Thr Asn Gly Ser Thr Val Pro Ser Pro Val Lys
195 200 205

Asp Leu Gly Ile Ser Pro Asn Pro Asn Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser
210 215 220

Arg Gly Ser Gly Asn Val Glu Gln Tyr Arg Leu Val Leu Met Asp Lys
225 230 235 240

Gly Ala Ile Val Gln Asp Thr Asn Val Asp Arg Arg Asp Thr Ser Tyr
245 250 255

Ala Phe His Glu Leu Thr Pro Gly His Leu Tyr Asn Leu Thr Ile Val

260	265	270
Thr Met Ala Ser Gly Leu Gln Asn Ser Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr		
275	280	285
Ala Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Arg Leu		
290	295	300
Thr Ser Leu Asn Val Lys Trp Gln Lys Pro Pro Gly Asp Val Asp Ser		
305	310	315 320
Tyr Ser Ile Thr Leu Ser His Gln Gly Thr Ile Lys Glu Ser Lys Thr		
325	330	335
Leu Ala Pro Pro Val Thr Glu Thr Gln Phe Lys Asp Leu Val Pro Gly		
340	345	350
Arg Leu Tyr Gln Val Thr Ile Ser Cys Ile Ser Gly Glu Leu Ser Ala		
355	360	365
Glu Lys Ser Ala Ala Gly Arg Thr Val Pro Glu Lys Val Arg Asn Leu		
370	375	380
Val Ser Tyr Asn Glu Ile Trp Met Lys Ser Phe Thr Val Asn Trp Thr		
385	390	395 400
Pro Pro Ala Gly Asp Trp Glu His Tyr Arg Ile Val Leu Phe Asn Glu		
405	410	415
Ser Leu Val Leu Leu Asn Thr Thr Val Gly Lys Glu Glu Thr His Tyr		
420	425	430
Ala Leu Asp Gly Leu Glu Leu Ile Pro Gly Arg Gln Tyr Glu Ile Glu		
435	440	445

Val Ile Val Glu Ser Gly Asn Leu Arg Asn Ser Glu Arg Cys Gln Gly
 450 455 460

Arg Thr Val Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg Val Lys His Ala Asn
 465 470 475 480

Glu Thr Ser Leu Gly Ile Thr Trp Arg Ala Pro Leu Gly Glu Trp Glu
 485 490 495

Lys Tyr Ile Ile Ser Leu Met Asp Arg Glu Leu Leu Val Ile His Lys
 500 505 510

Ser Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe Thr Asp Leu Met Pro
 515 520 525

Gly Arg Asn Tyr Lys Ala Thr Val Thr Ser Met Ser Gly Asp Leu Lys
 530 535 540

Gln Ser Ser Ser Ile Lys Gly Arg Thr Val Pro Ala Gln Val Thr Asp
 545 550 555 560

Leu His Val Asn Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser Leu Phe Thr Asn Trp
 565 570 575

Thr Lys Ala Leu Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln Val Leu Leu Ile His
 580 585 590

Glu Asn Val Val Val Lys Asn Glu Ser Val Ser Ser Asp Thr Ser Arg
 595 600 605

Tyr Ser Phe Arg Ala Leu Lys Pro Gly Ser Leu Tyr Ser Val Val Val
 610 615 620

Thr Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln Val Val Ala Glu Gly
 625 630 635 640

Arg Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr Val Asn Asn Ser Gly
 645 650 655

Arg Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Pro Ala Pro Gly Glu Val
 660 665 670

Asp His Tyr Val Val Ser Leu Ser His Glu Gly Lys Val Asp Gln Phe
 675 680 685

Leu Ile Ile Ala Lys Ser Val Ser Glu Cys Ser Phe Ser Ser Leu Thr
 690 695 700

Pro Gly Arg Leu Tyr Asn Val Thr Val Thr Thr Lys Ser Gly Asn Tyr
 705 710 715 720

Ala Ser His Ser Phe Thr Glu Glu Arg Thr Lys Gly Asn Ser Ala Asp
 725 730 735

Ile Gln His Ser Gly Gly Arg Ser Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu
 740 745 750

Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr
 755 760 765

Gly His His His His His His
 770 775

<210> 10

<211> 774

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> human-mouse chimeric molecule

<400> 10

Met Leu Arg His Gly Ala Leu Thr Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Val
1 5 10 15

Val Gln Thr Gly Val Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala
20 25 30

Glu Ser Lys Ala Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu
35 40 45

Gly Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly
50 55 60

Ala Ala Leu Cys Pro Thr Phe Arg Ile Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys
65 70 75 80

Asn Leu Gln Asp Leu Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Lys Ile Ile
85 90 95

Ser Leu Asp Glu Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu Pro
100 105 110

Pro Ala Arg Phe Gly Val Ser Lys Glu Lys Thr Thr Ser Thr Gly Leu
115 120 125

His Val Trp Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Thr Ser Tyr Glu Val
130 135 140

Gln Leu Phe Asp Glu Asn Asn Gln Lys Ile Gln Gly Val Gln Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ser Thr Ser Trp Asn Glu Tyr Thr Phe Phe Asn Leu Thr Ala Gly
165 170 175

Ser Lys Tyr Asn Ile Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Gly Lys Arg Ser
180 185 190

Phe Ser Val Tyr Thr Asn Gly Ser Thr Val Pro Ser Pro Val Lys Asp
195 200 205

Leu Gly Ile Ser Pro Asn Pro Asn Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Arg
210 215 220

Gly Ser Gly Asn Val Glu Gln Tyr Arg Leu Val Leu Met Asp Lys Gly
225 230 235 240

Ala Ile Val Gln Asp Thr Asn Val Asp Arg Arg Asp Thr Ser Tyr Ala
245 250 255

Phe His Glu Leu Thr Pro Gly His Leu Tyr Asn Leu Thr Ile Val Thr
260 265 270

Met Ala Ser Gly Leu Gln Asn Ser Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr Ala
275 280 285

Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Arg Leu Thr
290 295 300

Ser Leu Asn Val Lys Trp Gln Lys Pro Pro Gly Asp Val Asp Ser Tyr
305 310 315 320

Ser Ile Thr Leu Ser His Gln Gly Thr Ile Lys Glu Ser Lys Thr Leu
325 330 335

Ala Pro Pro Val Thr Glu Thr Gln Phe Lys Asp Leu Val Pro Gly Arg
340 345 350

Leu Tyr Gln Val Thr Ile Ser Cys Ile Ser Gly Glu Leu Ser Ala Glu
355 360 365

Lys Ser Ala Ala Gly Arg Thr Val Pro Glu Lys Val Arg Asn Leu Val
370 375 380

Ser Tyr Asn Glu Ile Trp Met Lys Ser Phe Thr Val Asn Trp Thr Pro
385 390 395 400

Pro Ala Gly Asp Trp Glu His Tyr Arg Ile Val Leu Phe Asn Glu Ser
405 410 415

Leu Val Leu Leu Asn Thr Thr Val Gly Lys Glu Glu Thr His Tyr Ala
420 425 430

Leu Asp Gly Leu Glu Leu Ile Pro Gly Arg Gln Tyr Glu Ile Glu Val
435 440 445

Ile Val Glu Ser Gly Asn Leu Arg Asn Ser Glu Arg Cys Gln Gly Arg
450 455 460

Thr Val Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg Val Lys His Ala Asn Glu
465 470 475 480

Thr Ser Leu Gly Ile Thr Trp Arg Ala Pro Leu Gly Glu Trp Glu Lys
485 490 495

Tyr Ile Ile Ser Leu Met Asp Arg Glu Leu Leu Val Ile His Lys Ser
500 505 510

Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe Thr Asp Leu Met Pro Gly
515 520 525

Arg Asn Tyr Lys Ala Thr Val Thr Ser Met Ser Gly Asp Leu Lys Gln
530 535 540

Ser Ser Ser Ile Lys Gly Arg Thr Val Pro Ala Gln Val Thr Asp Leu
545 550 555 560

His Val Asn Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser Leu Phe Thr Asn Trp Thr

565 570 575

Lys Ala Leu Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln Val Leu Leu Ile His Glu
580 585 590

Asn Val Val Val Lys Asn Glu Ser Val Ser Ser Asp Thr Ser Arg Tyr
595 600 605

Ser Phe Arg Ala Leu Lys Pro Gly Ser Leu Tyr Ser Val Val Val Thr
610 615 620

Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln Val Val Ala Glu Gly Arg
625 630 635 640

Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr Val Asn Asn Ser Gly Arg
645 650 655

Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Pro Ala Pro Gly Glu Val Asp
660 665 670

His Tyr Val Val Ser Leu Ser His Glu Gly Lys Val Asp Gln Phe Leu
675 680 685

Ile Ile Ala Lys Ser Val Ser Glu Cys Ser Phe Ser Ser Leu Thr Pro
690 695 700

Gly Arg Leu Tyr Asn Val Thr Val Thr Thr Lys Ser Gly Asn Tyr Ala
705 710 715 720

Ser His Ser Phe Thr Glu Glu Arg Thr Lys Gly Asn Ser Ala Asp Ile
725 730 735

Gln His Ser Gly Gly Arg Ser Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu Gly
740 745 750

Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr Gly
755 760 765

His His His His His His
770

<210> 11
<211> 89
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 11

Val Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala Glu Ser Lys Ala
1 5 10 15

Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu Gly Ser Pro Cys
20 25 30

Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly Ala Ala Leu Cys
35 40 45

Pro Thr Phe Arg Ile Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys Asn Leu Gln Asp
50 55 60

Leu Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Lys Ile Ile Ser Leu Asp Glu
65 70 75 80

Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp
85

ANTICUERPOS QUE LIGAN PROTEÍNA TIROSINA FOSFATASA HUMANABETA (HPTPBETA) Y LOS USOS DE ÉSTOSCAMPO DE LA INVENCION

5

Esta invención se relaciona con anticuerpos y fragmentos aglutinantes de antígeno de éstos que se unen con la proteína humana tirosina fosfatasa beta (HPTP β) y el uso de éstos.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La angiogénesis, la proliferación de nuevos vasos sanguíneos a partir de la vasculatura preexistente, juega un papel importante en una amplia variedad de procesos fisiológicos y patológicos (Nguyen, L.L. y col., Int. Rev. Cytol., 204, 1-48, (2001)). La angiogénesis es un proceso complejo, arbitrado por la comunicación entre las células endoteliales que recubren los vasos sanguíneos y el entorno que los rodea. En las primeras etapas de la angiogénesis, el tejido o las células del tumor producen y segregan factores de crecimiento pro-angiogénicos en respuesta a los estímulos ambientales tales como la hipoxia. Estos factores se propagan hacia las células endoteliales cercanas y estimulan los receptores que llevan a la producción y secreción de proteasa que degenera la matriz extracelular circundante. Las células

endoteliales activadas comienzan a migrar y proliferar en el tejido circundante hacia la fuente de estos factores de crecimiento (Bussolino, F., Trends Biochem. Sci., 22, 251-256, (1997)). Las células endoteliales, luego, dejan de proliferar y se diferencian en estructuras tubulares, lo cual significa el primer paso en la formación de vasos sanguíneos maduros y estables. Posteriormente, las células periendoteliales, tales como los pericitos y las células tersas musculares, se unen a un vaso recientemente formado en un paso adicional hacia la maduración del vaso.

La angiogénesis se regula a través de un equilibrio de factores pro y antiangiogénicos que ocurre naturalmente. El factor de crecimiento endotelial vascular, el factor de crecimiento fibroblástico y la angiopoietina representan algunos de los muchos factores de crecimiento pro-angiogénicos potenciales. Estos ligandos se unen a sus respectivas tirosinas quinasas receptoras en la superficie de las células endoteliales y señales transductoras que promueven la migración y la proliferación celular. Mientras que algunos factores regulatorios han sido identificados, los mecanismos moleculares que impulsan este proceso no han sido completamente comprendidos aún.

Hay muchos estados de trastornos impulsados por angiogénesis persistentemente regulada de forma indebida o no regulada. En esos estados de trastorno, la angiogénesis persistentemente regulada de forma indebida o no regulada

puede causar una enfermedad particular o agudizar una
condición patológica existente. Por ejemplo, la
neovascularización ocular ha sido implicada como la causa
más común de ceguera y es la base de la patología de
5 aproximadamente 20 trastornos de la vista. En ciertas
condiciones existentes previamente, tales como la
artritis, los vasos sanguíneos capilares recientemente
formados invaden las uniones y destruyen el cartílago. En
la diabetes, los nuevos capilares formados en la retina
10 invaden el humor vítreo, provocando hemorragias y ceguera.

Tanto el crecimiento como la metástasis de los
tumores sólidos también pueden depender de la
angiogénesis, Folkman y col., "Tumor Angiogenesis"
(Angiogénesis tumoral), capítulo 10, 206-32, en The
15 Molecular Basis of Cancer (La base molecular del cáncer),
Mendelsohn y col., eds., W. B. Saunders, (1995). Se ha
demostrado que esos tumores que aumentan a más de 2 mm de
diámetro deben obtener su propio suministro de sangre y
por lo tanto inducen el crecimiento de los vasos
20 sanguíneos capilares nuevos. Después que estos nuevos
vasos sanguíneos se incrustan en el tumor, proporcionan
nutrientes y factores de crecimiento esenciales para el
crecimiento del tumor así como un medio para que las
células del tumor ingresen en la circulación y hagan
25 metástasis en sitios distantes, tales como el hígado,
pulmón o hueso (Weidner, New Eng. J. Med., 324, 1, 1-8
(1991)). Cuando se usan fármacos en los animales que

tienen tumores, los inhibidores naturales de la angiogénesis pueden evitar el crecimiento de pequeños tumores (O'Reilly y col., Cell (Célula), 79, 315-28 (1994)). En algunos protocolos, la aplicación de esos
5 inhibidores lleva a la regresión y al letargo del tumor aún después de la cesación del tratamiento (O'Reilly y col., Cell (Célula), 88, 277-85 (1997)). Además, la provisión de inhibidores de la angiogénesis para ciertos tumores puede potenciar la respuesta a otros regímenes
10 terapéuticos (ver, p. ej., Teischer y col., Int. J. Cancer (Cáncer), 57, 920-25 (1994)).

A pesar de que muchos estados de trastornos son impulsados por la angiogénesis persistentemente regulada de forma indebida o no regulada, algunos estados de
15 trastornos pueden tratarse acentuando la angiogénesis. El crecimiento y la reparación del tejido son casos biológicos caracterizados además porque se produce la proliferación celular y la angiogénesis. En consecuencia, un aspecto importante de la reparación de heridas es la
20 revascularización del tejido dañado por la angiogénesis.

Las heridas crónicas, no sanadas, son una causa principal de la continua mortalidad en la población humana anciana. Este sucede, específicamente, en pacientes postrados en la cama o pacientes diabéticos que desarrollan
25 úlceras severas de la piel que no se sanan. En muchos otros casos, la demora en la curación es el resultado de un suministro de sangre inadecuado ya sea como resultado de la

presión continua o del bloqueo vascular. La circulación capilar escasa debido a una aterosclerosis arterial menor o estasis venosa contribuye a la falta de reparación del tejido dañado. Esos tejidos a menudo se infectan con microorganismos que proliferan sin ser desafiados por los sistemas de defensa innatos del cuerpo que requieren un tejido bien vascularizado para eliminar de forma efectiva los organismos patogénicos. Como resultado, la mayoría de las intervenciones terapéuticas se centran en la restauración del flujo sanguíneo de tejidos isquémicos permitiendo así que los nutrientes y los factores inmunológicos accedan al lugar de la herida.

Las lesiones ateroscleróticas en los grandes vasos pueden provocar isquemia en el tejido que puede mejorarse modulando el crecimiento del vaso sanguíneo en el tejido afectado. Por ejemplo, las lesiones ateroscleróticas en las arterias coronarias pueden provocar angina e infartos de miocardio que podrían evitarse si se pudiera restituir el flujo sanguíneo estimulando el crecimiento de las arterias colaterales. De forma similar, las lesiones ateroscleróticas en las grandes arterias que abastecen a las piernas pueden provocar isquemia en el músculo del esqueleto, lo que limita la movilidad y, en algunos casos, requiere la amputación, lo cual también puede evitarse mejorando el flujo sanguíneo con terapia angiogénica.

Otros trastornos, tales como la diabetes y la hipertensión se caracterizan por una disminución en el número y en la densidad de los vasos sanguíneos pequeños tales como las arteriolas y los capilares. Estos vasos sanguíneos pequeños son importantes para el suministro de oxígeno y nutrientes. Una disminución en el número y en la densidad de estos vasos contribuye a las consecuencias adversas de la hipertensión y la diabetes incluyendo la claudicación, úlceras isquémicas, hipertensión acelerada, y problemas renales. Estos desórdenes comunes y muchas otras afecciones menos comunes, tales como el trastorno de Burgers, podrían mejorarse aumentando el número y la densidad de los vasos sanguíneos pequeños usando la terapia angiogénica.

Así, existe una necesidad continua de identificar reguladores de la angiogénesis.

En virtud de lo mencionado anteriormente, existe una necesidad de identificar objetivos bioquímicos en el tratamiento de la angiogénesis mediada por desórdenes. No obstante, la angiogénesis implica la acción de múltiples factores de crecimiento y sus tirosinas quinasas del receptor consanguíneo (RTKs), Yancopoulos y col., Nature, 407,242-248, 2000). El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF, por sus siglas en inglés), por ejemplo, es importante para la diferenciación de las células endoteliales en vasos sanguíneos nacientes en la vasculatura embrionaria. Además, el VEGF aumenta el

desarrollo de vasos sanguíneos en la vasculatura adulta. La administración del VEGF exógeno aumenta el desarrollo de la vasculatura colateral y mejora el flujo sanguíneo de los tejidos isquémicos.

5 Hasta este momento, han sido identificados tres VEGF RTKs, VEGFR1 (FLT-1), VEGFR2 (KDR), y VEGFR3 (FLT-4). Aunque estos receptores son altamente conservados, basados en la caracterización bioquímica y en la actividad biológica, cada receptor tiene funciones específicas y que
10 no se superponen. De los tres receptores, se cree que el VEGFR2 juega un papel predominante en la mediación de las acciones del VEGF en el desarrollo de la vasculatura y durante la angiogénesis en adultos. No obstante, se requieren ambos receptores VEGFR1 y VEGFR3 para el
15 desarrollo normal de la vasculatura embriónica y puede ser además importante para la angiogénesis en los tejidos adultos. Sobre la unión y dimerización del receptor VEGF, un cambio conformacional en el dominio de la quinasa VEGFR2 aumenta la actividad de la quinasa resultante en la
20 "autofosforilación" del otro miembro del par en residuos específicos de tirosina. Los casos de autofosforilación sirven, además, para aumentar la actividad de la quinasa y proveer puntos de sujeción para la asociación de las moléculas de señalización intracelulares.

25 No obstante, la activación de una ruta angiogénica sencilla puede no ser suficiente para producir vasos persistentes y funcionales que provean perfusión

adecuada a los tejidos isquémicos. Estas conclusiones, junto con aquellas RTKs múltiples, están implicadas en el ensamble del montaje de la vasculatura embriónica, indican que los blancos bioquímicos que modulan las rutas
5 angiogénicas múltiples tienen ventajas sobre la administración de un factor de crecimiento simple.

Las proteínas tirosinas fosfatasas (PTP, por sus siglas en inglés) comprenden una gran familia de enzimas estrechamente relacionadas que desfosforilan las
10 proteínas que contienen residuos de fosfotirosina. Evidencia reciente sugiere que una función de las PTP es limitar la fosforilación y la activación de los RTK. Por ejemplo, se mostró la HCPTPA, una proteína tirosina fosfatasa de bajo peso molecular para asociarse con
15 VEGFR2 y regular negativamente su activación en células endoteliales cultivadas y su actividad biológica en los ensayos de angiogénesis, (Huang y col., Journal of Biological Chemistry (Gaceta de Química Biológica), 274, 38183-38185, 1999).

20 Además de VEGFR2, el ingreso de señalización desde otro RTK, Tie-2, el receptor para las angiopoietinas (Ang1 y Ang2), también es importante. La supresión de Ang1 o del gen Tie-2 en los ratones puede dar como resultado una letalidad embriónica secundaria a las anormalidades en la
25 vasculatura de desarrollo (Yancopoulos y col., Nature, 407, 242-248, 2000). Además la sobre-expresión del receptor Ang1 en la piel aumenta la vascularidad de la misma y la

administración exógena del Ang1 aumenta la circulación sanguínea del músculo del esqueleto isquémico (Suri y col., Science, 282, 468-471, 1998). Además, al inhibir la activación de Tie-2 se inhibe la angiogénesis y se limita la progresión del tumor en los modelos animales de cáncer, (Lin y col., J Clin. Invest., 100, 2072-2078, 1997). Además de las actividades angiogénicas, la activación de Tie-2 mediante la administración exógena del Ang1 bloquea la fuga vascular mediada por VEGF y los efectos pro-inflamatorios, pero aumenta sus efectos angiogénicos (Thurston y col., Nature Medicine, 6, 460-463, 2000). Por ello, los blancos biológicos que modulan la señalización de VEGFR2 y de Tie-2 pueden producir terapias proangiogénicas o angiogénicas.

HPTPbeta (primero descrito en Kruegar y col., EMBO J., 9, (1990)) ha sido sugerido para modular la actividad del Tie-2 quinasa tirosina del tipo receptor de angiopoietina, por ejemplo, en WO 00/65088). HPTPbeta también se sugiere para regular las actividades del VEGFR2, por ejemplo, en la patente publicada de los EE.UU. núm. 2004/0077065.

Sería deseable desarrollar anticuerpos, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal humanizado, el cual regula de forma selectiva la actividad de HPTP beta y de ese modo aumenta la señalización angiogénica, estimula el crecimiento del vaso sanguíneo (angiogénesis), y/o aumenta la circulación sanguínea en los tejidos isquémicos, o reduce la señalización angiogénica, reduce

el crecimiento del vaso sanguíneo, y/o disminuye la
circulación sanguínea del tejido operado. Por medio de
este documento se describen anticuerpos y fragmentos que
ligan HPTPbeta y regulan la señalización de células
5 angiogénicas que, a su vez, regulan la angiogénesis.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con
10 anticuerpos que ligan proteína humana tirosina fosfatasa
beta HPTPbeta y por ello regulan la señalización de células
angiogénicas que, a su vez, regulan la angiogénesis.

En una modalidad, la invención se relaciona con
un anticuerpo aislado o un fragmento aglutinante de
15 antígeno de éstos que se une a la proteína humana
tirosina fosfatasa beta, en donde el anticuerpo o el
fragmento aglutinante de antígeno de éstos regula la
señalización de células angiogénicas que, a su vez,
regulan la angiogénesis.

20 En otra modalidad, la invención se relaciona
con un anticuerpo que liga la porción N-terminal de la
proteína humana tirosina fosfatasa beta.

En otra modalidad, la invención se relaciona con
un anticuerpo que liga la primera repetición FN3 de la
25 proteína humana tirosina fosfatasa beta.

En otra modalidad, la invención se relaciona con
un anticuerpo que liga la primera repetición FN3 de la

proteína humana tirosina fosfatasa beta, en donde la primera repetición FN3 de la proteína humana tirosina fosfatasa beta tiene la secuencia como se indica en sec. con núm. de ident. 11, o una porción de ésta.

5 En otra modalidad, la invención se relaciona con un anticuerpo en donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.

 En otra modalidad, la invención se relaciona con un anticuerpo en donde el anticuerpo es el
10 anticuerpo monoclonal R15E6 (Mouse hybridoma (Híbrido de ratón), Balbc spleen cells (B cells) Célula de bazo Balbc (Células B) depositado con American Type Culture Collection (Colección Americana de Tipos de Cultivos) (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108 USA el 4 de
15 mayo de 2006, asignada ATCC núm. PTA-7580).

 En otra modalidad, la invención se relaciona con un anticuerpo que tiene las mismas, o sustancialmente las mismas características biológicas que R15E6.

20 En otra modalidad, la invención se relaciona con un anticuerpo, en donde el anticuerpo o el fragmento aglutinante de antígenos se humanizan.

 En otra modalidad, la invención se relaciona con un anticuerpo, en donde el anticuerpo comprende
25 residuos de la región aglutinante de antígenos desde el anticuerpo monoclonal R15E6 y se humaniza.

En otra modalidad, la invención se relaciona con un fragmento aglutinante de antígenos de un anticuerpo, en donde el fragmento comprende regiones variables de cadena pesada y liviana.

5 En otra modalidad, la invención se relaciona con un fragmento aglutinante de antígenos de un anticuerpo, en donde el fragmento aglutinante de antígenos se selecciona del grupo que comprende un fragmento Fv, un fragmento Fab', y un fragmento F(ab')₂.

10 En otra modalidad, la invención se relaciona con un método de tratamiento del trastorno regulado por angiogénesis en un individuo; el método comprende: identificar un individuo que requiere regulación de la angiogénesis; y la administración al individuo de una
15 cantidad efectiva de un anticuerpo o un fragmento aglutinante de antígeno de éste, el cual liga el HPTPbeta y regula la angiogénesis.

En otra modalidad, la invención se relaciona con un método para tratar el trastorno regulado por
20 angiogénesis en un individuo, en donde el trastorno regulado por la angiogénesis es un trastorno elevado por la angiogénesis y se selecciona del grupo que comprende rinopatía diabética, degeneración macular, cáncer, anemia falciforme, sarcoma, sífilis, pseudoxanthoma elasticum,
25 enfermedad de Paget, oclusión venosa, oclusión arterial, enfermedad obstructiva de la carótida, inflamación crónica de la úvea/vitritis, infecciones micobacterianas,

enfermedad de Lyme, lupus eritematoso sistémico, retinopatía de la prematuridad, enfermedad de Eales, enfermedad de Behcet, infecciones que provocan retinitis o coroiditis, histoplasmosis ocular presunta, enfermedad de Best, miopía, foveas papilares, enfermedad de Stargardt, pars planitis, desprendimiento crónico de la retina, síndrome de hiperviscosidad, toxoplasmosis, trauma y complicaciones post-láser, enfermedades asociadas con la rubeosis, y vitreoretinopatía proliferativa.

10 En otra modalidad, la invención se relaciona con un método para tratar el trastorno regulado por angiogénesis en un individuo, en donde el trastorno regulado por la angiogénesis es un trastorno elevado por la angiogénesis, y se selecciona del grupo que incluye, pero
15 no se limita a, inopatía diabética, degeneración macular, cáncer, artritis reumatoidea, hemangiomas, enfermedad de Osler-Weber-Rendu, o telangiectasia hemorrágica hereditaria, y tumores de transmisión sanguínea o sólidos

 En otra modalidad, la invención se relaciona con
20 un método para tratar el trastorno regulado por angiogénesis en un individuo, en donde el trastorno regulado por la angiogénesis es un trastorno elevado por la angiogénesis, y se selecciona del grupo que comprende enfermedades de inflamación intestinal tales como la
25 enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, psoriasis, sarcoidosis, artritis reumatoidea, hemangiomas, enfermedad de Osler-Weber-Rendu, o telangiectasia hemorrágica

hereditaria, y tumores de transmisión sanguínea o sólidos y síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

134

En otra modalidad, la invención se relaciona con un método para tratar el trastorno regulado por angiogénesis en un individuo, en donde el trastorno regulado por la angiogénesis es un trastorno reducido de la angiogénesis y se selecciona del grupo que incluye, pero no se limita a, el músculo del esqueleto o isquemia del miocardio, ataque al corazón, enfermedad de la arteria coronaria, enfermedad vascular periférica, enfermedad de la arteria coronaria, enfermedad cerebrovascular, neuropatía diabética y cicatrización de heridas.

En otra modalidad, la invención se relaciona con un método para tratar el trastorno regulado por angiogénesis en un individuo, en donde el trastorno regulado por la angiogénesis es un trastorno reducido de la angiogénesis y se selecciona del grupo que comprende el músculo del esqueleto o isquemia del miocardio, ataque al corazón, enfermedad de la arteria coronaria, enfermedad vascular periférica, enfermedad de la arteria coronaria.

En otra modalidad, la invención se relaciona con un método para tratar el trastorno reducido de la angiogénesis en un individuo, en donde el trastorno reducido de la angiogénesis es una enfermedad vascular periférica.

En otra modalidad, la invención se relaciona con un método para tratar el trastorno reducido de la

angiogénesis en un individuo, en donde el trastorno reducido de la angiogénesis es una enfermedad de la arteria coronaria.

En otra modalidad, la invención se relaciona con
5 una composición farmacéutica, que comprende: un anticuerpo o un fragmento de ello que liga la proteína humana tirosina fosfatasa beta; un portador farmacéuticamente aceptable.

En otra modalidad, la invención se relaciona con una composición farmacéutica, que comprende: un anticuerpo
10 o un fragmento de ello que liga la proteína humana tirosina fosfatasa beta, en donde el anticuerpo es el anticuerpo monoclonal R15E6; y un portador farmacéuticamente aceptable.

En otra modalidad, la invención se relaciona
15 con una composición farmacéutica que comprende: un anticuerpo o un fragmento de éste que liga la proteína humana tirosina fosfatasa beta, en donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal que tiene las mismas, o prácticamente las mismas características biológicas del
20 R15E6; y un portador farmacéuticamente aceptable.

En otra modalidad, la invención se relaciona con una composición farmacéutica que comprende: un anticuerpo o un fragmento de ello que liga la proteína humana tirosina fosfatasa beta, en donde el anticuerpo o el
25 fragmento aglutinante de antígenos se humaniza; y un portador farmacéuticamente aceptable.

En otra modalidad, la invención se relaciona con una composición farmacéutica, que comprende: un anticuerpo o un fragmento de ello que liga la proteína humana tirosina fosfatasa beta, en donde el anticuerpo
5 comprende residuos de regiones aglutinantes de antígeno del anticuerpo monoclonal R15E6 y se humaniza; y un portador farmacéuticamente aceptable.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

10

Figura 1. Diseño y producción de la proteína HPTP β ECD. (Panel A) Representación esquemática de toda la proteína extracelular de fusión de dominio 6His HPTP β y HPTP β . (Panel B) Mancha plateada de eluato imidazol de
15 una columna Ni-NTA cargada con sobrenadante de células HEK293 transfectadas con un vector que dirige la expresión de β ECD-6His. Se detecta una banda simple de alto peso molecular consistente con proteína de dominio 6His HPTP β extracelular.

20 Figura 2. R15E6 reconoce HPTP β endógeno en células endoteliales. (Panel A) Los lisatos de células endoteliales son inmunoprecipitados con un anticuerpo de control (Pasaje 1), con R15E6 (Pasaje 2) o con una mezcla de anticuerpos anti-Tie2 y anti-VEGFR2 (Pasaje 3). Los
25 inmunoprecipitados se resuelven mediante SDS-PAGE, transferidos a una membrana PVD y probados por inmunoensayo western blot con una mezcla de R15E6,

60125

600137

anticuerpos anti-Tie2 y anti-VEGFR2. Una banda simple de mayor peso molecular consistente con HPTP β se ve con R15E6 (Pasaje 2) y no con el anticuerpo de control (Pasaje 1) o la mezcla de anticuerpos anti-Tie2 y anti-VEGFR2 (Pasaje 3). (Panel B) Las células endoteliales están sujetas al análisis FACS con R15E6 (punta blanca) o a un control de anticuerpo primario (punta negra). El cambio contundente en la fluorescencia indica que R15E6 liga con HPTP β sobre la superficie de las células endoteliales intactas.

Figura 3. R15E6 aumenta la activación del Receptor Tie2 en los HUVECs. La activación del Tie2 se mide en las células endoteliales humanas como se describe en el Ejemplo 4. La dosificación de R15E6 de forma dependiente aumenta tanto la activación básica y el receptor Tie2 inducido por Ang1.

Figura 4. R15E6 aumenta la subsistencia de HUVEC. Se mide la subsistencia de las células endoteliales humanas privadas de suero como se describe en el Ejemplo 4. Consistente con sus efectos en la activación Tie2, la dosificación R15E6 de forma dependiente aumenta tanto la activación básica y el receptor Tie2 inducido por la subsistencia de las células endoteliales inducidas Ang1s (Panel A). Además, la dosificación de R15E6 de forma dependiente aumenta la subsistencia de las células endoteliales mediadas por VEGF y FGF (Paneles B y C). Un anticuerpo de control no puede aumentar la subsistencia de la célula endotelial (Panel D).

Figura 5. R15E6 aumenta la migración de HUVEC.

La migración de las células endoteliales humanas se miden como se describe en el Ejemplo 4. La dosificación de R15E6 de forma dependiente aumenta tanto la migración base como la de la célula endotelial inducida por VEGF.

Figura 6. R15E6 aumenta la morfogénesis capilar en el ensayo de proliferación en el glóbulo/HUVEC. La morfogénesis capilar de células endoteliales humanas se mide en el ensayo de proliferación en el glóbulo como se describe en el Ejemplo 4. R15E6 aumenta tanto la morfogénesis capilar basal como la celular endotelial inducida por VEGF.

Figura 7. El análisis por Western blot localiza el epítipo de unión R15E6 en la repetición N-terminal FN3 del dominio extracelular β del HPTP. (Panel A) Mediante el análisis por western, R15E6 liga todos los mutante de truncación C-terminal que demuestran que el epítipo de unión se ubica en las repeticiones N-terminal 2 FN. (Panel B) El análisis de las proteínas quimeras humanas/de ratón además localizan el epítipo de unión R15E6 en la repetición β N-terminal FN3 HPTP.

Figura 8. El análisis MSD confirma la localización del epítipo de unión R15E6 en la repetición N-terminal FN3, del dominio extracelular HPTP β . (Panel A) Mediante el análisis MSD, R15E6 liga a todos los mutantes de truncación C-terminal confirmando que el epítipo de unión se ubica en las repeticiones N-terminal 2 FN3.

(Panel B) el análisis de las proteínas quimeras humanas/de
 ratón además confirman la localización del epítipo de unión R15E6 en la repetición del N-terminal FN3 HPTPβ. 139

Figura 9. El análisis MSD demuestra que el
 5 fragmento Fab R15E6 monovalente también liga la repetición
 N-terminal FN3 del HPTPβ. (Panel A) Similar al anticuerpo
 intacto R15 E6, el fragmento Fab R15E6 se liga a todos los
 mutantes de truncación C-terminal confirmando que el
 epítipo de unión se ubica en las repeticiones N-terminal 2
 10 FN3. (Panel B) El análisis de las proteínas quimeras
 humanas/de ratón además localizan el epítipo de unión del
 fragmento Fab R15E6 en la repetición N-terminal FN3 HPTPβ.

Figura 10. El fragmento Fab R15E6 monovalente no
 puede aumentar la activación Tie2 y bloquea la activación
 15 Tie2 mediante el R15E6 intacto.

Figura 11. El fragmento Fab R15E6 inhibe
 potencialmente la subsistencia de las células
 endoteliales. (Panel A) Comparado con un fragmento Fab
 de control, el fragmento Fab R15E6 inhibe potencialmente
 20 la subsistencia de las células endoteliales. (Panel B)
 El efecto inhibitorio del fragmento Fab R15E6 se rescata
 mediante la competición con el R15E6 intacto.

Figura 12. El fragmento Fab R15E6 inhibe la
 migración de las células endoteliales mediadas por VEGF.

25

DESCRIPCIÓN DEL LISTADO DE SECUENCIAS

Cada secuencia de nucleótido y proteína en la lista de secuencias, junto con el(los) correspondiente(s) número(s) de acceso Genbank o Derwent, si fuese aplicable, y las especies desde donde deriven, se indican en el Cuadro I.

Cuadro I

10	Descripción de secuencias	Sec. con núm. de ident.: Nucleótido, Proteína	Especie	Acceso equivalente Genbank Núm.
	Dominio extracelular de HPTPbeta con His y Gly tag	1, 2	Homo Sapiens	
	Dominio extracelular de HPTPbeta de total longitud	3	Homo Sapiens	X54131 NM_002837
15	1/2 (AA1-730, 8 FN3's) 775 aa	4	Homo Sapiens	
	1/4 (AA1-376, 4 FN3's) 421 aa	5	Homo Sapiens	
	1/8 (AA1-202, 2 FN3's) 247 aa	6	Homo Sapiens	
	ECD1632 aa de ratón de longitud total	7	Mus musculus	NM_029928
	Primer humano FN3-ratón ½	8	Quimera ratón-humano	
20	FN3-Mouse ½ segundo humano	9	Quimera ratón-humano	
	Primeros dos humanos FN3, -ratón ½	10	Quimera ratón-humano	
	FN3 humano, primera repetición	11	Homo sapiens	

La presente invención se relaciona con ~~00129~~ 00141 anticuerpos que ligan HPTPbeta y el uso de éstos.

5 Las técnicas estándares pueden usarse para el DNA recombinante, la síntesis oligonucleótida, y el cultivo y transformación de tejidos (p. ej., electroporación, electroporación). Las reacciones enzimáticas y las técnica de purificación pueden llevarse a cabo de conformidad con
10 las especificaciones del fabricante o como se realizan comúnmente en la industria o como se describe en la presente. Las técnicas y procedimientos se realizan, generalmente, de conformidad con los métodos convencionales conocidos en la industria y como se describe en las
15 diferentes referencias generales y más específicas que se mencionan y discuten a lo largo de la especificación de la presente. A menos que se provean especificaciones en contrario, la nomenclatura utilizada en conexión con, y los procedimientos y técnicas de laboratorio de, química
20 analítica, química orgánica sintética, y química farmacéutica y medicinal descrita en la presente son aquellas conocidas y comúnmente usadas en la industria. Las técnicas estándares pueden usarse para síntesis química, análisis químicos, preparación farmacéutica, formulación, y
25 entrega, y tratamiento de pacientes.

Los siguientes términos, a menos que se indique lo contrario, se entenderán como que poseen los siguientes significados:

“Proteína”, se usa en la presente de forma
5 intercambiable con péptido y polipéptido. HPTPbeta es proteína humana tirosina fosfatasa como se define en la lista de secuencia. En algunas de las modalidades, se usan varios fragmentos de HPTPbeta. Homólogos, ortólogos, fragmentos, variantes, y mutantes de la proteína HPTPbeta
10 y del gen, como se describen debajo, se consideran como dentro del alcance del término “HPTPbeta”.

Por “fragmento” se intenta definir una porción de la secuencia de nucleótidos o proteínas. Los fragmentos pueden retener la actividad biológica de la
15 proteína nativa. Los fragmentos de una secuencia de nucleótidos también son útiles como sondas de hibridización e imprimadores o para regular la expresión de un gen, por ejemplo, antisentido, siRNA, o micro RNA. Una porción activa biológicamente puede prepararse por
20 aislamiento de una porción de una de las secuencias de nucleótidos de la invención, expresando la porción codificada (p. ej., por expresión recombinante *in vitro*), y evaluando la actividad de la proteína codificada.

Una persona con experiencia en la industria
25 también reconocerá que pueden ser útiles los genes y proteínas de las especies que no son aquellas enumeradas en la lista de secuencias, particularmente especies

vertebradas. Esas especies incluyen, pero no se limitan a, ratones, ratas, conejillos de india, conejos, perros, cerdos, cabras, vacas, monos, chimpancés, ovejas, hámsters y peces cebras. Aquellos con conocimiento en la industria reconocerán, adicionalmente, que al utilizar sondas de las secuencias de las especies conocidas, el ADNc o las secuencias genómicas homólogas de la secuencia conocida podrán obtenerse a partir de la misma especie o de especies alternas por medio de los métodos de clonación conocidos. Esos homólogos y ortólogos se contemplan como útiles al practicar la invención.

Por "variantes" se intenta definir secuencias similares. Por ejemplo, las variantes conservadoras pueden incluir aquellas secuencias que, debido a la degeneración del código genético, codifican la secuencia de aminoácidos de uno de los polipéptidos de la invención. Las variantes alélicas que se producen naturalmente y las variantes de empalme pueden identificarse usando la técnicas conocidas, por ejemplo, con reacción en cadena de la polimerasa (PCR), análisis de polimorfismo de nucleótido simple (SNP), y técnicas de hibridación. Para aislar los ortólogos y homólogos se utilizan, generalmente, condiciones de hibridación rigurosas, dictadas por secuencias específicas, longitud de secuencias, contenido de guanina más citosina (GC), y otros parámetros. Las secuencias de nucleótidos variantes pueden incluir las secuencias de nucleótidos derivados sintéticamente, por ejemplo, derivados usando

mutagénesis dirigida en el lugar. Las variantes pueden-
contener secuencias adicionales del locus genómico solo o
en combinación con otras secuencias.

Las moléculas de la invención incluyen, además,
5 proteínas truncadas o mutadas en donde las regiones de la
proteína no requeridas para el aglutinante del ligando o
señalización han sido eliminadas o modificadas. De igual
forma, pueden mutar para modificar las actividades del
aglutinante del ligando o señalización. Esas mutaciones
10 pueden comprender mutaciones no conservadoras,
eliminaciones o agregados de dominios de aminoácidos o
proteínas. Las proteínas de las variantes pueden retener o
no la actividad biológica. Esas variantes pueden dar como
resultado, por ejemplo, polimorfismos genéticos o de
15 manipulación humana.

Las proteínas de fusión también se contemplan
en la presente invención. Utilizando métodos conocidos,
una persona con experiencia en la industria podría hacer
proteínas de fusión de las proteínas de la invención; de
20 tal manera que, a pesar de estar en forma nativa, pueden
ser útiles. Por ejemplo, el asociado de la fusión puede
ser una secuencia de señal polipéptida (o conductora)
que conduce co-translacionalmente o post-
translacionalmente la transferencia de la proteína desde
25 el lugar de la síntesis a otro lugar (p. ej., el
conductor del factor α de levadura). Alternativamente,
podría agregarse para facilitar la purificación o

identificación de la proteína de la invención (p. ej., poly-His, péptido Flag, o proteínas fluorescentes).

El término "antígeno" se refiere a una molécula o a una porción de una molécula capaz de ligarse mediante un agente aglutinante selectivo, tal como un anticuerpo, y adicionalmente es capaz de ser usado en un animal para producir anticuerpos capaces de unirse con un epítopo de aquel antígeno. Un antígeno puede tener uno o más epítopos.

El término "epítopo" incluye cualquier determinante antigénico, preferentemente, un determinante polipéptido capaz de ligarse específicamente a una inmunoglobulina o receptor de células T. En ciertas modalidades, los determinantes epítopos incluyen agrupaciones de superficie químicamente activa, tales como los aminoácidos, azúcares, lípidos, fosforilo, o sulfonilo, y en ciertas modalidades, pueden tener características estructurales específicas de tres dimensiones, o características de carga específica. Un epítopo es una región de un antígeno que se une mediante un anticuerpo. En ciertas modalidades, se dice que un anticuerpo se liga específicamente a un antígeno cuando reconoce, preferentemente, su antígeno meta en una mezcla compleja de proteínas o macromoléculas. Se dice que un anticuerpo se liga específicamente a un antígeno cuando exhibe una mayor afinidad al antígeno que a otras moléculas relacionadas o no relacionadas.

recombinante *in vitro*), y evaluando la actividad de la proteína codificada.

Una persona con experiencia en la industria también reconocerá que pueden ser útiles los genes y proteínas de las especies que no son aquellas enumeradas en la lista de secuencias, particularmente especies vertebradas. Esas especies incluyen, pero no se limitan a, ratones, ratas, conejillos de india, conejos, perros, cerdos, cabras, vacas, monos, chimpancés, ovejas, hámsters y peces cebra. Aquellos con conocimiento en la industria reconocerán, adicionalmente, que al utilizar sondas de las secuencias de las especies conocidas, el ADNc o las secuencias genómicas homólogas de la secuencia conocida podrán obtenerse a partir de la misma especie o de especies alternas por medio de los métodos de clonación conocidos. Esos homólogos y ortólogos se contemplan como útiles al practicar la invención.

Por "variantes" se intenta definir secuencias similares. Por ejemplo, las variantes conservadoras pueden incluir aquellas secuencias que, debido a la degeneración del código genético, codifican la secuencia de aminoácidos de uno de los polipéptidos de la invención. Las variantes alélicas que se producen naturalmente y las variantes de empalme pueden identificarse usando la técnicas conocidas, por

ejemplo, con reacción en cadena de la polimerasa (PCR), análisis de polimorfismo de nucleótido simple (SNP), y técnicas de hibridación. Para aislar los ortólogos y homólogos se utilizan, generalmente, condiciones de
5 hibridación rigurosas, dictadas por secuencias específicas, longitud de secuencias, contenido de guanina más citosina (GC), y otros parámetros. Las secuencias de nucleótidos variantes pueden incluir las secuencias de nucleótidos derivados sintéticamente, por
10 ejemplo, derivados usando mutagénesis dirigida en el lugar. Las variantes pueden contener secuencias adicionales del locus genómico solo o en combinación con otras secuencias.

Las moléculas de la invención incluyen,
15 además, proteínas truncadas o mutadas en donde las regiones de la proteína no requeridas para el aglutinante del ligando o señalización han sido eliminadas o modificadas. De igual forma, pueden mutar para modificar las actividades del aglutinante del
20 ligando o señalización. Esas mutaciones pueden comprender mutaciones no conservadoras, eliminaciones o agregados de dominios de aminoácidos o proteínas. Las proteínas de las variantes pueden retener o no la actividad biológica. Esas variantes pueden dar como
25 resultado, por ejemplo, polimorfismos genéticos o de manipulación humana.

Las proteínas de fusión también se contemplan en la presente invención. Utilizando métodos conocidos, una persona con experiencia en la industria podría hacer proteínas de fusión de las proteínas de la invención; de tal manera que, a pesar de estar en forma nativa, pueden ser útiles. Por ejemplo, el asociado de la fusión puede ser una secuencia de señal polipéptida (o conductora) que conduce co-translacionalmente o post-translacionalmente la transferencia de la proteína desde el lugar de la síntesis a otro lugar (p. ej., el conductor del factor a de levadura). Alternativamente, podría agregarse para facilitar la purificación o identificación de la proteína de la invención (p. ej., poly-His, péptido Flag, o proteínas fluorescentes).

El término "antígeno" se refiere a una molécula o a una porción de una molécula capaz de ligarse mediante un agente aglutinante selectivo, tal como un anticuerpo, y adicionalmente es capaz de ser usado en un animal para producir anticuerpos capaces de unirse con un epítipo de aquel antígeno. Un antígeno puede tener uno o más epítipos.

El término "epítipo" incluye cualquier determinante antigénico, preferentemente, un determinante polipéptido capaz de ligarse específicamente a una inmunoglobulina o receptor de células T. En ciertas modalidades, los determinantes

epítopos incluyen agrupaciones de superficie químicamente activa, tales como los aminoácidos, azúcares, lípidos, fosforilo, o sulfonilo, y en ciertas modalidades, pueden tener características estructurales específicas de tres dimensiones, o características de
5 carga específica. Un epítipo es una región de un antígeno que se une mediante un anticuerpo. En ciertas modalidades, se dice que un anticuerpo se liga específicamente a un antígeno cuando reconoce,
10 preferentemente, su antígeno meta en una mezcla compleja de proteínas o macromoléculas. Se dice que un anticuerpo se liga específicamente a un antígeno cuando exhibe una mayor afinidad al antígeno que a otras moléculas relacionadas o no relacionadas.

15 El término "anticuerpo" (Ab), como se utiliza en la presente, incluye anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (p. ej., anticuerpos biespecíficos), anticuerpos de cadena simple, por ejemplo, anticuerpos de llama y
20 camello, fragmentos de anticuerpos, por ejemplo, regiones variables o fragmentos de regiones constantes, con la condición de que exhiban una actividad biológica deseada, por ejemplo, actividad aglutinante de antígeno. El término "inmunoglobulina" (Ig) se usa de
25 forma intercambiable con "anticuerpo" en la presente.

Un "anticuerpo aislado" es aquel identificado, o separado, o recuperado de su ambiente natural.

La unidad básica de anticuerpo de cuatro cadenas es una glicoproteína heterotetramérica compuesta de dos cadenas livianas (L) idénticas y dos cadenas pesadas (H) idénticas (un anticuerpo IgM formado por 5 de la unidades heterotetraméricas básicas junto con un polipéptido adicional denominado cadena J, y por consiguiente contiene 10 sitios de aglutinantes de antígeno, mientras que los anticuerpos IgA segregados pueden polimerizarse para formar conjuntos polivalentes que comprenden de 2 a 5 de las unidades de 4 cadenas básicas junto con la cadena J). En el caso de los IgGs, la unidad de cuatro cadenas es, generalmente, de aproximadamente 150 kilo Daltons (kDa). Cada cadena L se une a una cadena H mediante una unión de bisulfuro covalente, mientras que las dos cadenas H se unen una con otra mediante una o más uniones de bisulfuro que dependen del isotipo de cadena H. Cada cadena H y L también tiene puentes de bisulfuro entre cadenas espaciado regularmente. Cada cadena H tiene en la terminal N, un dominio variable (V_H) seguido de tres dominios constantes (C_H) para cada una de las cadenas α y γ y cuatro dominios C_H para los isotipos μ y ϵ . Cada cadena L tiene en la terminal N, un dominio variable (V_L) seguido de un dominio constante (C_L) en su otro

extremo. El V_L se alinea con V_H y C_L se alinea con el primer dominio constante de la cadena pesada. (C_{H1}). Se creen que los residuos particulares de aminoácidos forman una interface entre los dominios variables de cadena pesada y de cadena liviana. El apareamiento de V_H y V_L juntos forma un sitio simple aglutinante de antígeno. Para la estructura y las propiedades de las diferentes clases de anticuerpos, ver, por ejemplo, Basic and Clinical Immunology (Inmunología Básica y Clínica), 8° edición, Daniel P. Stites, Abba I. Terr y Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, 1994, página 71 y Capítulo 6.

La cadena L desde cualquier especie de vertebrados puede asignarse a uno de los dos tipos claramente distintos, denominados kappa y lambda, basado en las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas (C_H), las inmunoglobulinas pueden asignarse a diferentes clases o isotipos. Hay cinco clases de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG, e IgM, con cadenas pesadas designadas α , δ , ϵ , γ and μ , respectivamente. Las clases γ y α además se dividen en subclases en base a las diferencias relativamente menores en la secuencia y la función C_H , por ejemplo, los humanos expresan las siguientes subclases: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, y IgA2.

Miembros de la familia de los camélidos, por ejemplo, llama, camello y dromedarios, contiene un tipo único de anticuerpo que carece de cadenas livianas y además no posee el dominio G_H (Muyldermans, S., Rev. Mol. Biotechnol., 74, 277-302 (2001)). La región variable de estos anticuerpos de cadena pesada se los denomina V_{HH} o VHH, y constituyen el fragmento aglutinante de antígenos intacto disponible más pequeño (15 kDa) derivado de una inmunoglobulina funcional.

El término "variable" se refiere al hecho de que ciertos segmentos de los dominios variables difieren extensamente en secuencia entre los anticuerpos. El dominio V intercede con el aglutinante de antígenos y define la especificidad de un anticuerpo específico para su antígeno. No obstante, la variabilidad no se distribuye de forma pareja a lo largo del tramo de aminoácidos 110 de los dominios variables. En cambio, las regiones V consisten en distancias relativamente invariantes denominadas regiones de marco (FR) de 15-30 aminoácidos separados por regiones más cortas que la variabilidad extrema denominada "regiones hipervariables" que tienen cada uno un largo de 9 a 12 aminoácidos. Los dominios variables de cada cadena nativa pesada o liviana comprenden cuatro FRs, que adoptan ampliamente una configuración de hoja β , conectados por tres regiones hipervariables,

que forman circuitos que se conectan, y en algunos casos forman parte de, una estructura de hoja β . Las regiones hipervariables en cada cadena se unen en proximidad de los FRs y, con las regiones hipervariables de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio aglutinante de antígenos de los anticuerpos. Los dominios constantes no se incluyen directamente en la aglutinación de un anticuerpo con un antígeno, pero exhibe varias funciones ejecutadoras, tales como la participación del anticuerpo en una citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC).

El término "región hipervariable" cuando se usa en la presente se refiere a los residuos de aminoácidos de un anticuerpo que son responsables de la aglutinación del antígeno. La región hipervariable comprende, generalmente, residuos de aminoácidos de una "región determinante de la complementariedad" o "CDR" (p. ej. alrededor de los residuos 24-34 (L1), 50-56 (L2) y 89-97 (L3) en V_L , y aproximadamente alrededor de 1-35 (H1), 50-65 (H2) y 95-102 (H3) en V_H ; Kabat y col., *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (Secuencias de las Proteínas de Interés Inmunológico), 5° Ed. Public Health Service (Servicio Público de Salud), National Institutes of Health (Instituto

Nacional de Salud), Bethesda, Md. (1991)) o aquellos residuos del "circuito hipervariable".

El término "anticuerpo monoclonal", como se utiliza en la presente, se refiere a un anticuerpo
5 obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos excepto para las mutaciones posibles que ocurren naturalmente que pueden estar presente en cantidades
10 menores. En contraste con las preparaciones de anticuerpo policlonal, las cuales incluyen diferentes anticuerpos dirigidos en contra de los epítopos diferentes, cada anticuerpo monoclonal se conduce en contra de un epítipo simple, es decir, un determinante
15 antigénico simple. Además de su especificidad, los anticuerpos monoclonales tienen ventajas porque pueden ser sintetizados sin contaminarse por otros anticuerpos. El modificador "monoclonal" no se construye como producción necesaria del anticuerpo por cualquier
20 método específico. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales útiles en la presente invención pueden no estar preparados por la metodología de hibridoma o pueden realizarse usando métodos de DNA recombinante en células bacterianas, eucariotas, animales y de plantas
25 (ver, p. ej., patente de los EE.UU. núm. 4,816,567). Los "anticuerpos monoclonales" también pueden aislarse

de las bibliotecas de anticuerpos fagos, usando las técnicas disponibles, por ejemplo, Clackson y col., *Nature (Naturaleza)*, 352:624-628 (1991).

Los anticuerpos monoclonales en la presente
5 incluyen anticuerpos "quimera", en donde una porción de la cadena pesada o liviana es idéntica con u homóloga a las secuencias correspondientes en los anticuerpos derivados de una especie específica o que pertenecen a una clase o subclase de anticuerpo específico, mientras
10 que el resto de la(s) cadena(s) es(son) idéntica(s) con u homóloga(s) a las secuencias correspondientes con los anticuerpos derivados de otras especies o que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpo, así como fragmentos de esos anticuerpos, siempre que
15 exhiban la actividad biológica deseada (ver patente de los EE.UU. núm. 4,816,567; y Morrison y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, 81, 6851-6855 (1984)).

Un "fragmento de anticuerpo" comprende una porción de un anticuerpo multimérico, preferentemente,
20 el aglutinante de antígeno o la región variable del anticuerpo intacto. Ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen Fab, Fab', F(ab')₂, dímeros y trímeros de conjugados Fab, Fv, scFv, minicuerpos; dia-, tria-, tetrabodies; anticuerpos lineales (ver Hudson
25 y col., *Nature Med.* 9, 129-134 (2003)).

"Fv" es el fragmento de anticuerpo mínimo el cual contiene un sitio completo de aglutinante de antígeno. Este fragmento consiste de un dimer de un dominio de región variable de una cadena liviana y una
5 cadena pesada en enlace ajustado, no covalente. Del plegamiento de dos dominios surgen seis circuitos hipervariables (3 circuitos cada uno de la cadena H y L) que contribuye con los residuos de aminoácidos para el aglutinante del antígeno y otorga la especificidad
10 del aglutinante del antígeno al anticuerpo. No obstante, aún un dominio variable simple (o la mitad de un Fv que comprende solo tres CDRs específicos para un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y ligar antígenos, y por ello se incluyen en la definición de
15 Fv.

"Cadena simple Fv" también abreviada como "sFv" o "scFv" son fragmentos de anticuerpos que comprenden los dominios de anticuerpos V_H y V_L conectados con una cadena simple de polipéptidos. Preferentemente, el
20 polipéptido sFv además comprende un enlazador de polipéptidos entre los dominios V_H y V_L que permite que el sFv forme la estructura deseada para el aglutinante de antígeno.

Los términos "dia-, tria-, y tetrabodies" se
25 refieren a los fragmentos pequeños de anticuerpos

preparados para construir fragmentos sFv con
enlazadores cortos (aproximadamente de 5 a 10 residuos)
entre los dominios V_H y V_L de forma que se logra el
apareamiento intercadena y no intercadena de los
5 dominios V , lo que resulta en un fragmento
multivalente.

El término "anticuerpo humanizado" o
"anticuerpo humano" se refiere a anticuerpos que
comprenden secuencias de regiones variables de cadenas
10 livianas y pesadas de especies no humanas (p. ej., un
ratón) pero en las cuales por lo menos una porción de
la secuencia V_H o V_L han sido alteradas para ser "más
parecido a lo humano", es decir, más parecidas a las
secuencias variables en la línea germinal humana. Un
15 tipo de anticuerpo humanizado es un anticuerpo
injertado CDR, en el cual se introducen secuencias CDR
humanas en las secuencias V_H y V_L no humanas para
reemplazar las secuencias CDR no humanas
correspondientes. El medio para realizar anticuerpos
20 humanizados, quimera e injertados CDR son conocidos por
aquellas personas con experiencia en la industria (ver,
p. ej., patente de los EE.UU. núms. 4,816,567 y
5,225,539). Un método para hacer anticuerpos humanos
emplea el uso de animales transgénicos, tales como un
25 ratón transgénico. Estos animales transgénicos

contienen una porción sustancial de anticuerpo humano que produce un genoma insertado en su propio genoma y la producción de anticuerpo endógeno es deficiente en la producción de anticuerpos. Los métodos para hacer
5 esos animales transgénicos se conocen en la industria. Esos animales transgénicos pueden hacerse usando tecnología XenoMouse^{RTM} o usando una metodología "minilocus". Los métodos para hacer XenoMice^{RTM} se describen en la patente de los EE.UU. núms. 6,162,963,
10 6,150,584, 6,114,598 y 6,075,181. Los métodos para hacer animales transgénicos usando una metodología "minilocus" se describen en la patente de los EE.UU. núms. 5,545,807, 5,545,806 y 5,625,825, y en la WO 93/12227.

15 La humanización de un anticuerpo no humano se ha vuelto una rutina en los últimos años, y ahora se incluye dentro del conocimiento de aquellos con experiencia en la industria. Varias compañías proporcionan servicio para humanizar un anticuerpo, por
20 ejemplo, Xoma, Aries, Medarex, PDL, y Cambridge Antibody Technologies. Los protocolos de humanización se describen extensamente en la literatura técnica, por ejemplo, Kipriyanov y Le Gall, Molecular Biotechnol (Biotecnología Molecular), Vol. 26, PP 39-60 (2004),
25 Humana Press, Totowa, NJ; Lo, Methods Mol. Biol., Vol.

248, pp 135-159 (2004), Humana Press, Totowa, NJ; Wu y col., J. Mol. Biol. 294, 151-162 (1999).

En ciertas modalidades, los anticuerpos de la presente invención pueden expresarse en líneas de
5 células más que en líneas de células hibridoma. Las secuencias que codifican los anticuerpos particulares pueden usarse para la transformación de una célula mamífera huésped adecuada mediante métodos conocidos para la introducción de los polinucleótidos en una
10 célula huésped, lo cual incluye, por ejemplo, el empaque del nucleótido en un virus (o en un vector viral) y transduciendo una célula huésped con el virus (o vector), o mediante los procedimientos de transfección conocidos en la industria, como se
15 ejemplifica en la patente de los EE.UU. núms. 4,399, 216, 4,912,040, 4,740,461, y 4,959,455. El procedimiento de transformación usado puede depender del huésped a ser transformado. Los métodos para la introducción de polinucleótidos heterólogos en células
20 mamíferas son conocidos en la industria e incluyen, pero no se limitan a, transfección mediada por dextrano, precipitación de fosfato de calcio, transfección mediada por polibreno, fusión protoplasto, electroporación, encapsulación del o de los
25 polinucleótidos en liposomas, ácido nucleico mezclado

con lípidos de carga positiva, y microinyección directa de DNA en los núcleos.

Una molécula de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de una región constante de
5 cadena pesada, una región constante de cadena liviana, o una región variable de cadena liviana de un anticuerpo, o un fragmento de ello en una combinación adecuada si lo desea, es/son insertados en un vector de expresión apropiada usando técnicas de ligación
10 estándares. La región constante de cadena liviana o pesada del anticuerpo puede agregarse al terminal C de la región variable apropiada y se liga al vector de expresión. El vector, por lo general, se selecciona para ser funcional en la célula huésped específica
15 empleada (es decir, el vector es compatible con la maquinaria de célula huésped de forma que se produzca la amplificación del gen o la expresión del gen). Para una revisión de los vectores de expresión, ver Methods Enzymol. vol. 185 (Goeddel, ed.), 1990, Academic Press.

20 Los anticuerpos y fragmentos de éstos de la presente invención ligan los HPTPbeta y regulan la angiogénesis. Como se definió anteriormente, el término anticuerpo se usa para denotar un fragmento aglutinante de antígenos. Los usos de esos anticuerpos y fragmentos
25 aglutinante de antígenos se describen en detalle más adelante.

Ensayos de tamizado usando modelos in vitro e in vivo
de la angiogénesis

Los anticuerpos de la invención pueden
5 tamizarse en los ensayos de angiogénesis que son
conocidos en la industria. Esos ensayos incluyen
ensayos in vitro que miden los surrogados del
crecimiento del vaso sanguíneo en las células
cultivadas o la formación de las estructuras vasculares
10 de los explantes de tejidos y los ensayos in vivo que
miden el crecimiento del vaso sanguíneo directa o
indirectamente (Auerbach, R., y col. (2003). Clin Chem
49, 32-40, Vailhe, B., y col. (2001). Lab Invest 81,
439-452).

15

Modelos In vitro de la angiogénesis

La mayoría de estos ensayos emplea células
endoteliales cultivadas o explantes de tejidos y miden
el efecto de los agentes sobre las respuestas de las
20 células "angiogénicas" o sobre la formación de
estructuras sanguíneas del tipo capilar. Ejemplos de
los ensayos de angiogénesis in vitro incluyen, pero no
se limitan a, la migración y proliferación de células
endoteliales, formación del tubo capilar, proliferación
25 endotelial, el ensayo de explante del anillo aórtico y
el ensayo del arco aórtico del pollo.

Modelos in vivo de la angiogénesis

En estos ensayos los agentes o anticuerpos se administran localmente o sistémicamente en presencia o
ausencia de los factores de crecimiento (es decir, VEGF
o angiopoietina 1) y se mide el crecimiento del nuevo
vaso sanguíneo mediante observación directa o midiendo
un marcador surrogado tal como el contenido de
hemoglobina o un indicador fluorescente. Ejemplos de la
angiogénesis incluyen, pero no se limitan a, un ensayo
de la membrana corioalantoica del pollo, el ensayo de
la angiogénesis corneal, y el ensayo del enchufe
MATRIGEL™.

Tratamiento de la angiogénesis regulada por trastornos

El término "regula" se define en sus significados aceptados por el diccionario. Así, el significado del término "regula" incluye, pero no se limita a, regular hacia arriba o regular hacia abajo, para fijar, para dar orden o uniformidad, para controlar, o para dirigir por diferentes medios. En un aspecto, un anticuerpo puede usarse en un método para el tratamiento de un "trastorno de la angiogénesis elevada" o "trastorno de la angiogénesis reducida". Como se utiliza en la presente, un "trastorno de la

angiogénesis elevada" es aquel que incluye una angiogénesis deseada o elevada en la manifestación biológica de la enfermedad, el desorden y/o la condición; en la cascada biológica que lleva al trastorno; o como un síntoma del trastorno. De igual forma, el "trastorno de la angiogénesis reducida" es aquel que incluye la angiogénesis reducida o deseada en las manifestaciones biológicas. Esta "intervención" de la angiogénesis en el trastorno de la angiogénesis elevada/reducida incluye, pero no se limita a, lo siguiente:

- (1) La angiogénesis como "causa" del trastorno o manifestación biológica, ya sea el nivel de la angiogénesis elevado o reducido genéticamente, por infección, por autoinmunidad, trauma, causas biomecánicas, estilo de vida, o por alguna otra causa.
- (2) La angiogénesis como parte de la manifestación observable de la enfermedad o el trastorno. Es decir, la enfermedad o el trastorno se mide en términos de angiogénesis aumentada o reducida. Desde el punto de vista clínico, la angiogénesis indica la enfermedad; no

obstante, la angiogénesis no necesita ser el "sello" de la enfermedad o el trastorno.

5 (3) La angiogénesis es parte de la cascada bioquímica o celular que resulta en la enfermedad o el trastorno. Respecto a esto, la regulación de la angiogénesis puede interrumpir la cascada, y puede controlar la enfermedad. Ejemplos no
10 limitantes de trastornos regulados por la angiogénesis que pueden ser tratados por la presente invención se describen más adelante en la presente.

Los anticuerpos de la presente invención
15 pueden usarse para tratar enfermedades asociadas con la neovascularización retinal/coroidal que incluye, pero no se limita a, retinopatía diabética, degeneración macular, cáncer, anemia falciforme, sarcoma, sífilis, pseudoxanthoma elasticum, enfermedad de Paget, oclusión
20 venosa, oclusión arterial, enfermedad obstructiva de la carótida, inflamación crónica de la úvea/vitritis, infecciones micobacterianas, enfermedad de Lyme, lupus eritematoso sistémico, retinopatía de la prematuridad, enfermedad de Eales, enfermedad de Behcet, infecciones
25 que provocan retinitis o coroiditis, histoplasmosis ocular presunta, enfermedad de Best, miopía, foveas

papilares, enfermedad de Stargardt, pars planitis, desprendimiento crónico de la retina, síndrome de hiperviscosidad, toxoplasmosis, trauma y complicaciones post-láser. Otras enfermedades incluyen, pero no se
5 limitan a, enfermedades asociadas con la rubeosis (neovascularización del iris) y enfermedades causadas por la proliferación anormal del tejido fibrovascular o fibroso, incluso todas las formas de vitreoretinopatía proliferativa, esté asociada o no con la diabetes.

10 Los anticuerpos de la presente invención pueden usarse para tratar enfermedades asociadas con la inflamación crónica. Enfermedades con síntomas de inflamación crónica incluyen enfermedades inflamatorias del intestino, tales como la enfermedad de Crohn y la
15 colitis ulcerosa, soriasis, sarcoidosis y artritis reumatoidea. La angiogénesis es un elemento clave común en estas enfermedades inflamatorias crónicas. La inflamación crónica depende de la formación continua de proliferaciones capilares que mantienen un influjo de
20 células inflamatorias. El influjo y la presencia de células inflamatorias produce granulomas y, por ello, mantienen el estado inflamatorio crónico. La inhibición de la angiogénesis mediante las composiciones y métodos de la presente invención prevendrían la formación de
25 los granulomas y aliviarían la enfermedad.

La enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa se caracterizan por la inflamación crónica y la angiogénesis en sitios diversos en el tracto gastrointestinal. La enfermedad de Crohn se caracteriza por la inflamación crónica granulomatosa a través del tracto gastrointestinal formado de nuevas proliferaciones capilares rodeado de un cilindro de células inflamatorias. La prevención de la angiogénesis inhibe la formación de las proliferaciones y evita la formación de granulomas. La enfermedad de Crohn se produce como una enfermedad inflamatoria transmural crónica que comúnmente afecta al íleon distal y al colon pero puede además ocurrir en cualquier parte de tracto gastrointestinal desde la boca hasta el ano y el área perianal. Los pacientes con enfermedad de Crohn generalmente tienen diarrea crónica asociada con dolor abdominal, fiebre, anorexia, pérdida de peso e hinchamiento abdominal. La colitis ulcerosa es además una enfermedad ulcerosa, inflamatoria, no específica y crónica que se produce en la mucosa colónica y se caracteriza por la presencia de diarrea sangrante.

Las enfermedades inflamatorias del intestino muestran manifestaciones extra intestinales tales como lesiones de la piel. Esas lesiones se caracterizan por inflamación y angiogénesis y puede producirse en cualquier lugar que no sea el tracto gastrointestinal.

Los anticuerpos de la presente invención pueden ser capaces de tratar estas lesiones evitando la angiogénesis, reduciendo así el influjo de las células inflamatorias y la formación de lesiones.

5 La sarcoidosis es otra enfermedad inflamatoria crónica que se caracteriza como un trastorno granulomatoso multisistémico. Los granulomas de este trastorno puede formarse en cualquier parte del cuerpo y así los síntomas dependen del lugar de los granulomas
10 y si la enfermedad está activa. Los granulomas se crean mediante proliferaciones capilares angiogénicas que proporcionan un suministro constante de células inflamatorias.

Los anticuerpos de la presente invención
15 pueden tratar las condiciones inflamatorias crónicas asociadas con la soriasis. La soriasis, una enfermedad de la piel, es otro trastorno recurrente y crónico que se caracteriza por las pápulas y las placas de varios tamaños. La prevención de la formación de los nuevos
20 vasos sanguíneos necesarios para mantener las lesiones características llevan a aliviar los síntomas.

La artritis reumatoidea es un trastorno inflamatorio crónico caracterizado por la inflamación no específica de las uniones periféricas. Se cree que
25 los vasos sanguíneos en el revestimiento sinovial de las uniones sufren de angiogénesis. Además de formar

nuevas redes vasculares, los factores que liberan células endoteliales y especies reactivas del oxígeno que llevan al crecimiento de la queratitis vascular y a la destrucción del cartílago. Los factores incluidos en la angiogénesis pueden contribuir de forma activa, y pueden ayudar a mantener el estado inflamado crónicamente de la artritis reumatoidea. Otros trastornos que pueden tratarse de conformidad con la presente invención son los hemangiomas, el trastorno de Osler-Weber-Rendu, o la telangiectasia hemorrágica hereditaria, y tumores de transmisión sanguínea o sólidos y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

Los anticuerpos de la presente invención pueden usarse además para tratar un "trastorno de la angiogénesis reducida". Como se utiliza en la presente, un "trastorno de la angiogénesis reducida" es aquel donde la angiogénesis podría considerarse beneficiosa para tratar una enfermedad, trastorno, o condición. El trastorno es aquel caracterizado por el tejido que sufre o está en riesgo de sufrir daño isquémico, infección o una mala curación, lo cual resulta cuando el tejido es privado de un suministro adecuado de sangre oxigenada debido a una mala circulación. Como se utiliza en la presente, "tejido" se usa en un sentido más amplio, para incluir, pero sin limitarse a, lo

siguiente: tejido cardíaco, tal como los ventrículos del miocardio y cardíaco; el tejido eréctil; el músculo del esqueleto; el tejido neurológico, tal como el cerebelo; los órganos internos, tales como el cerebro, el corazón, páncreas, hígado, bazo y pulmones; o áreas generalizadas del cuerpo tales como las extremidades completas, un pie, o los miembros distales tales como dedos de las manos o pies.

10 Métodos de vascularización de los tejidos isquémicos

En un aspecto, los anticuerpos pueden usarse en un método de vascularización de tejidos isquémicos. Como se utiliza en la presente, "tejidos isquémicos," se refiere al tejido que es privado de una adecuada circulación sanguínea. Ejemplos de tejidos isquémicos incluyen, pero no se limitan a, tejidos que no tienen una adecuado suministro sanguíneo que resulta en infartos cerebrales y del miocardio, isquemia en el miembro o isquemia mesentérica, o el resultado de oclusiones vasculares o estenosis. En un ejemplo, la interrupción del suministro de la sangre oxigenada puede ser provocada por una oclusión vascular. Esa oclusión vascular puede ser provocada por arteriosclerosis, trauma, procedimientos quirúrgicos, trastornos, u otras etiologías. Las técnicas de la rutina estándar están disponibles para determinar si un

00158

tejido está en riesgo de sufrir daño isquémico de una oclusión vascular no deseada. Por ejemplo, en los trastornos del miocardio estos métodos incluyen una variedad de técnicas de imagen (p. ej., metodologías de radiotrazador, rayos x y MRI (Resonancia Magnética) y exámenes fisiológicos. Por ello, la inducción de la angiogénesis es un medio efectivo para evitar o atenuar la isquemia en tejidos afectados por o en riesgo de sufrir una oclusión vascular. Además, se contempla totalmente el tratamiento del músculo del esqueleto y de la isquemia del miocardio, ataque cardíaco, trastorno de la arteria coronaria, trastorno vascular periférico, trastorno de la arteria coronaria.

Una persona con experiencia en la industria que usa técnicas estándar puede medir la vascularización del tejido. Ejemplos no limitantes de medición de la vascularización en un individuo incluyen SPECT (tomografía por emisión de fotón único); PET (Tomografía por emisión de positrones); MRI (resonancia magnética); y combinaciones de éstos, al medir la circulación sanguínea del tejido antes y después del tratamiento. La angiografía puede usarse como una evaluación de la vascularidad macroscópica. La evaluación histológica puede usarse para cuantificar la vascularidad en el nivel de vaso pequeño. Estas técnicas y otras se discuten en Simons, y col.,

"Clinical trials in coronary angiogenesis" (Exámenes clínicos en la angiogénesis coronaria), Circulation (Circulación), 102, 73-86 (2000).

5 Métodos para reparar tejidos

En un aspecto, los anticuerpos pueden usarse en un método para reparar tejidos. Como se utiliza en la presente, "reparar tejidos" se refiere a promover la reparación del tejido, regeneración, crecimiento, o
10 mantenimiento, incluso, pero sin limitarse a, la reparación de una herida o la ingeniería del tejido. Una persona con experiencia en la industria aprecia que la formación del nuevo vaso sanguíneo es necesaria para la reparación del tejido. A su vez, el tejido puede
15 dañarse por, incluso, pero sin limitarse a, heridas traumáticas o condiciones que incluyen artritis, osteoporosis y otros trastornos del esqueleto, y quemaduras. El tejido puede dañarse además por heridas debido a procedimientos quirúrgicos, irradiación,
20 laceración, químicos tóxicos, infecciones virales o bacterianas, o quemaduras. El tejido que necesita ser reparado además incluye heridas que no se curan. Ejemplos de heridas que no se curan incluyen úlceras de la piel que no se curan que resultan en una patología
25 diabética; o fracturas que no se curan fácilmente.

Los anticuerpos pueden ser usados además en la
reparación de tejidos en el contexto de los
procedimientos de regeneración tisular guiada (GTR).
Aquellas personas con experiencia en la industria usan
5 esos procedimientos actualmente para acelerar la
curación de heridas siguiendo procedimientos
quirúrgicos invasivos.

Los anticuerpos pueden usarse en un método
para promocionar la reparación de tejidos
10 caracterizados por el crecimiento aumentado del tejido
durante el proceso de ingeniería del tejido. Como se
utiliza en la presente, "ingeniería del tejido" se
define como la creación, diseño, y fabricación de los
dispositivos protésicos biológicos, en combinación con
15 materiales sintéticos o naturales, para el incremento o
el reemplazo de tejidos y órganos corporales. Por ello,
los métodos actuales pueden usarse para aumentar el
diseño y el crecimiento de los tejidos humanos fuera
del cuerpo para su implantación posterior en la
20 reparación o reemplazo de los tejidos enfermos. Por
ejemplo, los anticuerpos pueden ser útiles para
promover el crecimiento de las reposiciones de los
injertos de piel que se usan como terapia en el
tratamiento de las quemaduras.

25 En otro aspecto de la ingeniería del tejido,
los anticuerpos de la presente invención pueden

incluirse en los dispositivos que contienen células o
libres de células que inducen la regeneración de los
tejidos humanos funcionales cuando se implantan en un
lugar que requiere regeneración. Como se discutió
5 anteriormente, la regeneración tisular guiada por
biomateriales puede usarse para promover el
recrecimiento óseo en, por ejemplo, enfermedad
periodontal. Por ello, los anticuerpos pueden usarse
para promover el crecimiento de tejidos reconstituidos
10 ensamblados en configuraciones tridimensionales en el
lugar de una herida u otro tejido que necesita
reparación.

En otro aspecto de la ingeniería del tejido,
los anticuerpos pueden incluirse en dispositivos
15 externos e internos que contienen tejidos humanos
diseñados para reemplazar la función de los tejidos
internos enfermos. Este enfoque incluye células
aisladas del cuerpo, colocándolas con matrices
estructurales, e implantando el nuevo sistema dentro
20 del cuerpo o usando el sistema fuera del cuerpo. Por
ejemplo, los anticuerpos pueden incluirse en un injerto
vascular con revestimiento celular o promover el
crecimiento de células contenidas en el injerto. Se
visualiza que los métodos de la invención pueden usarse
25 para aumentar la reparación de tejidos, regeneración e
ingeniería en productos tales como cartílago y hueso,

tejidos del sistema nervioso central, músculo, hígado y células del islote pancreático (generadoras de insulina).

5 Formulaciones farmacéuticas y métodos de uso

Los anticuerpos de la invención pueden administrarse a los individuos para tratar o prevenir enfermedades o trastornos que se regulan mediante los genes y las proteínas de la invención. En la presente, 10 el término "tratamiento" se utiliza para dar a entender que la administración de un compuesto de la presente invención mitiga una enfermedad o un trastorno en un receptor. Por consiguiente, el término "tratamiento" incluye las acciones de prevenir la aparición de un 15 trastorno en un receptor, especialmente cuando el receptor tiene predisposición a adquirir la enfermedad, pero todavía no ha sido diagnosticado con ella; inhibir el trastorno; o aliviar o revertir el trastorno. En la medida en que los métodos de la presente invención 20 están dirigidos a la prevención de trastornos, se entiende que el término "prevenir" no requiere que el trastorno sea completamente combatido. (Ver Webster's Ninth Collegiate Dictionary.) Más bien, como se utiliza en la presente, el término "prevenir" se refiere a la 25 habilidad de aquellos con conocimiento en la industria

para identificar una población que sea susceptible a los trastornos, de manera que los compuestos de la presente invención puedan administrarse antes del comienzo de una enfermedad. El término no implica que
5 se pueda evitar por completo el estado de la enfermedad. Los compuestos identificados por los métodos de análisis de la presente invención pueden administrarse junto con otros compuestos.

La seguridad y eficacia terapéutica de los
10 compuestos identificados puede determinarse por medio de los procedimientos estándar utilizando tecnologías *in vitro* o *in vivo*. Pueden preferirse los compuestos que muestran índices terapéuticos grandes, aunque los compuestos con menor índice terapéutico pueden ser
15 útiles si el nivel de los efectos colaterales es aceptable. Los datos obtenidos con las técnicas toxicológicas y farmacológicas *in vitro* e *in vivo* pueden utilizarse para formular el intervalo de dosis.

La efectividad de un compuesto puede además
20 evaluarse en modelos animales o en exámenes clínicos de pacientes con angiogénesis regulada indebidamente o no regulada.

Como se utiliza en la presente, "portador farmacéuticamente aceptable" intenta incluir todos los
25 solventes, medios de dispersión, recubrimientos y agentes antifúngicos, agentes isotónicos, agentes

retardadores de la absorción y similares, compatibles con la administración farmacéutica. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es conocido en la industria. Excepto en la
5 medida en que cualquier medio convencional o agente sea incompatible con el compuesto activo, esos medios pueden usarse en las composiciones de la invención. Los compuestos activos complementarios pueden además incorporarse en las composiciones. Una composición
10 farmacéutica de la invención se formula para ser compatible con la vía de administración prevista. Los ejemplos de vías de administración incluyen la administración parenteral, por ejemplo, intravenosa, intradérmica, subcutánea, por vía oral (p. ej.,
15 inhalación), transdérmica (tópica), transmucosa y rectal. Las soluciones o suspensiones utilizadas para la aplicación parenteral, intradérmica o subcutánea pueden incluir los siguientes componentes: Un diluyente estéril como el agua para inyección, solución salina,
20 aceites fijos, glicoles de polietileno, glicerina, glicol de propileno, u otros solventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes tales
25 como ácido etilendiaminotetraacético; amortiguadores tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para

el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa. El pH puede ajustarse con ácido o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. La preparación parenteral puede estar contenida en
5 ampollas, jeringas desechables o frascos de dosis múltiples de vidrio o plástico.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones acuosas estériles (solubles en agua), o dispersiones y polvos estériles
10 para la preparación improvisada de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Para la administración intravenosa, los portadores adecuados incluyen salino fisiológico, agua bacteriostática, CREMOPHOR EL™ (BASF, Parsippany, N.J.) o. En todos
15 casos, la composición debe ser estéril y debe ser fluida hasta el punto que permita la administración con jeringa fácilmente. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe protegerse de la acción contaminante de microorganismos tales como
20 bacterias y hongos. El portador puede ser un solvente o un medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (p. ej., glicerol, propilenglicol, y glicol de polietileno líquido, y similares), y combinaciones adecuadas de éstos. La fluidez apropiada
25 puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un revestimiento tal como lecitina, mediante el

mantenimiento del tamaño requerido de partículas en el caso de dispersión y mediante el uso de surfactantes. La prevención de la acción de los microorganismos puede lograrse mediante diversos agentes bacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabéns, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal, y similares. En muchos casos, será preferible incluir en la composición agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol y cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede producirse incluyendo en la composición un agente que retarda la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles se preparan incorporando el compuesto activo en la cantidad necesaria en un solvente apropiado con un ingrediente o una combinación de ingredientes enumeradas anteriormente, como sea requerido, seguido de la esterilización filtrada. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes necesarios. En el caso de los polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son el secado al vacío y el secado por congelamiento, que produce un polvo del

~~00167~~

ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado de una solución previamente esterilizada con filtro de ese ingrediente adicional.

La administración sistémica también puede ser
5 por medios transmucosos o transdérmicos. Para la administración transdérmica o transmucosa, se utilizan en la formulación los penetrantes adecuados para la barrera que debe atravesarse. Esos penetrantes se conocen de manera generalizada en la industria e
10 incluyen, por ejemplo, detergentes, sales biliares y derivados del ácido fusídico para la administración transmucosa. La administración transmucosa puede lograrse mediante el uso de aerosoles nasales o supositorios. Para la administración transdérmica, los
15 activos compuestos están formulados como pomadas, ungüentos, geles o cremas, como se conocen de manera generalizada en la industria.

Los compuestos también pueden prepararse en forma de supositorios (p. ej., con bases convencionales
20 para supositorios tales como manteca de cacao y otros glicéridos) o de enemas de retención para suministro rectal.

En una modalidad, los compuestos activos se preparan con portadores que protegerán el compuesto
25 contra cualquier eliminación rápida del cuerpo tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo

~~60168~~

implantes y sistemas de suministro microencapsulados. Pueden utilizarse polímeros biodegradables y biocompatibles, tales como acetato de etilenvinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, polioortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos para preparar tales formulaciones serán claros para aquellos con conocimiento en la industria. Los materiales también pueden obtenerse comercialmente en Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. Las suspensiones de liposomas (incluyendo liposomas destinados a las células infectadas con anticuerpos monoclonales en antígenos virales) también pueden usarse como portadores aceptables farmacéuticamente. Estos pueden prepararse de conformidad con los métodos conocidos por aquellas personas con experiencia en la industria, por ejemplo, como se describe en la patente de los EE.UU. núm. 4,522,811.

Resulta especialmente ventajoso formular composiciones orales o parenterales en forma de dosis unitaria para facilitar la administración y que la dosis sea uniforme. "Forma unitaria de dosificación", como se utiliza en la presente, se refiere a unidades físicamente distintas adaptadas de acuerdo a las dosificaciones unitarias para el individuo a tratar, cada unidad contiene una cantidad predeterminada de un compuesto activo calculado para producir el efecto

terapéutico deseado junto con el portador farmacéutico necesario. La especificación para las forma unitaria de dosificación se dictan mediante y dependen directamente de la única característica del compuesto activo y el
5 efecto terapéutico específico a lograr, y las limitaciones propias en la industria de componer ese compuesto activo para el tratamiento de individuos.

Ejemplos

10 Ejemplo 1. La producción de la proteína de dominio extracelular HPTP β .

Métodos: El HPTP β de longitud total se reproduce de una biblioteca placentaria humana de
15 conformidad con las instrucciones del fabricante (Origene). La copia es idéntica a la copia de cDNA informada anteriormente (acceso Genbank # X54131) excepto que pierde FNIII repetición n° 5. Un cDNA que codifica el dominio extracelular soluble completo (ECD)
20 de HPTP β es reproducido por PCR desde el cDNA de longitud total (ver secuencia debajo) con código AA 1-1534 con un terminal-c agregado His-His-His-His-His-His-Gly (6His-Gly) (sec. con núm. de ident. 1). El cDNA resultante se reproduce en vectores de expresión
25 mamífera para expresiones transitorias (pShuttle-CMV) o estables (pcDNA3,1(-)) en células HEK293. Para obtener

~~00170~~

HPTP β ECD (β ECD) purificado, se incuban las células HEK293 transfectadas con un β vector de expresión ECD en OptiMEM libre de suero (Gibco) durante 24 horas bajo condiciones normales de crecimiento. Los medios
5 condicionados luego se recuperan, centrifugados para eliminar el desecho (1000 rpm x 5 minutos), y se agrega 1 ml de agarosa lavada Ni-NTA (Qiagen) (500 μ L de material compactado) cada 10 ml de medios claros permitiendo que se sacudan durante toda la noche a
10 4 °C. Al día siguiente, la mezcla se carga en una columna y se lava con 20 volúmenes de lecho de 50 mM NaH₂PO₄, 300 mM NaCl, 20 mM de imidazol, pH 8. La proteína de dominio extracelular purificada HPTP β (sec. con núm. de ident. 2) luego se extrae con solventes en
15 seis fracciones con 200 μ L/por elución en 50 mM NaH₂PO₄, 300 mM NaCl, 250 mM de imidazol, pH 8. Se analiza el contenido de proteínas de las fracciones usando electroforesis en gel SDS-poliacrilimida reductor y desnaturalizante y se detecta mediante una
20 mancha de plata (Invitrogen) y se confirma mediante espectometría de masa.

Resultados: Para desarrollar un anticuerpo en un dominio extracelular de HPTP β ?, se desarrollan los vectores de expresión que dirigen la expresión de una
25 proteína extracelular de dominio 6-His tagged HPTP β (Figura 1, Panel A). Posteriormente, la proteína

extracelular de dominio 6-His tagged HTPB se purifica cerca de la homogeneidad (Figura 1, Panel B) de los medios condicionados de las células HEK293 transfectadas con el vector de expresión.

5 Ejemplo 2. La generación de anticuerpos monoclonales en el dominio extracelular HTPB.

Métodos: Para la producción del inmunógeno del dominio extracelular del HTPB, se conjuga la proteína
10 6His del dominio extracelular de HTPB purificada con tiroglobulina porcina (Sigma) usando química de acoplamiento EDC (Hockfield, S. y col., (1993) Cold Spring Habor Laboratory Press. Volume 1 pp. 111-201, Immunocytochemistry (Inmunocitoquímica)). El conjugado
15 de tiroglobulina resultante del dominio extracelular HTPB se dializa en contra de PBS, pH 7,4. Ratones adultos Balb/c luego son inmunizados de forma subcutánea con el conjugado (100-200 µg) y se completan con el adyuvante de Freund en una mezcla 1 a 1. Después
20 de dos o tres semanas, se inyecta en el interperitoneo o de forma subcutánea el adyuvante incompleto de Freund y el conjugado en los ratones en una mezcla 1 a 1. La inyección se repite de 4 a 6 semanas. Se obtiene suero de ratones 7 días después de la tercera inyección y se
25 ensaya para inmunoreactividad en el antígeno del dominio extracelular HTPB mediante ELISA y western

blotting. Los ratones que muestran una buena respuesta al antígeno son estimulados mediante una sola inyección intra-bazo con 50 µL de proteína de dominio extracelular HTPB purificada mezclada 1:1 con hidróxido de aluminio usando una aguja extra larga calibre 31 (Goding, J. W., (1996) Monoclonal Antibodies: Principles and Practices (Anticuerpos monoclonales: Principios y Prácticas). Tercera edición, Academic Press Limited. pág. 145). Brevemente, los ratones son anestesiados con avertín al 2,5 %, y se crea una incisión de 1 centímetro en la piel y la pared del cuerpo queda oblicua. La mezcla de antígenos se administra insertando la aguja desde la porción posterior hacia la porción anterior del bazo en una inyección longitudinal. La pared del cuerpo se sutura y la piel se sella con dos clips pequeños de metal. Los ratones son monitoreados para una recuperación segura. Cuatro días después de la cirugía el bazo del ratón se saca y se realizan suspensiones simples de células para fusión con células de mieloma de ratón para la realización de líneas celulares de hibridoma (Spitz, M., (1986) Methods In Enzymology, Volume 121 (Métodos en enzimología, Volumen 121). Eds. John J, Lagone y Helen Van Vunakis. págs. 33-41 (Academic Press, New York, NY)). Los hibridomas resultantes se cultivan en medios Dulbecco modificados (Gibco) complementados con

el 15 % de suero de ternero fetal (Hyclone) e hipoxatina, aminopterina y timidina.

El tamizado de los hibridomas positivos comienza 8 días después de la fusión y continúan
5 durante 15 días. Los hibridomas que producen anticuerpos de dominio extracelular anti-HPTP β se identifican mediante la técnica ELISA en dos grupos de platos de 96 pocillos: uno revestido con el dominio extracelular HPTP β y otro revestido con proteína MurA
10 bacteriana marcada con histidina como un control negativo. El anticuerpo secundario es un IgG de burro anti ratón rotulado como peroxidasa de rábano picante (HRP) (Jackson Immunoresearch). La inmunoreactividad se monitorea en pocillos usando desarrollo de color
15 iniciado por las tabletas ABTS disueltas en tampón TBS, pH 7,5. Las mezclas de reacción HRP del individuo se finalizan agregando 100 microlitros de SDS al 1 % y leyendo la absorbancia a 405 nm con espectofotómetro. Los hibridomas que producen anticuerpos que interactúan
20 con el dominio extracelular-6His HPTP β , y no con la proteína murA-6His se usan para análisis adicionales. Las diluciones restrictivas (0,8 células por pocillo) se realizan dos veces en copias positivas en platos de 96 pocillos, con clonalidad definida como mayor que
25 99 % de los pocillos con reactividad positiva. Los isótopos de los anticuerpos se determinan usando la

00174

tecnología isostrip (Roche). Para obtener anticuerpo purificado para otra evaluación, los sobrenadantes de cultivo de tejido se purifican por afinidad usando una proteína A o columnas de la proteína G.

5 Resultados: Se aíslan cinco anticuerpos monoclonales inmunorreactivos en la proteína de dominio extracelular HTPB y se da la siguiente nomenclatura, R15E6, R12A7, R3A2, R11C3, R15G2 y R5A8.

10 El anticuerpo monoclonal R15E6 se deposita con la American Type Culture Collection (Colección Americana de Tipos de Cultivos) (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108 USA el 4 de mayo de 2006.

Ejemplo 3. R15E6 liga la HTPB endógena con las células endoteliales humanas.

15

A. R15E6 liga la HTPB endógena como se ha demostrado mediante la inmunoprecipitación y western blot.

20 Materiales: células endoteliales de la vena umbilical humana (HUVECs), medios EGM, y solución neutralizante de tripsina de Cambrex; OPTIMEM I (Gibco), albúmina de suero bovino (BSA; Santa Cruz), salino tamponado con fosfato (PBS; Gibco), Factores de crecimiento incluyendo Angiopoietina 1 (Ang1), factor
25 de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) (R&D Systems),

anticuerpo monoclonal Tie2 (Duke University/P&GP),
anticuerpo policlonal del receptor 2 VEGF (VEGFR2)
(Whitaker y col.), proteína A/G agarosa (Santa Cruz),
sistema de transferencia/electroforesis en gel pre cast
5 de Tris-Glicina(6-8 %) (Invitrogen), membranas PVDF
(Invitrogen), tampón para lisis (20 mM Tris-HCl, 137 mM
NaCl, 10 % glicerol, 1 % triton-X-100, 2 mM EDTA, 1 mM
NaOV, 1 mM NaF, 1 mM PMSF, 1 µg/ml leupeptina, 1 µg/ml
pepstatina).

10 Método: Los HUVECs se tratan previamente
durante 30 minutos con anticuerpo (en OPTIMEM) o
OPTIMEM I sólo. Después de eliminar el tratamiento
previo, las células se tratan con Ang1 (100 ng/ml)
durante 6 minutos en PBS + 0,2 % BSA y se lisan en
15 tampón para lisis. Los lisatos se corren directamente
en gel de Tris-Glicina o se inmunoprecipitan con 2-
5 µg/ml de anticuerpo Tie-2 o 10 µg/ml de anticuerpo
R15E6 y proteína A/G agarosa. Las muestras
inmuprecipitadas se enjuagan en 1x con tampón de lisis
20 y se hierven durante 5 minutos en 1 x tampón de
muestra. Las muestras se resuelven en gel de Tris-
Glicina, transferido a una membrana PVDF, y se detectan
mediante western blot usando los anticuerpos indicados
(pTYR Ab (PY99, Santa Cruz), Tie-2, VEGFR2 o R15E6).

25 Resultados: Mediante IP/western blotting,
R15E6 reconoce una banda de alto peso molecular

consistente con el tamaño de HPTP β (Figura 2, Panel A, Pasaje 2). Cuando menos intensas, las banda de peso molecular inferior probablemente representen formas precursoras glicosiladas de HPTP β . Una
5 inmunoprecipitación (IP) con gG no inmune de control no muestra bandas en el rango de peso molecular de la HPTP β (Figura 2, Panel A, Pasaje 1), y un Tie2/VEGFR2 IP combinado muestra bandas del peso molecular esperado (Figura 2, Panel A, Pasaje 3). Este resultado demuestra
10 que R15E6 reconoce y es específico para HPTP β .

B. R15E6 liga HPTP endógeno β como lo ha demostrado el análisis FACS

Materiales: Los HUVECs, los medios EGM, y la solución neutralizante de tripsina de Cambrex;
15 Anticuerpo secundario Alexfluor marcado 488 de Molecular Probes; solución salina balanceada de Hanks (Gibco); FACSCAN y software CellQuest software de Becton Dickenson.

Método: Los HUVECs se tripsinizan, tratados
20 con solución neutralizante de tripsina y se enjuagan con HBSS. El anticuerpo R15E6 (0,6 μ g) se agrega a 250,000 células en 50 μ L de HBSS y se incuban en hielo durante 20 minutos. Las células se enjuagan con 1 ml de HBSS seguido del agregado de 2 μ g de anticuerpo
25 secundario conjugado fluorescente durante 20 minutos en hielo. Las células se enjuagan y se resuspenden en 1 ml

de HBSS luego se analizan en el citómetro de flujo FACSCAN con el software CellQuest. Las células control se tratan solamente con anticuerpo secundario conjugado fluorescente.

5 Resultados: Mediante análisis FACS, los HUVECs intactos, R15E6 causan una modificación contundente (>90 % de las células) en la señal de fluorescencia comparado con el anticuerpo secundario solo (Figura 2, Panel B). Este resultado indica que el R15E6 liga HPTPβ
10 endógeno presente en la superficie de las células endoteliales intactas.

Ejemplo 4. R15E6 aumenta la activación de Tie2, y promueve múltiples respuesta angiogénicas (subsistencia de las células endoteliales, migración y morfogénesis capilar).
15

A. R15E6 aumenta la fosforilación de Tie2 en ausencia y presencia de la angiopoietina 1 (Ang1), el ligando de Tie2.

20 Métodos: los HUVECs se cultivan en medios libres de suero, como se describió anteriormente, en presencia o ausencia de varias concentraciones de R15E6 y con o sin Anglagregada. Los lisatos se preparan, inmunoprecipitan con anticuerpo Tie2, resuelto mediante
25 electroforesis en gel de poliacrilamida y se transfieren a una membrana PVDF. Las proteínas

inmunoprecipitantes unidas a la membrana luego se analizaron por western blot en serie con un anticuerpo de antifosfotirosina para cuantificar la fosforilación Tie2 seguida de un anticuerpo Tie2 para cuantificar el Tie2 total. La fosforilación Tie2 se expresa como la relación de la señal antifosfotirosina sobre la señal Tie2 total.

Resultados: El R15E6 aumenta la fosforilación Tie2 en ausencia y en presencia de Ang1 (Figura 3). Este resultado indica que la aglutinación de R15E6 con HPTP β en la superficie de las células endoteliales modula su función biológica dando como resultado una activación de Tie2 en ausencia o en presencia del ligando.

B. El R15E6 aumentan la subsistencia de las células endoteliales en presencia y en ausencia de los factores de crecimiento endoteliales.

Materiales: Los HUVECs, los medios EGM, y la solución neutralizante de tripsina de Cambrex; DMEM (Cell Gro), BSA delipidizada (BD Falcon), Ensayo de ATP Cell Titer-Glo (Promega), Factores de crecimiento (Ang1, VEGF 165, and FGF) (R&D Systems), (Perkin Elmer Wallac).

Método: Los HUVECs se colocan en 10,000 células/pocillo, sin suero en DMEM/0,2 % BSA y tratadas durante 72 horas en presencia o ausencia del

factor de crecimiento (Ang1, VEGF, o FGF), con o sin concentraciones diversas de anticuerpo R15E6. Después de 72 horas, las células se enjuagan con DMEM y las células sobrevivientes se cuantifican midiendo los niveles ATP usando el Ensayo de Luminiscencia Cell Titer Glo de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Promega).

Resultados: En consistencia con los resultados del ensayo de activación de Tie2, el R15E6 aumenta la subsistencia de las células endoteliales en ausencia del factor de crecimiento agregado en concentraciones entre 0,5 y 5 nM (Figura 4, Panel A). De igual forma, el R15E6 aumenta la subsistencia de las células endoteliales mediadas por Ang1 (Figura 4, Panel A) así como la subsistencia de la célula mediada por VEGF y FGF (Figura 4, Paneles B y C). No se ve ninguna subsistencia aumentada con un anticuerpo monoclonal de control (Figura 4, Panel D). Estos resultados demuestran que el R15E6 unido a HTPB en la superficie de células endoteliales aumenta la subsistencia de las células endoteliales de los valores iniciales así como la subsistencia de la célula mediada por rutas angiogénicas múltiples (Ang1, VEGF, y FGF).

C. El R15E6 aumenta la migración de las células endoteliales en presencia y en ausencia de VEGF.

~~00180~~

Materiales: Los HUVECs, los medios EGM, y la solución neutralizante de tripsina de Cambrex; EBM libre de fenol rojo (PRF-EBM, Cambrex), BSA delipidizada (BD Falcon), sistema de migración de células endoteliales BD Falcon Biocoat (BD Falcon), Calceina AM (Molecular Probes); factores de crecimiento (VEGF 165) (R&D Systems), lector de placa Victor V Multilabel (Perkin Elmer Wallac).

Método: Los HUVECs se resuspenden en PRF-EBM+0,1 % BSA y se colocan en 50,000 células/pocillos (BD Bioscience, tamaño del poro 3 μ m). El factor de crecimiento/ R15E6 se coloca en la parte inferior del pocillo de la cámara "transwell" y se incuban de 4 a 22 horas. Las células que migran a través de la membrana se detectan rotulando con 4 μ g/ml de Calceina AM durante 90'. La fluorescencia se mide usando un instrumento Victor V (485/535).

Resultados: Consistente con los resultados en el estudio de subsistencia, R15E6 aumenta la migración de células endoteliales mediadas por VEGF y los valores iniciales (Figura 5).

D. R15E6 aumenta la proliferación de células endoteliales y la morfogénesis capilar en presencia y en ausencia de factores de crecimiento endoteliales.

Materiales: Los HUVECs y los medios EGM de Cambrex; Los glóbulos del tipo Cytodex y el colágeno

tipo I de Sigma; PBS Dulbecco's y los medios M199 de Gibco; VEGF de R&D.

Método: El pasaje 4 de HUVECs (2×10^6 células) se cultiva con 5 mg de glóbulos del tipo Cytodex en 10 ml de EGM en 100 mm de placas bacteriológicas con cultivo de no tejidos tratados durante 48 horas con remolino ocasional. Los glóbulos revestidos por células se transfieren a un tubo cónico de 50 ml y se resuspenden en 380 μ L de D-PBS. Los geles de colágeno se preparan agregando 71,4 μ L de glóbulos revestidos por células en 2,8 ml de una solución de matriz que consiste de 3 mg/ml de colágeno en medios M199 complementados con 0,005 N NaOH, 20 mM HEPES, y 26 mM NaHCO_3 . Trescientos cincuenta microlitros de glóbulos se dispensan en un pocillo de una placa para cultivo de tejidos de 24 pocillos y permiten que la matriz se solidifique durante 1 hora a 37 °C/5 % CO_2 . Se agrega un ml de medio EGM con o sin VEGF (10 ng/ml) o R15E6 (7,5 μ g/ml) por pocillo y se regresa al incubador. Después de 48 horas, un observador ciego visualiza la proliferación con un microscopio invertido de contraste de fase y observa 50 glóbulos por pocillo, en pocillos triplicados, para la presencia de proliferación de células endoteliales. Los resultados se expresan como el número de proliferaciones por glóbulo.

Resultados: Consistente con los resultados de los otros ensayos, el R15E6 además aumenta los valores iniciales y la morfogénesis capilar mediada por VEGF en el ensayo de proliferaciones de glóbulos endoteliales (Figura 6).

Ejemplo 5. El epítipo de unión para R15E6 está en la repetición del terminal N FN3 del dominio extracelular humano HTPB.

10 A. El análisis por Western blot de los mutantes de truncación del terminal c recombinante y las proteínas quimeras humanas/de ratón muestran que el epítipo de unión R15E6 está en la repetición del terminal N FN3 del dominio extracelular HTPB.

15 Métodos: Las células HEK293 se transfectan con los vectores de expresión que codifican al mutante de truncación HTPB indicado o a la quimera humana/de ratón. Las células transfectadas luego se incuban en OptiMEM durante 24 horas adicionales después de las
20 cuales los medios condicionados que contienen el dominio extracelular HTPB indicado son recolectados y almacenados para uso futuro o para ser usado inmediatamente por western blot o estudios ECL (ver más abajo). Para el análisis por western blot, se resuelven
25 20 µL medios condicionados que contienen la proteína HTPB indicada o no contienen proteína recombinante

(Mock, empty vector transfected (simulado, vector transfected vacíos)) mediante PAGE, transferido a una membrana PVDF y probado con R15E6.

Resultados: Mediante el análisis por western blot, el R15E6 liga a todos los mutantes de supresión de terminal C HTPB β (Figura 7A) indicando que el epítipo de unión está dentro de las dos primeras repeticiones N-terminal FN3. R15E6 no puede ligar el dominio extracelular de murina HTPB β (sec. con núm. de ident. 7) demostrando especificidad para la proteína humana (Figura 7B Pasaje 6 versus Pasaje 2). Reemplazando las murinas 1° y 1° y las repeticiones 2° N-terminal FN3 con el aglutinante R15E6 restaurado por las secuencias humanas (Figura 7B Pasajes 3 y 5). Inversamente, el reemplazo solo de la 2° repetición FN3 de murina con la secuencia humana no puede restaurar la aglutinación. (Figura 7B Pasaje 4). Juntos, estos hallazgos localizan el epítipo de unión de R15E6 con la repetición N-terminal FN3 (~100 aminoácidos) de HTPB β humano.

B. El análisis ECL (electroquimioluminiscente) de los mutantes de truncación del terminal y las proteínas quimeras humanas/de ratón confirman que el epítipo de unión R15E6 está en la repetición del N-terminal FN3 del dominio extracelular HTPB β .

Métodos: Los sobrenadantes que contienen la proteínas HPTP β indicadas son recubiertas en una placa de 96 pocillos MSD (Meso Scale Discovery) de alta capacidad de unión, se dejan secar, y se bloquean con 3 % BSA durante 1 hora. La proteína luego se incuba con el anticuerpo R15E6 monoclonal o el fragmento R15E6 Fab (10 nM o 1,5 μ g/ml) durante 1 hora, enjuagado, e incubado con anticuerpo de cabra anti-ratón con una etiqueta MSD-Tag (10 nM) durante 1 hora. El anticuerpo excedente se enjuaga y se agrega tampón de lectura MSD. La emisión de la luz se mide usando el lector Sector 2400 (MSD). MSD utiliza la detección electroquimioluminescente para detectar los casos de unión en series estructuradas. La tecnología Meso Scale Discovery (MSD) usa propiedad MULTI-ARRAY™ y microplacas MULTI-SPOT™ con electrodos integrados en la parte inferior de la placa. Los electrodos MSD se fabrican de carbono y los reactivos biológicos pueden unirse al carbono simplemente mediante absorción pasiva y retienen un alto nivel de actividad biológica. Los ensayos MSD usan etiquetas electroquimioluminiscentes para detección ultrasensible. Estas etiquetas electroquimioluminiscentes emiten luz cuando se estimulan electromecánicamente. El proceso de detección se inicia en los electrodos incorporados ubicados en la parte inferior de las microplacas MSD y solo las

etiquetas cercanas a los electrodos se estimulan y la luz se detecta a 620 nm.

Resultados: Consistente con los estudios por western blot, el R15E6 liga todas las proteínas de truncación terminal C HPTP β mediante el análisis MSD (Figura 8A). También consistente con el análisis por western blot, el R15E6 no puede ligar el dominio extracelular HPTP β de murina pero la unión se restaura reemplazando la repetición N-terminal FN3 de murina con el dominio humano N-terminal FN3 (Figura 8B). Estos datos confirman que el epítipo de unión de R15E6 está en la repetición N-terminal FN3 de HPTP β humano. Como era sabido, el epítipo de unión del fragmento Fab R15E6 monovalente podría además ser mapeado en la mayoría de la repetición FN3 del N-terminal del HPTP β humano (Figura 9).

Ejemplo 6. Un fragmento Fab R15E6 monovalente bloquea la activación Tie2 mediada e inhibe la subsistencia de las células endoteliales y la migración.

20

Métodos: La activación Tie2 y la subsistencia de las células endoteliales y los ensayos de migración se realizan de acuerdo a la descripción anteriormente mencionada en el Ejemplo 4. El fragmento Fab R15E6 monovalente se prepara como se describió previamente. El R15E6 purificado se dializa en 0,1 M de Tris-HCL, pH

8,0, conteniendo 2 mM de EDTA y 1 mM de Ditiotreitól. La papaína (Pierce) en 1-2 mg/ml se activa en el tampón mencionado anteriormente durante 15 minutos a 37 °C. El R15E6 a 10 mg/ml se incuba con papaína en el mismo
5 tampón usando una enzima: relación del sustrato de 1:100, durante 1 hora a 37 °C. La digestión termina por la adición de iodoacetamida (concentración final 20 mM, y mantenida en hielo durante 1 hora, protegida de la luz. El material digerido de papaína se dializa durante
10 la noche contra salina tamponada con fosfato, para eliminar la iodoacetamida. El alcance de la digestión se monitorea mediante SDS-PAGE con la desaparición de la cadena pesada del tipo gamma (MW 9,1329E-17E g (55,000 kDa)) y la aparición del fragmento Fc del tipo
15 gamma (MW 4,4834E-17 g (27,000 kDa)) y cadenas de luz (MW 3,6532E-17 g (22,000-25,000 kDa)).

Resultados: A diferencia del anticuerpo R15E6 intacto, los fragmentos Fab no pueden aumentar la activación de Tie2 (Figura 10). Además, en la presencia
20 de fragmento Fab excedente, se bloquea la activación de Tie-2 mediada por R15E6 (Figura 10). De forma sorprendente, el fragmento Fab R15E6 inhibe marcadamente la subsistencia de las células endoteliales comparado con un Fab de control (Figura
25 11A) y este efecto puede redimirse agregando el R15E6 intacto (Figura 11B). Consistente con el efecto

negativo en la subsistencia endotelial, el R15E6 Fab
además bloquea la migración de las células endoteliales
mediadas por VEGF (Figura 12). Estos hallazgos
demuestran que el R15E6 dímero intacto es necesario
5 para el aumento de la señalización angiogénica y que
los R15E6 monoméricos bloquean estas acciones y en
realidad tienen un efecto negativo en las repuestas de
las células endoteliales angiogénicas.

A menos que se indique de cualquier otra
10 forma, todas las cifras que incluyen cantidades,
porcentajes, porciones y proporciones están modificados
por la palabra "aproximadamente" y no pretenden indicar
dígitos significativos.

Excepto que se indique de otra forma, los
15 artículos "un", "uno(a)", y "el(la)" significa "uno(a) o
más".

Todos los documentos citados se consideran
incorporados en este documento en su parte relevante
como referencia. La mención de cualquier documento no
20 deberá interpretarse como una admisión de que éste
corresponde a una industria anterior con respecto a la
presente invención. En el grado en que cualquier
significado o definición de un término en este
documento escrito contradice cualquier significado o
25 definición del término en un documento incorporado como

referencia, el significado o definición asignado al término en este documento escrito deberá regir.

Aunque se han ilustrado y descrito modalidades específicas de la presente invención, será evidente
5 para aquellos con experiencia en la industria que pueden realizarse otros cambios y modificaciones sin apartarse del espíritu y alcance de la invención. Se ha pretendido, por consiguiente, cubrir en las reivindicaciones anexas todos los cambios y
10 modificaciones que están dentro del alcance de la invención.

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado o fragmento aglutinante de antígeno de éste, que liga la proteína humana tirosina fosfatasa beta (HPTP β), caracterizado porque el anticuerpo o fragmento aglutinante de antígeno de éste regula la angiogénesis.

2. Un anticuerpo de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado además porque el anticuerpo liga la porción N-terminal de HPTP β .

3. Un anticuerpo de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado además porque el anticuerpo liga la primera repetición FN3 de HPTP β .

4. Un anticuerpo de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado además porque la primera repetición FN3 de HPTP β tiene la secuencia como se indica en sec. con núm. de ident. 11, o un fragmento de éste.

5. Un anticuerpo de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado además porque el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.

6. Un anticuerpo monoclonal de conformidad con la reivindicación 5, producido por líneas celulares de hibridomas ATCC núm. PTA-7580 o un fragmento de un anticuerpo monoclonal de conformidad con la

reivindicación 5, producido por las líneas celulares de hibridomas ATCC núm. PTA-7580.

7. Un anticuerpo o un fragmento aglutinante de antígenos de conformidad con cualquier
5 reivindicación precedente, caracterizado además porque el anticuerpo o el fragmento aglutinante de antígenos se humaniza.

8. Un anticuerpo de conformidad con la reivindicación 6, el cual comprende regiones
10 aglutinantes de antígenos del anticuerpo monoclonal R15E6 y se humaniza.

9. Un fragmento aglutinante de antígenos de un anticuerpo de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado además porque el fragmento comprende
15 regiones variables de cadena liviana y pesada.

10. Un fragmento aglutinante de antígenos de un anticuerpo de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado además porque el fragmento aglutinante de antígenos se selecciona del grupo que comprende un
20 fragmento Fv, un fragmento Fab, un fragmento Fab', y un fragmento F(ab')₂.

11. El uso de un anticuerpo o fragmento aglutinante de antígeno de éste, que liga HPTPbeta y regula la angiogénesis en la fabricación de un
25 medicamento para uso en tratamiento de un trastorno regulado por angiogénesis.

12. Un uso de conformidad con la reivindicación 11, caracterizado además porque el trastorno regulado por angiogénesis es un trastorno elevado de angiogénesis seleccionado de la rinopatía diabética, degeneración macular, cáncer, anemia falciforme, sarcoma, sífilis, pseudoxanthoma elasticum, enfermedad de Paget, oclusión venosa, oclusión arterial, enfermedad obstructiva de la carótida, inflamación crónica de la úvea/vitritis, infecciones micobacterianas, enfermedad de Lyme, lupus eritematoso sistémico, retinopatía de la prematuridad, enfermedad de Eales, enfermedad de Behcet, infecciones que provocan retinitis o coroiditis, histoplasmosis ocular presunta, enfermedad de Best, miopía, foveas papilares, enfermedad de Stargardt, pars planitis, desprendimiento crónico de la retina, síndrome de hiperviscosidad, toxoplasmosis, trauma y complicaciones post-láser, enfermedades asociadas con la rubeosis, y vitreoretinopatía proliferativa.

13. Un uso de conformidad con la reivindicación 11, caracterizado además porque el trastorno regulado por angiogénesis es un trastorno elevado de la angiogénesis seleccionado de enfermedades de inflamación intestinal incluyendo la enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, psoriasis, sarcoidosis, artritis reumatoidea, hemangiomas, enfermedad de Osler-

Weber-Rendu, o telangiectasia hemorrágica hereditaria, y tumores de transmisión sanguínea o sólidos y síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

14. Un uso de conformidad con la
5 reivindicación 11, caracterizado además porque el trastorno regulado por angiogénesis es un trastorno de la angiogénesis reducida seleccionado del músculo del esqueleto y la isquemia del miocardio, ataque cardíaco, trastorno de la arteria coronaria, trastorno vascular
10 periférico, y el trastorno de la arteria coronaria, preferentemente, caracterizado además porque el trastorno de la angiogénesis reducida es un trastorno vascular periférico o trastorno de la arteria coronaria.

15 15. El anticuerpo monoclonal R15E6.

16. Un anticuerpo que tiene las mismas, o sustancialmente las mismas características del anticuerpo monoclonal R15E6.

17. Una composición farmacéutica que
20 comprende:

- a. un anticuerpo o un fragmento de éste de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1, 6, 7, 8, 15, ó 16; y
- b. un portador farmacéuticamente aceptable

RESUMEN DE LA INVENCION

Anticuerpos y sus fragmentos aglutinante de
antígenos que ligan la proteína tirosina fosfatasa
5 humana β (HPTP β), y sus usos.

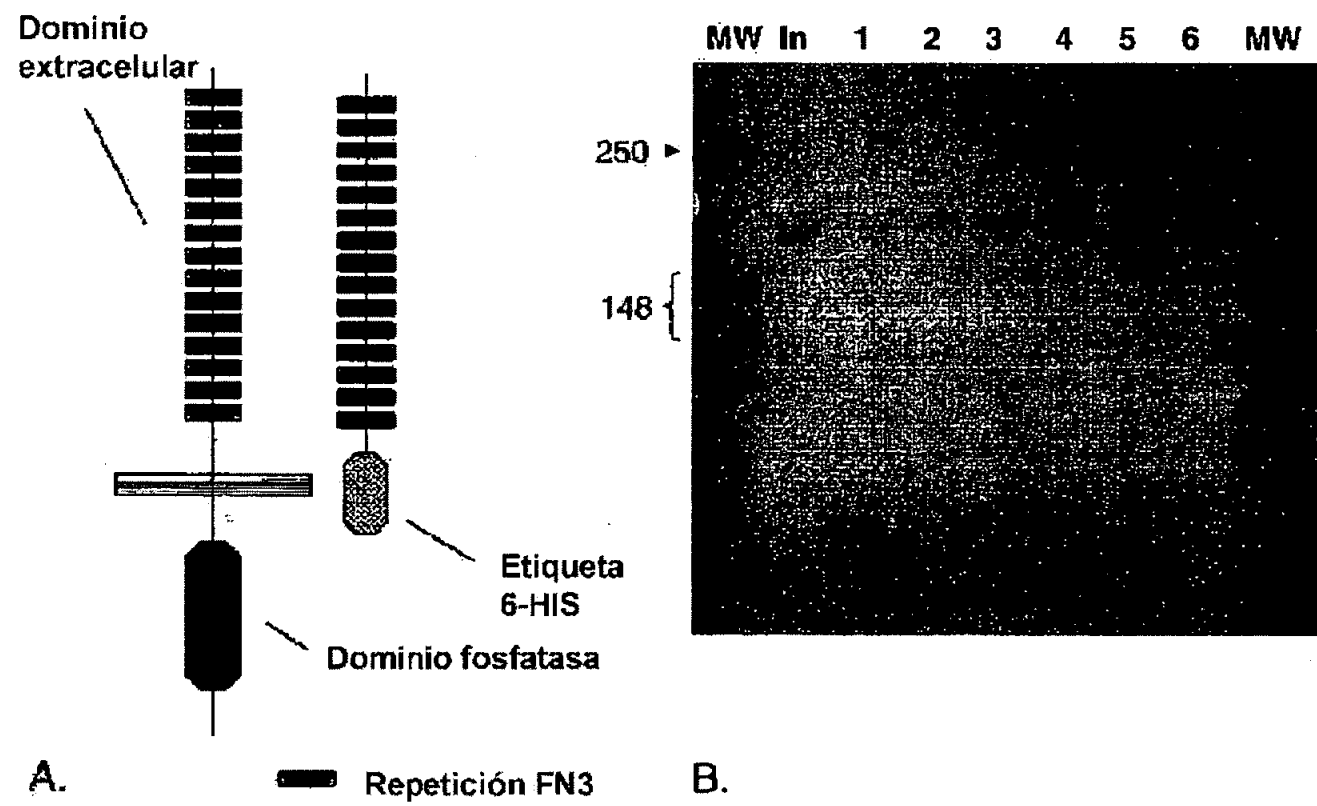
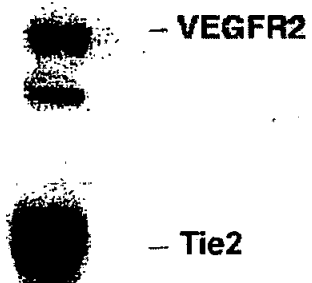


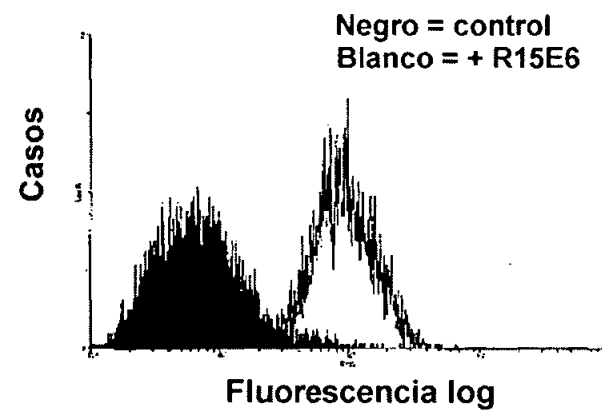
Figura 1.

Anticuerpo IP: Control R15E6 VEGFR2/Tie-2

HPTPβ -



A.



B.

Figura 2.

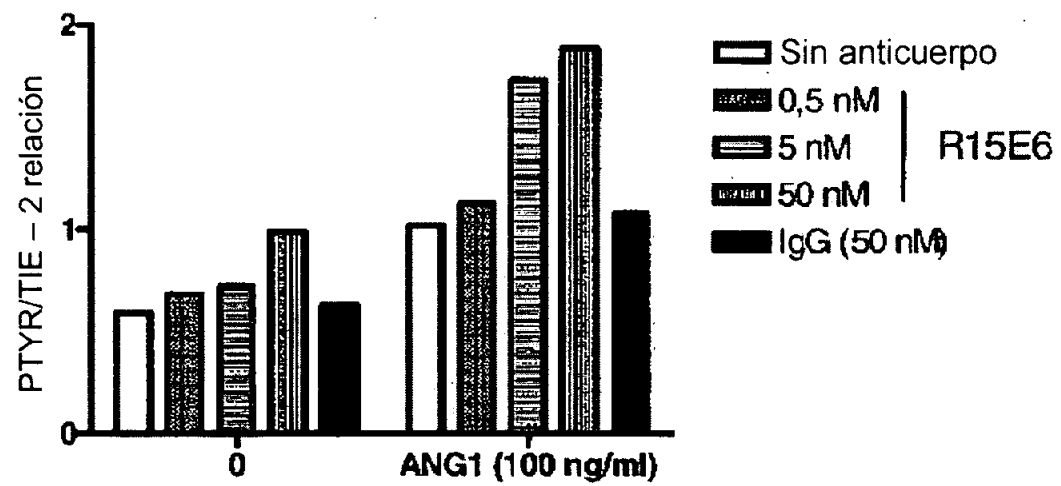
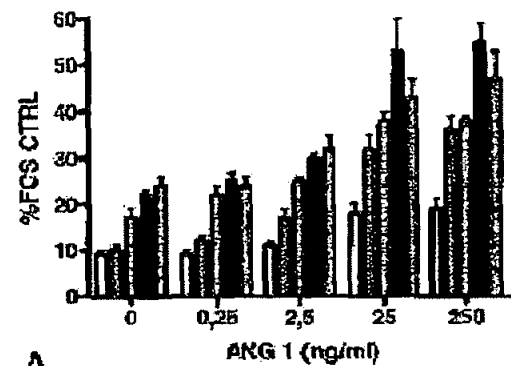
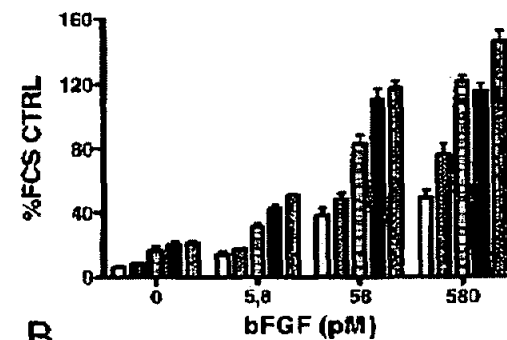


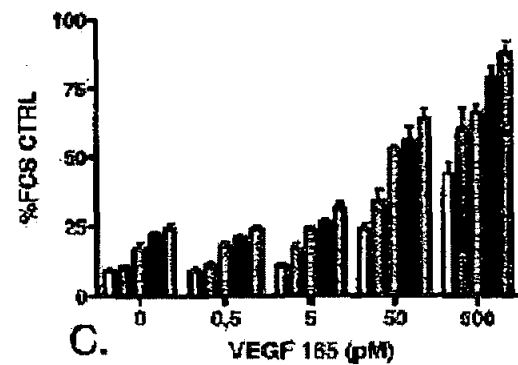
Figura 3.



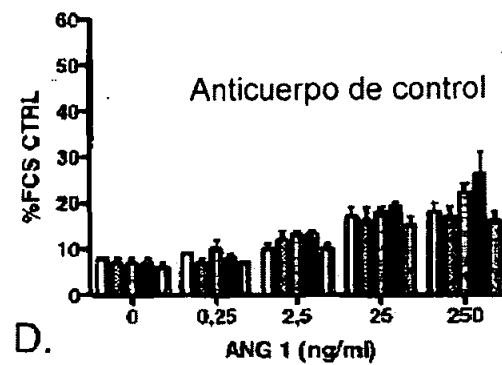
A.



B.



C.



D.

Figura 4.

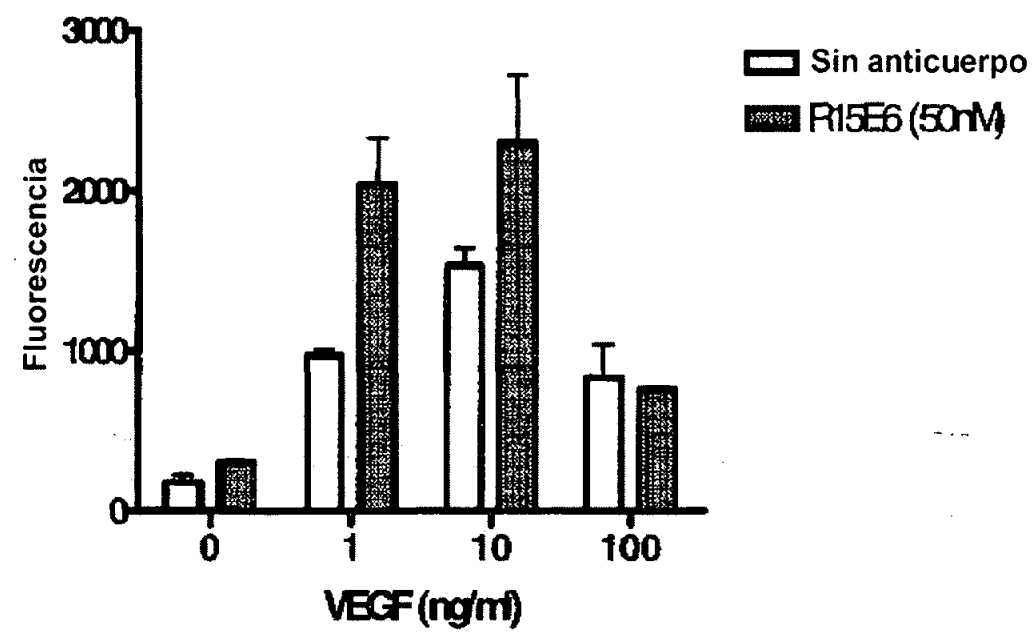


Figura 5.

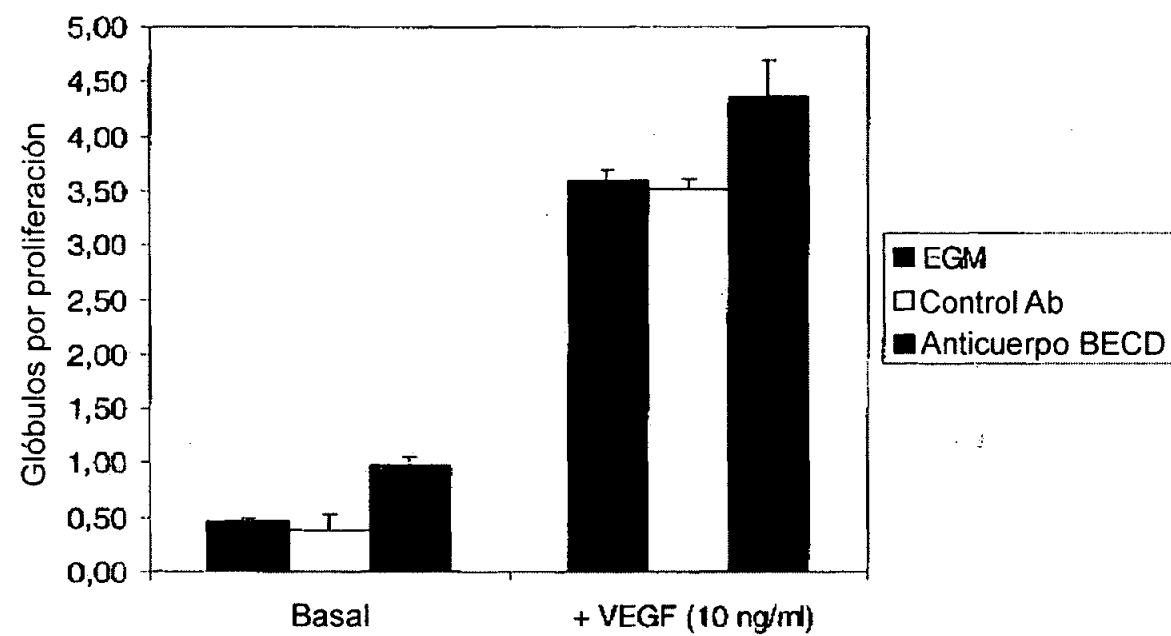


Figura 6.

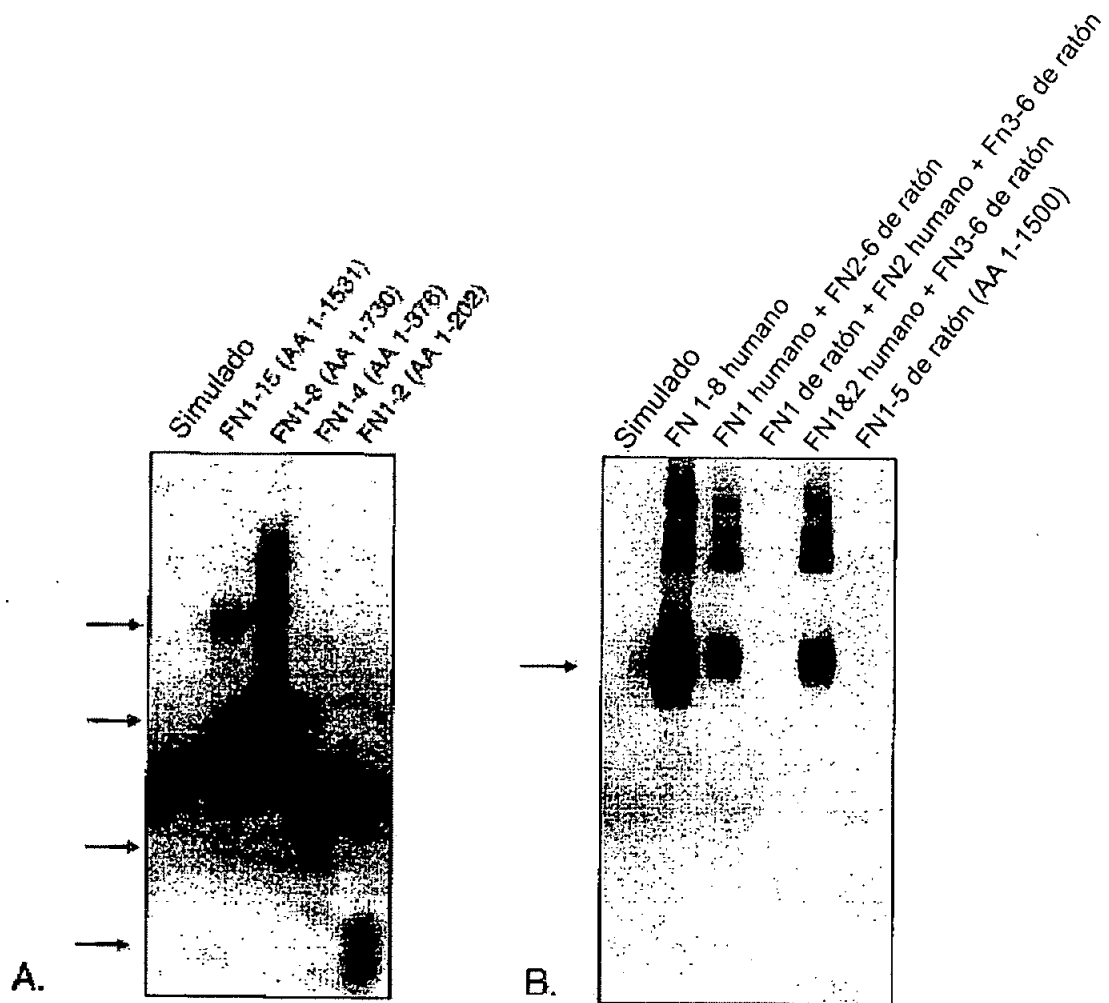


Figura 7.

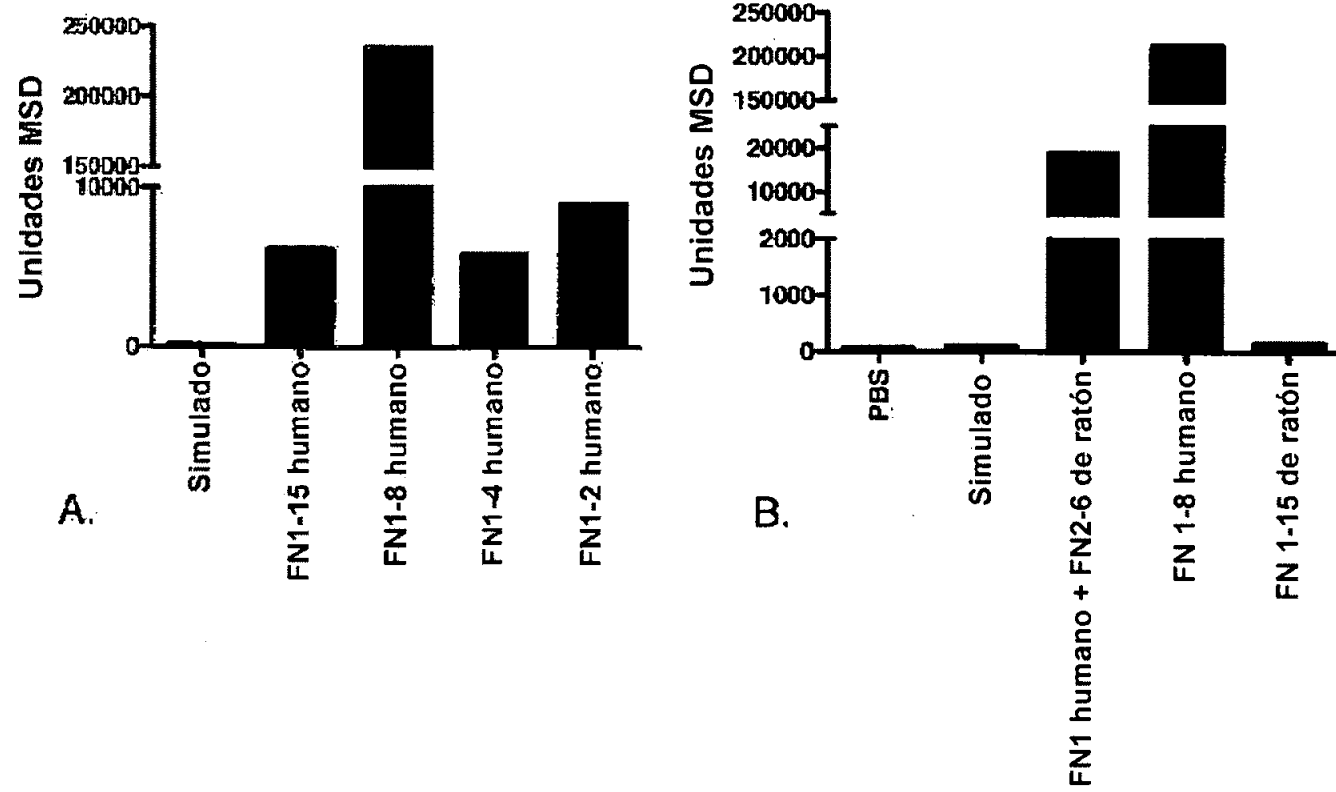


Figura 8.

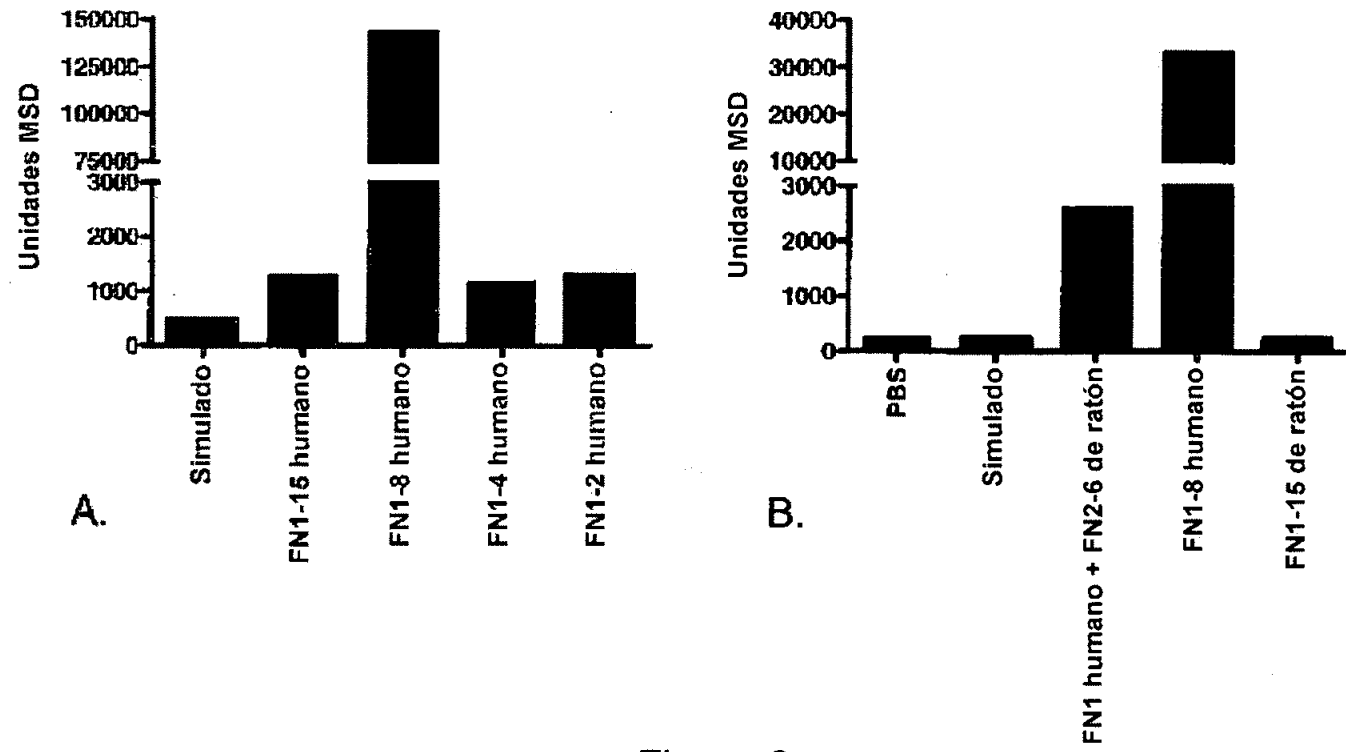


Figura 9.

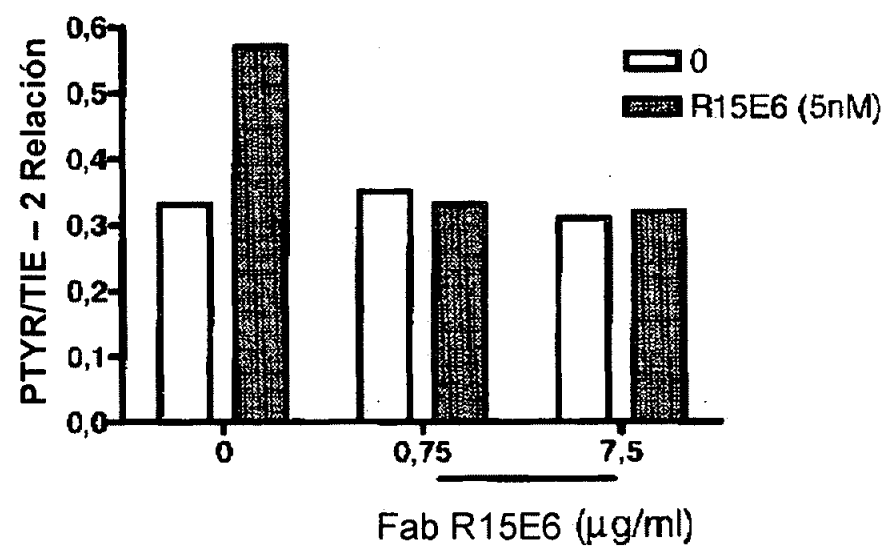


Figura 10.

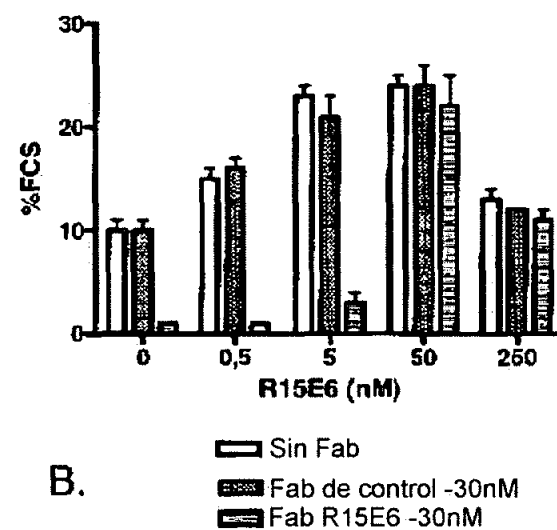
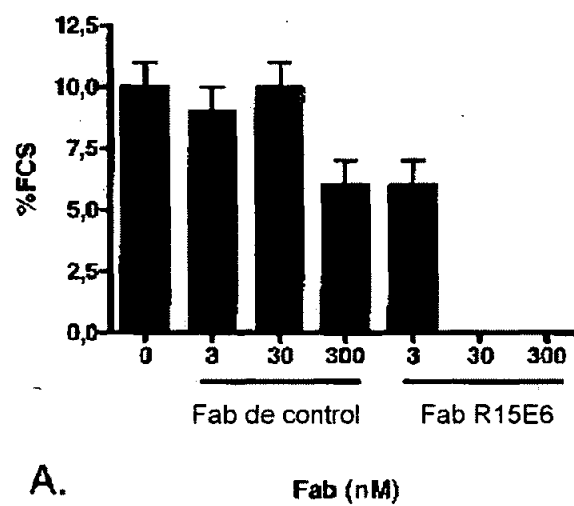


Figura 11.

12/12

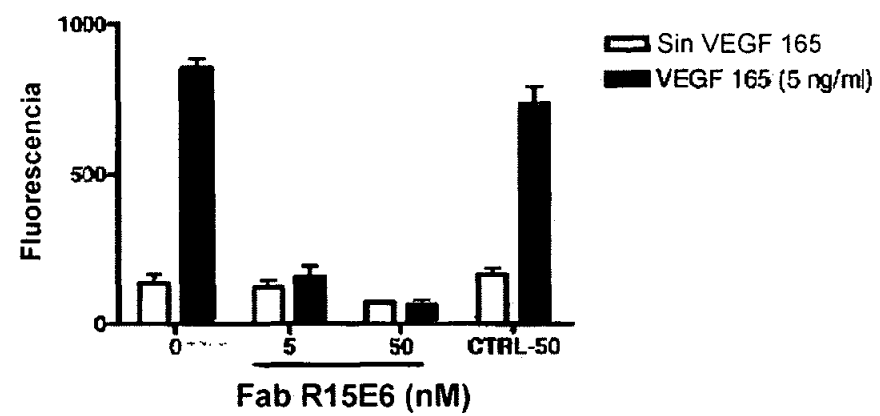


Figura 12.

40205

40217

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> The Procter & Gamble Company
 Rotello, Rocco J
 Peters, Kevin G
 Davis, Michael G

<120> Anticuerpos que ligan proteína tirosina fosfatasa humana beta (HPTPBETA) y los usos de estos

<130> 10365P2

<140> Not Yet Assigned

<141> 2006-05-09

<160> 11

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1
 <211> 4623
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(4623)

<400> 1
 atg ctg agc cat gga gcc ggg ttg gcc ttg tgg atc aca ctg agc ctg 48
 Met Leu Ser His Gly Ala Gly Leu Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Leu
 1 5 10 15
 ctg cag act gga ctg gcg gag cca gag aga tgt aac ttc acc ctg gcg 96
 Leu Gln Thr Gly Leu Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala
 20 25 30
 gag tcc aag gcc tcc agc cat tct gtg tct atc cag tgg aga att ttg 144
 Glu Ser Lys Ala Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu
 35 40 45
 ggc tca ccc tgt aac ttt agc ctc atc tat agc agt gac acc ctg ggg 192
 Gly Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly
 50 55 60
 gcc gcg ttg tgc cct acc ttt cgg ata gac aac acc aca tac gga tgt 240

Ala Ala Leu Cys Pro Thr Phe Arg Ile Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys
65 70 75 80

aac ctt caa gat tta caa gca gga acc atc tat aac ttc aag att att 288
Asn Leu Gln Asp Leu Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Lys Ile Ile
85 90 95

tct ctg gat gaa gag aga act gtg gtc ttg caa aca gat cct tta cct 336
Ser Leu Asp Glu Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu Pro
100 105 110

cct gct agg ttt gga gtc agt aaa gag aag acg act tca acc ggc ttg 384
Pro Ala Arg Phe Gly Val Ser Lys Glu Lys Thr Thr Ser Thr Gly Leu
115 120 125

cat gtt tgg tgg act cct tct tcc gga aaa gtc acc tca tat gag gtg 432
His Val Trp Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Thr Ser Tyr Glu Val
130 135 140

caa tta ttt gat gaa aat aac caa aag ata cag ggg gtt caa att caa 480
Gln Leu Phe Asp Glu Asn Asn Gln Lys Ile Gln Gly Val Gln Ile Gln
145 150 155 160

gaa agt act tca tgg aat gaa tac act ttt ttc aat ctc act gct ggt 528
Glu Ser Thr Ser Trp Asn Glu Tyr Thr Phe Phe Asn Leu Thr Ala Gly
165 170 175

agt aaa tac aat att gcc atc aca gct gtt tct gga gga aaa cgt tct 576
Ser Lys Tyr Asn Ile Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Gly Lys Arg Ser
180 185 190

ttt tca gtt tat acc aat gga tca aca gtg cca tct cca gtg aaa gat 624
Phe Ser Val Tyr Thr Asn Gly Ser Thr Val Pro Ser Pro Val Lys Asp
195 200 205

att ggt att tcc aca aaa gcc aat tct ctc ctg att tcc tgg tcc cat 672
Ile Gly Ile Ser Thr Lys Ala Asn Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser His
210 215 220

ggt tct ggg aat gtg gaa cga tac cgg ctg atg cta atg gat aaa ggg 720
Gly Ser Gly Asn Val Glu Arg Tyr Arg Leu Met Leu Met Asp Lys Gly
225 230 235 240

atc cta gtt cat ggc ggt gtt gtg gac aaa cat gct act tcc tat gct 768
Ile Leu Val His Gly Gly Val Val Asp Lys His Ala Thr Ser Tyr Ala
245 250 255

ttt cac ggg ctg acc cct ggc tac ctc tac aac ctc act gtt atg act 816
Phe His Gly Leu Thr Pro Gly Tyr Leu Tyr Asn Leu Thr Val Met Thr
260 265 270

gag gct gca ggg ctg caa aac tac agg tgg aaa cta gtc agg aca gcc 864
Glu Ala Ala Gly Leu Gln Asn Tyr Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr Ala
275 280 285

ccc atg gaa gtc tca aat ctg aag gtg aca aat gat ggc agt ttg acc 912
Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Ser Leu Thr
290 295 300

tct cta aaa gtc aaa tgg caa aga cct cct gga aat gtg gat tct tac 960
Ser Leu Lys Val Lys Trp Gln Arg Pro Pro Gly Asn Val Asp Ser Tyr
305 310 315 320

aat atc acc ctg tct cac aaa ggg acc atc aag gaa tcc aga gta tta 1008
Asn Ile Thr Leu Ser His Lys Gly Thr Ile Lys Glu Ser Arg Val Leu
325 330 335

gca cct tgg att act gaa act cac ttt aaa gag tta gtc ccc ggt cga 1056
Ala Pro Trp Ile Thr Glu Thr His Phe Lys Glu Leu Val Pro Gly Arg
340 345 350

ctt tat caa gtt act gtc agc tgt gtc tct ggt gaa ctg tct gct cag 1104
Leu Tyr Gln Val Thr Val Ser Cys Val Ser Gly Glu Leu Ser Ala Gln
355 360 365

aag atg gca gtg ggc aga aca ttc ccc ctg gct gtc ctc cag ctt cgt 1152
Lys Met Ala Val Gly Arg Thr Phe Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg
370 375 380

gtc aaa cat gcc aat gaa acc tca ctg agt atc atg tgg cag acc cct 1200
Val Lys His Ala Asn Glu Thr Ser Leu Ser Ile Met Trp Gln Thr Pro
385 390 395 400

gta gca gaa tgg gag aaa tac atc att tcc cta gct gac aga gac ctc 1248
Val Ala Glu Trp Glu Lys Tyr Ile Ile Ser Leu Ala Asp Arg Asp Leu
405 410 415

tta ctg atc cac aag tca ctc tcc aaa gat gcc aaa gaa ttc act ttt 1296
Leu Leu Ile His Lys Ser Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe
420 425 430

act gac ctg gtg cct gga cga aaa tac atg gct aca gtc acc agt att 1344
Thr Asp Leu Val Pro Gly Arg Lys Tyr Met Ala Thr Val Thr Ser Ile
435 440 445

agt gga gac tta aaa aat tcc tct tca gta aaa gga aga aca gtg cct 1392
Ser Gly Asp Leu Lys Asn Ser Ser Ser Val Lys Gly Arg Thr Val Pro
450 455 460

gcc caa gtg act gac ttg cat gtg gcc aac caa gga atg acc agt agt 1440
Ala Gln Val Thr Asp Leu His Val Ala Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser
465 470 475 480

ctg ttt act aac tgg acc cag gca caa gga gac gta gaa ttt tac caa 1488
Leu Phe Thr Asn Trp Thr Gln Ala Gln Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln
485 490 495

gtc tta ctg atc cat gaa aat gtg gtc att aaa aat gaa agc atc tcc 1536
Val Leu Leu Ile His Glu Asn Val Val Ile Lys Asn Glu Ser Ile Ser
500 505 510

agt gag acc agc aga tac agc ttc cac tct ctc aag tcc ggc agc ctg 1584
Ser Glu Thr Ser Arg Tyr Ser Phe His Ser Leu Lys Ser Gly Ser Leu
515 520 525

tac tcc gtg gtg gta aca aca gtg agt gga ggg atc tct tcc cga caa 1632
Tyr Ser Val Val Val Thr Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln
530 535 540

gtg gtt gtg gag gga aga aca gtc cct tcc agt gtg agt gga gta acg 1680
Val Val Val Glu Gly Arg Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr
545 550 555 560

gtg aac aat tcc ggt cgt aat gac tac ctc agc gtt tcc tgg ctg ctg 1728
Val Asn Asn Ser Gly Arg Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Leu
565 570 575

gcg ccc gga gat gtg gat aac tat gag gta aca ttg tct cat gac ggc 1776
Ala Pro Gly Asp Val Asp Asn Tyr Glu Val Thr Leu Ser His Asp Gly
580 585 590

aag gtg gtt cag tcc ctt gtc att gcc aag tct gtc aga gaa tgt tcc 1824
Lys Val Val Gln Ser Leu Val Ile Ala Lys Ser Val Arg Glu Cys Ser
595 600 605

ttc agc tcc ctc acc cca ggc cgc ctc tac acc gtg acc ata act aca 1872
Phe Ser Ser Leu Thr Pro Gly Arg Leu Tyr Thr Val Thr Ile Thr Thr
610 615 620

agg agt ggc aag tat gaa aat cac tcc ttc agc caa gag cgg aca gtg 1920
Arg Ser Gly Lys Tyr Glu Asn His Ser Phe Ser Gln Glu Arg Thr Val

625 630 635 640
 cct gac aaa gtc cag gga gtc agt gtt agc aac tca gcc agg agt gac 1968
 Pro Asp Lys Val Gln Gly Val Ser Val Ser Asn Ser Ala Arg Ser Asp
 645 650 655
 tat tta agg gta tcc tgg gtg cat gcc act gga gac ttt gat cac tat 2016
 Tyr Leu Arg Val Ser Trp Val His Ala Thr Gly Asp Phe Asp His Tyr
 660 665 670
 gaa gtc acc att aaa aac aaa aac aac ttc att caa act aaa agc att 2064
 Glu Val Thr Ile Lys Asn Lys Asn Asn Phe Ile Gln Thr Lys Ser Ile
 675 680 685
 ccc aag tca gaa aac gaa tgt gta ttt gtt cag cta gtc cct gga cgg 2112
 Pro Lys Ser Glu Asn Glu Cys Val Phe Val Gln Leu Val Pro Gly Arg
 690 695 700
 ttg tac agt gtc act gtt act aca aaa agt gga caa tat gaa gcc aat 2160
 Leu Tyr Ser Val Thr Val Thr Thr Lys Ser Gly Gln Tyr Glu Ala Asn
 705 710 715 720
 gaa caa ggg aat ggg aga aca att cca gag cct gtt aag gat cta aca 2208
 Glu Gln Gly Asn Gly Arg Thr Ile Pro Glu Pro Val Lys Asp Leu Thr
 725 730 735
 ttg cgc aac agg agc act gag gac ttg cat gtg act tgg tca gga gct 2256
 Leu Arg Asn Arg Ser Thr Glu Asp Leu His Val Thr Trp Ser Gly Ala
 740 745 750
 aat ggg gat gtc gac caa tat gag atc cag ctg ctc ttc aat gac atg 2304
 Asn Gly Asp Val Asp Gln Tyr Glu Ile Gln Leu Leu Phe Asn Asp Met
 755 760 765
 aaa gta ttt cct cct ttt cac ctt gta aat acc gca acc gag tat cga 2352
 Lys Val Phe Pro Pro Phe His Leu Val Asn Thr Ala Thr Glu Tyr Arg
 770 775 780
 ttt act tcc cta aca cca ggc cgc caa tac aaa att ctt gtc ttg acg 2400
 Phe Thr Ser Leu Thr Pro Gly Arg Gln Tyr Lys Ile Leu Val Leu Thr
 785 790 795 800
 att agc ggg gat gta cag cag tca gcc ttc att gag ggc ttc aca gtt 2448
 Ile Ser Gly Asp Val Gln Gln Ser Ala Phe Ile Glu Gly Phe Thr Val
 805 810 815
 cct agt gct gtc aaa aat att cac att tct ccc aat gga gca aca gat 2496

Pro Ser Ala Val Lys Asn Ile His Ile Ser Pro Asn Gly Ala Thr Asp
 820 825 830

agc ctg acg gtg aac tgg act cct ggt ggg gga gac gtt gat tcc tac 2544
 Ser Leu Thr Val Asn Trp Thr Pro Gly Gly Gly Asp Val Asp Ser Tyr
 835 840 845

acg gtg tgg gca ttc agg cac agt caa aag gtt gac tct cag act att 2592
 Thr Val Ser Ala Phe Arg His Ser Gln Lys Val Asp Ser Gln Thr Ile
 850 855 860

ccc aag cac gtc ttt gag cac acg ttc cac aga ctg gag gcc ggg gag 2640
 Pro Lys His Val Phe Glu His Thr Phe His Arg Leu Glu Ala Gly Glu
 865 870 875 880

cag tac cag atc atg att gcc tca gtc agc ggg tcc ctg aag aat cag 2688
 Gln Tyr Gln Ile Met Ile Ala Ser Val Ser Gly Ser Leu Lys Asn Gln
 885 890 895

ata aat gtg gtt ggg cgg aca gtt cca gca tct gtc caa gga gta att 2736
 Ile Asn Val Val Gly Arg Thr Val Pro Ala Ser Val Gln Gly Val Ile
 900 905 910

gca gac aat gca tac agc agt tat tcc tta ata gta agt tgg caa aaa 2784
 Ala Asp Asn Ala Tyr Ser Ser Tyr Ser Leu Ile Val Ser Trp Gln Lys
 915 920 925

gct gct ggt gtg gca gaa aga tat gat atc ctg ctt cta act gaa aat 2832
 Ala Ala Gly Val Ala Glu Arg Tyr Asp Ile Leu Leu Leu Thr Glu Asn
 930 935 940

gga atc ctt ctg cgc aac aca tca gag cca gcc acc act aag caa cac 2880
 Gly Ile Leu Leu Arg Asn Thr Ser Glu Pro Ala Thr Thr Lys Gln His
 945 950 955 960

aaa ttt gaa gat cta aca cca ggc aag aaa tac aag ata cag atc cta 2928
 Lys Phe Glu Asp Leu Thr Pro Gly Lys Lys Tyr Lys Ile Gln Ile Leu
 965 970 975

act gtc agt gga ggc ctc ttt agc aag gaa gcc cag act gaa ggc cga 2976
 Thr Val Ser Gly Gly Leu Phe Ser Lys Glu Ala Gln Thr Glu Gly Arg
 980 985 990

aca gtc cca gca gct gtc acc gac ctg agg atc aca gag aac tcc acc 3024
 Thr Val Pro Ala Ala Val Thr Asp Leu Arg Ile Thr Glu Asn Ser Thr
 995 1000 1005

agg cac ctg tcc ttc cgc tgg acc gcc tca gag ggg gag ctc agc 3069
 Arg His Leu Ser Phe Arg Trp Thr Ala Ser Glu Gly Glu Leu Ser
 1010 1015 1020

tgg tac aac atc ttt ttg tac aac cca gat ggg aat ctc cag gag 3114
 Trp Tyr Asn Ile Phe Leu Tyr Asn Pro Asp Gly Asn Leu Gln Glu
 1025 1030 1035

aga gct caa gtt gac cca cta gtc cag agc ttc tct ttc cag aac 3159
 Arg Ala Gln Val Asp Pro Leu Val Gln Ser Phe Ser Phe Gln Asn
 1040 1045 1050

ttg cta caa ggc aga atg tac aag atg gtg att gta act cac agt 3204
 Leu Leu Gln Gly Arg Met Tyr Lys Met Val Ile Val Thr His Ser
 1055 1060 1065

ggg gag ctg tct aat gag tct ttc ata ttt ggt aga aca gtc cca 3249
 Gly Glu Leu Ser Asn Glu Ser Phe Ile Phe Gly Arg Thr Val Pro
 1070 1075 1080

gcc tct gtg agt cat ctc agg ggg tcc aat cgg aac acg aca gac 3294
 Ala Ser Val Ser His Leu Arg Gly Ser Asn Arg Asn Thr Thr Asp
 1085 1090 1095

agc ctt tgg ttc aac tgg agt cca gcc tct ggg gac ttt gac ttt 3339
 Ser Leu Trp Phe Asn Trp Ser Pro Ala Ser Gly Asp Phe Asp Phe
 1100 1105 1110

tat gag ctg att ctc tat aat ccc aat ggc aca aag aag gaa aac 3384
 Tyr Glu Leu Ile Leu Tyr Asn Pro Asn Gly Thr Lys Lys Glu Asn
 1115 1120 1125

tgg aaa gac aag gac ctg acg gag tgg cgg ttt caa ggc ctt gtt 3429
 Trp Lys Asp Lys Asp Leu Thr Glu Trp Arg Phe Gln Gly Leu Val
 1130 1135 1140

cct gga agg aag tac gtg ctg tgg gtg gta act cac agt gga gat 3474
 Pro Gly Arg Lys Tyr Val Leu Trp Val Val Thr His Ser Gly Asp
 1145 1150 1155

ctc agc aat aaa gtc aca gcg gag agc aga aca gct cca agt cct 3519
 Leu Ser Asn Lys Val Thr Ala Glu Ser Arg Thr Ala Pro Ser Pro
 1160 1165 1170

ccc agt ctt atg tca ttt gct gac att gca aac aca tcc ttg gcc 3564
 Pro Ser Leu Met Ser Phe Ala Asp Ile Ala Asn Thr Ser Leu Ala
 1175 1180 1185

atc acg tgg aaa ggg ccc cca gac tgg aca gac tac aac gac ttt 3609
 Ile Thr Trp Lys Gly Pro Pro Asp Trp Thr Asp Tyr Asn Asp Phe
 1190 1195 1200

gag ctg cag tgg ttg ccc aga gat gca ctt act gtc ttc aac ccc 3654
 Glu Leu Gln Trp Leu Pro Arg Asp Ala Leu Thr Val Phe Asn Pro
 1205 1210 1215

tac aac aac aga aaa tca gaa gga cgc att gtg tat ggt ctt cgt 3699
 Tyr Asn Asn Arg Lys Ser Glu Gly Arg Ile Val Tyr Gly Leu Arg
 1220 1225 1230

cca ggg aga tcc tat caa ttc aac gtc aag act gtc agt ggt gat 3744
 Pro Gly Arg Ser Tyr Gln Phe Asn Val Lys Thr Val Ser Gly Asp
 1235 1240 1245

tcc tgg aaa act tac agc aaa cca att ttt gga tct gtg agg aca 3789
 Ser Trp Lys Thr Tyr Ser Lys Pro Ile Phe Gly Ser Val Arg Thr
 1250 1255 1260

aag cct gac aag ata caa aac ctg cat tgc cgg cct cag aac tcc 3834
 Lys Pro Asp Lys Ile Gln Asn Leu His Cys Arg Pro Gln Asn Ser
 1265 1270 1275

acg gcc att gcc tgt tct tgg atc cct cct gat tct gac ttt gat 3879
 Thr Ala Ile Ala Cys Ser Trp Ile Pro Pro Asp Ser Asp Phe Asp
 1280 1285 1290

ggt tat agt att gaa tgc cgg aaa atg gac acc caa gaa gtt gag 3924
 Gly Tyr Ser Ile Glu Cys Arg Lys Met Asp Thr Gln Glu Val Glu
 1295 1300 1305

ttt tcc aga aag ctg gag aaa gaa aaa tct ctg ctc aac atc atg 3969
 Phe Ser Arg Lys Leu Glu Lys Glu Lys Ser Leu Leu Asn Ile Met
 1310 1315 1320

atg cta gtg ccc cat aag agg tac ctg gtg tcc atc aaa gtg cag 4014
 Met Leu Val Pro His Lys Arg Tyr Leu Val Ser Ile Lys Val Gln
 1325 1330 1335

tcg gcc ggc atg acc agc gag gtg gtt gaa gac agc act atc aca 4059
 Ser Ala Gly Met Thr Ser Glu Val Val Glu Asp Ser Thr Ile Thr
 1340 1345 1350

atg ata gac cgc ccc cct cct cca ccc cca cac att cgt gtg aat 4104
 Met Ile Asp Arg Pro Pro Pro Pro Pro Pro His Ile Arg Val Asn

1355 1360 1365
 gaa aag gat gtg cta att agc aag tct tcc atc aac ttt act gtc 4149
 Glu Lys Asp Val Leu Ile Ser Lys Ser Ser Ile Asn Phe Thr Val
 1370 1375 1380
 aac tgc agc tgg ttc agc gac acc aat gga gct gtg aaa tac ttc 4194
 Asn Cys Ser Trp Phe Ser Asp Thr Asn Gly Ala Val Lys Tyr Phe
 1385 1390 1395
 aca gtg gtg gtg aga gag gct gat ggc agt gat gag ctg aag cca 4239
 Thr Val Val Val Arg Glu Ala Asp Gly Ser Asp Glu Leu Lys Pro
 1400 1405 1410
 gaa cag cag cac cct ctc cct tcc tac ctg gag tac agg cac aat 4284
 Glu Gln Gln His Pro Leu Pro Ser Tyr Leu Glu Tyr Arg His Asn
 1415 1420 1425
 gcc tcc att cgg gtg tat cag act aat tat ttt gcc agc aaa tgt 4329
 Ala Ser Ile Arg Val Tyr Gln Thr Asn Tyr Phe Ala Ser Lys Cys
 1430 1435 1440
 gcc gaa aat cct aac agc aac tcc aag agt ttt aac att aagctt 4374
 Ala Glu Asn Pro Asn Ser Asn Ser Lys Ser Phe Asn Ile Lys Leu
 1445 1450 1455
 gga gca gag atg gag agc cta ggt gga aaa tgc gat ccc act cag 4419
 Gly Ala Glu Met Glu Ser Leu Gly Gly Lys Cys Asp Pro Thr Gln
 1460 1465 1470
 caa aaa ttc tgt gat gga cca ctg aag cca cac act gcc tac aga 4464
 Gln Lys Phe Cys Asp Gly Pro Leu Lys Pro His Thr Ala Tyr Arg
 1475 1480 1485
 atc agc att cga gct ttt aca cag ctc ttt gat gag gac ctg aag 4509
 Ile Ser Ile Arg Ala Phe Thr Gln Leu Phe Asp Glu Asp Leu Lys
 1490 1495 1500
 gaa ttc aca aag cca ctc tat tca gac aca ttt ttt tct tta ccc 4554
 Glu Phe Thr Lys Pro Leu Tyr Ser Asp Thr Phe Phe Ser Leu Pro
 1505 1510 1515
 atc act act gaa tca gag ccc ttg ttt gga gct att gaa cgc ggc 4599
 Ile Thr Thr Glu Ser Glu Pro Leu Phe Gly Ala Ile Glu Arg Gly
 1520 1525 1530
 cgc cat cat cat cat cat cac gga 4623

Arg His His His His His Gly
1535 1540

<210> 2
<211> 1541
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Leu Ser His Gly Ala Gly Leu Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Leu
1 5 10 15

Leu Gln Thr Gly Leu Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala
20 25 30

Glu Ser Lys Ala Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu
35 40 45

Gly Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly
50 55 60

Ala Ala Leu Cys Pro Thr Phe Arg Ile Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys
65 70 75 80

Asn Leu Gln Asp Leu Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Lys Ile Ile
85 90 95

Ser Leu Asp Glu Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu Pro
100 105 110

Pro Ala Arg Phe Gly Val Ser Lys Glu Lys Thr Thr Ser Thr Gly Leu
115 120 125

His Val Trp Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Thr Ser Tyr Glu Val
130 135 140

Gln Leu Phe Asp Glu Asn Asn Gln Lys Ile Gln Gly Val Gln Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ser Thr Ser Trp Asn Glu Tyr Thr Phe Phe Asn Leu Thr Ala Gly
 165 170 175

Ser Lys Tyr Asn Ile Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Gly Lys Arg Ser
 180 185 190

Phe Ser Val Tyr Thr Asn Gly Ser Thr Val Pro Ser Pro Val Lys Asp
 195 200 205

Ile Gly Ile Ser Thr Lys Ala Asn Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser His
 210 215 220

Gly Ser Gly Asn Val Glu Arg Tyr Arg Leu Met Leu Met Asp Lys Gly
225 230 235 240

Ile Leu Val His Gly Gly Val Val Asp Lys His Ala Thr Ser Tyr Ala
 245 250 255

Phe His Gly Leu Thr Pro Gly Tyr Leu Tyr Asn Leu Thr Val Met Thr
 260 265 270

Glu Ala Ala Gly Leu Gln Asn Tyr Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr Ala
 275 280 285

Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Ser Leu Thr
 290 295 300

Ser Leu Lys Val Lys Trp Gln Arg Pro Pro Gly Asn Val Asp Ser Tyr
305 310 315 320

Asn Ile Thr Leu Ser His Lys Gly Thr Ile Lys Glu Ser Arg Val Leu
 325 330 335

Ala Pro Trp Ile Thr Glu Thr His Phe Lys Glu Leu Val Pro Gly Arg
340 345 350

Leu Tyr Gln Val Thr Val Ser Cys Val Ser Gly Glu Leu Ser Ala Gln
355 360 365

Lys Met Ala Val Gly Arg Thr Phe Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg
370 375 380

Val Lys His Ala Asn Glu Thr Ser Leu Ser Ile Met Trp Gln Thr Pro
385 390 395 400

Val Ala Glu Trp Glu Lys Tyr Ile Ile Ser Leu Ala Asp Arg Asp Leu
405 410 415

Leu Leu Ile His Lys Ser Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe
420 425 430

Thr Asp Leu Val Pro Gly Arg Lys Tyr Met Ala Thr Val Thr Ser Ile
435 440 445

Ser Gly Asp Leu Lys Asn Ser Ser Ser Val Lys Gly Arg Thr Val Pro
450 455 460

Ala Gln Val Thr Asp Leu His Val Ala Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser
465 470 475 480

Leu Phe Thr Asn Trp Thr Gln Ala Gln Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln
485 490 495

Val Leu Leu Ile His Glu Asn Val Val Ile Lys Asn Glu Ser Ile Ser
500 505 510

Ser Glu Thr Ser Arg Tyr Ser Phe His Ser Leu Lys Ser Gly Ser Leu
515 520 525

Tyr Ser Val Val Val Thr Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln
530 535 540

Val Val Val Glu Gly Arg Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr
545 550 555 560

Val Asn Asn Ser Gly Arg Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Leu
565 570 575

Ala Pro Gly Asp Val Asp Asn Tyr Glu Val Thr Leu Ser His Asp Gly
580 585 590

Lys Val Val Gln Ser Leu Val Ile Ala Lys Ser Val Arg Glu Cys Ser
595 600 605

Phe Ser Ser Leu Thr Pro Gly Arg Leu Tyr Thr Val Thr Ile Thr Thr
610 615 620

Arg Ser Gly Lys Tyr Glu Asn His Ser Phe Ser Gln Glu Arg Thr Val
625 630 635 640

Pro Asp Lys Val Gln Gly Val Ser Val Ser Asn Ser Ala Arg Ser Asp
645 650 655

Tyr Leu Arg Val Ser Trp Val His Ala Thr Gly Asp Phe Asp His Tyr
660 665 670

Glu Val Thr Ile Lys Asn Lys Asn Asn Phe Ile Gln Thr Lys Ser Ile
675 680 685

Pro Lys Ser Glu Asn Glu Cys Val Phe Val Gln Leu Val Pro Gly Arg
690 695 700

Leu Tyr Ser Val Thr Val Thr Thr Lys Ser Gly Gln Tyr Glu Ala Asn

705	710	715	720
Glu Gln Gly Asn Gly Arg Thr Ile Pro Glu Pro Val Lys Asp Leu Thr			
	725	730	735
Leu Arg Asn Arg Ser Thr Glu Asp Leu His Val Thr Trp Ser Gly Ala			
	740	745	750
Asn Gly Asp Val Asp Gln Tyr Glu Ile Gln Leu Leu Phe Asn Asp Met			
	755	760	765
Lys Val Phe Pro Pro Phe His Leu Val Asn Thr Ala Thr Glu Tyr Arg			
	770	775	780
Phe Thr Ser Leu Thr Pro Gly Arg Gln Tyr Lys Ile Leu Val Leu Thr			
	785	790	800
Ile Ser Gly Asp Val Gln Gln Ser Ala Phe Ile Glu Gly Phe Thr Val			
	805	810	815
Pro Ser Ala Val Lys Asn Ile His Ile Ser Pro Asn Gly Ala Thr Asp			
	820	825	830
Ser Leu Thr Val Asn Trp Thr Pro Gly Gly Gly Asp Val Asp Ser Tyr			
	835	840	845
Thr Val Ser Ala Phe Arg His Ser Gln Lys Val Asp Ser Gln Thr Ile			
	850	855	860
Pro Lys His Val Phe Glu His Thr Phe His Arg Leu Glu Ala Gly Glu			
	865	870	880
Gln Tyr Gln Ile Met Ile Ala Ser Val Ser Gly Ser Leu Lys Asn Gln			
	885	890	895

Ile Asn Val Val Gly Arg Thr Val Pro Ala Ser Val Gln Gly Val Ile
900 905 910

Ala Asp Asn Ala Tyr Ser Ser Tyr Ser Leu Ile Val Ser Trp Gln Lys
915 920 925

Ala Ala Gly Val Ala Glu Arg Tyr Asp Ile Leu Leu Leu Thr Glu Asn
930 935 940

Gly Ile Leu Leu Arg Asn Thr Ser Glu Pro Ala Thr Thr Lys Gln His
945 950 955 960

Lys Phe Glu Asp Leu Thr Pro Gly Lys Lys Tyr Lys Ile Gln Ile Leu
965 970 975

Thr Val Ser Gly Gly Leu Phe Ser Lys Glu Ala Gln Thr Glu Gly Arg
980 985 990

Thr Val Pro Ala Ala Val Thr Asp Leu Arg Ile Thr Glu Asn Ser Thr
995 1000 1005

Arg His Leu Ser Phe Arg Trp Thr Ala Ser Glu Gly Glu Leu Ser
1010 1015 1020

Trp Tyr Asn Ile Phe Leu Tyr Asn Pro Asp Gly Asn Leu Gln Glu
1025 1030 1035

Arg Ala Gln Val Asp Pro Leu Val Gln Ser Phe Ser Phe Gln Asn
1040 1045 1050

Leu Leu Gln Gly Arg Met Tyr Lys Met Val Ile Val Thr His Ser
1055 1060 1065

Gly Glu Leu Ser Asn Glu Ser Phe Ile Phe Gly Arg Thr Val Pro
1070 1075 1080

Ala Ser Val Ser His Leu Arg Gly Ser Asn Arg Asn Thr Thr Asp
1085 1090 1095

Ser Leu Trp Phe Asn Trp Ser Pro Ala Ser Gly Asp Phe Asp Phe
1100 1105 1110

Tyr Glu Leu Ile Leu Tyr Asn Pro Asn Gly Thr Lys Lys Glu Asn
1115 1120 1125

Trp Lys Asp Lys Asp Leu Thr Glu Trp Arg Phe Gln Gly Leu Val
1130 1135 1140

Pro Gly Arg Lys Tyr Val Leu Trp Val Val Thr His Ser Gly Asp
1145 1150 1155

Leu Ser Asn Lys Val Thr Ala Glu Ser Arg Thr Ala Pro Ser Pro
1160 1165 1170

Pro Ser Leu Met Ser Phe Ala Asp Ile Ala Asn Thr Ser Leu Ala
1175 1180 1185

Ile Thr Trp Lys Gly Pro Pro Asp Trp Thr Asp Tyr Asn Asp Phe
1190 1195 1200

Glu Leu Gln Trp Leu Pro Arg Asp Ala Leu Thr Val Phe Asn Pro
1205 1210 1215

Tyr Asn Asn Arg Lys Ser Glu Gly Arg Ile Val Tyr Gly Leu Arg
1220 1225 1230

Pro Gly Arg Ser Tyr Gln Phe Asn Val Lys Thr Val Ser Gly Asp
1235 1240 1245

Ser Trp Lys Thr Tyr Ser Lys Pro Ile Phe Gly Ser Val Arg Thr
1250 1255 1260

Lys Pro Asp Lys Ile Gln Asn Leu His Cys Arg Pro Gln Asn Ser
1265 1270 1275

Thr Ala Ile Ala Cys Ser Trp Ile Pro Pro Asp Ser Asp Phe Asp
1280 1285 1290

Gly Tyr Ser Ile Glu Cys Arg Lys Met Asp Thr Gln Glu Val Glu
1295 1300 1305

Phe Ser Arg Lys Leu Glu Lys Glu Lys Ser Leu Leu Asn Ile Met
1310 1315 1320

Met Leu Val Pro His Lys Arg Tyr Leu Val Ser Ile Lys Val Gln
1325 1330 1335

Ser Ala Gly Met Thr Ser Glu Val Val Glu Asp Ser Thr Ile Thr
1340 1345 1350

Met Ile Asp Arg Pro Pro Pro Pro Pro Pro His Ile Arg Val Asn
1355 1360 1365

Glu Lys Asp Val Leu Ile Ser Lys Ser Ser Ile Asn Phe Thr Val
1370 1375 1380

Asn Cys Ser Trp Phe Ser Asp Thr Asn Gly Ala Val Lys Tyr Phe
1385 1390 1395

Thr Val Val Val Arg Glu Ala Asp Gly Ser Asp Glu Leu Lys Pro
1400 1405 1410

Glu Gln Gln His Pro Leu Pro Ser Tyr Leu Glu Tyr Arg His Asn
1415 1420 1425

Ala Ser Ile Arg Val Tyr Gln Thr Asn Tyr Phe Ala Ser Lys Cys

1430 1435 1440

Ala Glu Asn Pro Asn Ser Asn Ser Lys Ser Phe Asn Ile Lys Leu
1445 1450 1455

Gly Ala Glu Met Glu Ser Leu Gly Gly Lys Cys Asp Pro Thr Gln
1460 1465 1470

Gln Lys Phe Cys Asp Gly Pro Leu Lys Pro His Thr Ala Tyr Arg
1475 1480 1485

Ile Ser Ile Arg Ala Phe Thr Gln Leu Phe Asp Glu Asp Leu Lys
1490 1495 1500

Glu Phe Thr Lys Pro Leu Tyr Ser Asp Thr Phe Phe Ser Leu Pro
1505 1510 1515

Ile Thr Thr Glu Ser Glu Pro Leu Phe Gly Ala Ile Glu Arg Gly
1520 1525 1530

Arg His His His His His His Gly
1535 1540

<210> 3
<211> 1621
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Leu Ser His Gly Ala Gly Leu Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Leu
1 5 10 15

Leu Gln Thr Gly Leu Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala
20 25 30

Glu Ser Lys Ala Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu

35 40 45

Gly Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly
50 55 60

Ala Ala Leu Cys Pro Thr Phe Arg Ile Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys
65 70 75 80

Asn Leu Gln Asp Leu Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Lys Ile Ile
85 90 95

Ser Leu Asp Glu Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu Pro
100 105 110

Pro Ala Arg Phe Gly Val Ser Lys Glu Lys Thr Thr Ser Thr Gly Leu
115 120 125

His Val Trp Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Thr Ser Tyr Glu Val
130 135 140

Gln Leu Phe Asp Glu Asn Asn Gln Lys Ile Gln Gly Val Gln Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ser Thr Ser Trp Asn Glu Tyr Thr Phe Phe Asn Leu Thr Ala Gly
165 170 175

Ser Lys Tyr Asn Ile Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Gly Lys Arg Ser
180 185 190

Phe Ser Val Tyr Thr Asn Gly Ser Thr Val Pro Ser Pro Val Lys Asp
195 200 205

Ile Gly Ile Ser Thr Lys Ala Asn Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser His
210 215 220

Gly Ser Gly Asn Val Glu Arg Tyr Arg Leu Met Leu Met Asp Lys Gly
225 230 235 240

Ile Leu Val His Gly Gly Val Val Asp Lys His Ala Thr Ser Tyr Ala
 245 250 255

Phe His Gly Leu Ser Pro Gly Tyr Leu Tyr Asn Leu Thr Val Met Thr
 260 265 270

Glu Ala Ala Gly Leu Gln Asn Tyr Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr Ala
 275 280 285

Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Ser Leu Thr
 290 295 300

Ser Leu Lys Val Lys Trp Gln Arg Pro Pro Gly Asn Val Asp Ser Tyr
305 310 315 320

Asn Ile Thr Leu Ser His Lys Gly Thr Ile Lys Glu Ser Arg Val Leu
 325 330 335

Ala Pro Trp Ile Thr Glu Thr His Phe Lys Glu Leu Val Pro Gly Arg
 340 345 350

Leu Tyr Gln Val Thr Val Ser Cys Val Ser Gly Glu Leu Ser Ala Gln
 355 360 365

Lys Met Ala Val Gly Arg Thr Phe Pro Asp Lys Val Ala Asn Leu Glu
 370 375 380

Ala Asn Asn Asn Gly Arg Met Arg Ser Leu Val Val Ser Trp Ser Pro
385 390 395 400

Pro Ala Gly Asp Trp Glu Gln Tyr Arg Ile Leu Leu Phe Asn Asp Ser
 405 410 415

Val Val Leu Leu Asn Ile Thr Val Gly Lys Glu Glu Thr Gln Tyr Val
420 425 430

Met Asp Asp Thr Gly Leu Val Pro Gly Arg Gln Tyr Glu Val Glu Val
435 440 445

Ile Val Glu Ser Gly Asn Leu Lys Asn Ser Glu Arg Cys Gln Gly Arg
450 455 460

Thr Val Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg Val Lys His Ala Asn Glu
465 470 475 480

Thr Ser Leu Ser Ile Met Trp Gln Thr Pro Val Ala Glu Trp Glu Lys
485 490 495

Tyr Ile Ile Ser Leu Ala Asp Arg Asp Leu Leu Leu Ile His Lys Ser
500 505 510

Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe Thr Asp Leu Val Pro Gly
515 520 525

Arg Lys Tyr Met Ala Thr Val Thr Ser Ile Ser Gly Asp Leu Lys Asn
530 535 540

Ser Ser Ser Val Lys Gly Arg Thr Val Pro Ala Gln Val Thr Asp Leu
545 550 555 560

His Val Ala Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser Leu Phe Thr Asn Trp Thr
565 570 575

Gln Ala Gln Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln Val Leu Leu Ile His Glu
580 585 590

Asn Val Val Ile Lys Asn Glu Ser Ile Ser Ser Glu Thr Ser Arg Tyr
595 600 605

Ser Phe His Ser Leu Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Ser Val Val Val Thr
610 615 620

Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln Val Val Val Glu Gly Arg
625 630 635 640

Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr Val Asn Asn Ser Gly Arg
645 650 655

Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Leu Ala Pro Gly Asp Val Asp
660 665 670

Asn Tyr Glu Val Thr Leu Ser His Asp Gly Lys Val Val Gln Ser Leu
675 680 685

Val Ile Ala Lys Ser Val Arg Glu Cys Ser Phe Ser Ser Leu Thr Pro
690 695 700

Gly Arg Leu Tyr Thr Val Thr Ile Thr Thr Arg Ser Gly Lys Tyr Glu
705 710 715 720

Asn His Ser Phe Ser Gln Glu Arg Thr Val Pro Asp Lys Val Gln Gly
725 730 735

Val Ser Val Ser Asn Ser Ala Arg Ser Asp Tyr Leu Arg Val Ser Trp
740 745 750

Val His Ala Thr Gly Asp Phe Asp His Tyr Glu Val Thr Ile Lys Asn
755 760 765

Lys Asn Asn Phe Ile Gln Thr Lys Ser Ile Pro Lys Ser Glu Asn Glu
770 775 780

Cys Val Phe Val Gln Leu Val Pro Gly Arg Leu Tyr Ser Val Thr Val

785	790	795	800
Thr Thr Lys Ser Gly Gln Tyr Glu Ala Asn Glu Gln Gly Asn Gly Arg			
	805	810	815
Thr Ile Pro Glu Pro Val Lys Asp Leu Thr Leu Arg Asn Arg Ser Thr			
	820	825	830
Glu Asp Leu His Val Thr Trp Ser Gly Ala Asn Gly Asp Val Asp Gln			
	835	840	845
Tyr Glu Ile Gln Leu Leu Phe Asn Asp Met Lys Val Phe Pro Pro Phe			
	850	855	860
His Leu Val Asn Thr Ala Thr Glu Tyr Arg Phe Thr Ser Leu Thr Pro			
	865	870	875 880
Gly Arg Gln Tyr Lys Ile Leu Val Leu Thr Ile Ser Gly Asp Val Gln			
	885	890	895
Gln Ser Ala Phe Ile Glu Gly Phe Thr Val Pro Ser Ala Val Lys Asn			
	900	905	910
Ile His Ile Ser Pro Asn Gly Ala Thr Asp Ser Leu Thr Val Asn Trp			
	915	920	925
Thr Pro Gly Gly Gly Asp Val Asp Ser Tyr Thr Val Ser Ala Phe Arg			
	930	935	940
His Ser Gln Lys Val Asp Ser Gln Thr Ile Pro Lys His Val Phe Glu			
	945	950	955 960
His Thr Phe His Arg Leu Glu Ala Gly Glu Gln Tyr Gln Ile Met Ile			
	965	970	975

Ala Ser Val Ser Gly Ser Leu Lys Asn Gln Ile Asn Val Val Gly Arg
980 985 990

Thr Val Pro Ala Ser Val Gln Gly Val Ile Ala Asp Asn Ala Tyr Ser
995 1000 1005

Ser Tyr Ser Leu Ile Val Ser Trp Gln Lys Ala Ala Gly Val Ala
1010 1015 1020

Glu Arg Tyr Asp Ile Leu Leu Leu Thr Glu Asn Gly Ile Leu Leu
1025 1030 1035

Arg Asn Thr Ser Glu Pro Ala Thr Thr Lys Gln His Lys Phe Glu
1040 1045 1050

Asp Leu Thr Pro Gly Lys Lys Tyr Lys Ile Gln Ile Leu Thr Val
1055 1060 1065

Ser Gly Gly Leu Phe Ser Lys Glu Ala Gln Thr Glu Gly Arg Thr
1070 1075 1080

Val Pro Ala Ala Val Thr Asp Leu Arg Ile Thr Glu Asn Ser Thr
1085 1090 1095

Arg His Leu Ser Phe Arg Trp Thr Ala Ser Glu Gly Glu Leu Ser
1100 1105 1110

Trp Tyr Asn Ile Phe Leu Tyr Asn Pro Asp Gly Asn Leu Gln Glu
1115 1120 1125

Arg Ala Gln Val Asp Pro Leu Val Gln Ser Phe Ser Phe Gln Asn
1130 1135 1140

Leu Leu Gln Gly Arg Met Tyr Lys Met Val Ile Val Thr His Ser
1145 1150 1155

Gly Glu Leu Ser Asn Glu Ser Phe Ile Phe Gly Arg Thr Val Pro
1160 1165 1170

Ala Ser Val Ser His Leu Arg Gly Ser Asn Arg Asn Thr Thr Asp
1175 1180 1185

Ser Leu Trp Phe Asn Trp Ser Pro Ala Ser Gly Asp Phe Asp Phe
1190 1195 1200

Tyr Glu Leu Ile Leu Tyr Asn Pro Asn Gly Thr Lys Lys Glu Asn
1205 1210 1215

Trp Lys Asp Lys Asp Leu Thr Glu Trp Arg Phe Gln Gly Leu Val
1220 1225 1230

Pro Gly Arg Lys Tyr Val Leu Trp Val Val Thr His Ser Gly Asp
1235 1240 1245

Leu Ser Asn Lys Val Thr Ala Glu Ser Arg Thr Ala Pro Ser Pro
1250 1255 1260

Pro Ser Leu Met Ser Phe Ala Asp Ile Ala Asn Thr Ser Leu Ala
1265 1270 1275

Ile Thr Trp Lys Gly Pro Pro Asp Trp Thr Asp Tyr Asn Asp Phe
1280 1285 1290

Glu Leu Gln Trp Leu Pro Arg Asp Ala Leu Thr Val Phe Asn Pro
1295 1300 1305

Tyr Asn Asn Arg Lys Ser Glu Gly Arg Ile Val Tyr Gly Leu Arg
1310 1315 1320

Pro Gly Arg Ser Tyr Gln Phe Asn Val Lys Thr Val Ser Gly Asp
1325 1330 1335

Ser Trp Lys Thr Tyr Ser Lys Pro Ile Phe Gly Ser Val Arg Thr
1340 1345 1350

Lys Pro Asp Lys Ile Gln Asn Leu His Cys Arg Pro Gln Asn Ser
1355 1360 1365

Thr Ala Ile Ala Cys Ser Trp Ile Pro Pro Asp Ser Asp Phe Asp
1370 1375 1380

Gly Tyr Ser Ile Glu Cys Arg Lys Met Asp Thr Gln Glu Val Glu
1385 1390 1395

Phe Ser Arg Lys Leu Glu Lys Glu Lys Ser Leu Leu Asn Ile Met
1400 1405 1410

Met Leu Val Pro His Lys Arg Tyr Leu Val Ser Ile Lys Val Gln
1415 1420 1425

Ser Ala Gly Met Thr Ser Glu Val Val Glu Asp Ser Thr Ile Thr
1430 1435 1440

Met Ile Asp Arg Pro Pro Pro Pro Pro Pro His Ile Arg Val Asn
1445 1450 1455

Glu Lys Asp Val Leu Ile Ser Lys Ser Ser Ile Asn Phe Thr Val
1460 1465 1470

Asn Cys Ser Trp Phe Ser Asp Thr Asn Gly Ala Val Lys Tyr Phe
1475 1480 1485

Thr Val Val Val Arg Glu Ala Asp Gly Ser Asp Glu Leu Lys Pro
1490 1495 1500

Glu Gln Gln His Pro Leu Pro Ser Tyr Leu Glu Tyr Arg His Asn

1505 1510 1515

Ala Ser Ile Arg Val Tyr Gln Thr Asn Tyr Phe Ala Ser Lys Cys
1520 1525 1530

Ala Glu Asn Pro Asn Ser Asn Ser Lys Ser Phe Asn Ile Lys Leu
1535 1540 1545

Gly Ala Glu Met Glu Ser Leu Gly Gly Lys Arg Asp Pro Thr Gln
1550 1555 1560

Gln Lys Phe Cys Asp Gly Pro Leu Lys Pro His Thr Ala Tyr Arg
1565 1570 1575

Ile Ser Ile Arg Ala Phe Thr Gln Leu Phe Asp Glu Asp Leu Lys
1580 1585 1590

Glu Phe Thr Lys Pro Leu Tyr Ser Asp Thr Phe Phe Ser Leu Pro
1595 1600 1605

Ile Thr Thr Glu Ser Glu Pro Leu Phe Gly Ala Ile Glu
1610 1615 1620

<210> 4
<211> 775
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Leu Ser His Gly Ala Gly Leu Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Leu
1 5 10 15

Leu Gln Thr Gly Leu Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala
20 25 30

Glu Ser Lys Ala Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu

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

Gly Ser Gly Asn Val Glu Arg Tyr Arg Leu Met Leu Met Asp Lys Gly
225 230 235 240

Ile Leu Val His Gly Gly Val Val Asp Lys His Ala Thr Ser Tyr Ala
 245 250 255

Phe His Gly Leu Thr Pro Gly Tyr Leu Tyr Asn Leu Thr Val Met Thr
 260 265 270

Glu Ala Ala Gly Leu Gln Asn Tyr Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr Ala
 275 280 285

Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Ser Leu Thr
 290 295 300

Ser Leu Lys Val Lys Trp Gln Arg Pro Pro Gly Asn Val Asp Ser Tyr
305 310 315 320

Asn Ile Thr Leu Ser His Lys Gly Thr Ile Lys Glu Ser Arg Val Leu
 325 330 335

Ala Pro Trp Ile Thr Glu Thr His Phe Lys Glu Leu Val Pro Gly Arg
 340 345 350

Leu Tyr Gln Val Thr Val Ser Cys Val Ser Gly Glu Leu Ser Ala Gln
 355 360 365

Lys Met Ala Val Gly Arg Thr Phe Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg
 370 375 380

Val Lys His Ala Asn Glu Thr Ser Leu Ser Ile Met Trp Gln Thr Pro
385 390 395 400

Val Ala Glu Trp Glu Lys Tyr Ile Ile Ser Leu Ala Asp Arg Asp Leu
 405 410 415

Leu Leu Ile His Lys Ser Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe
420 425 430

Thr Asp Leu Val Pro Gly Arg Lys Tyr Met Ala Thr Val Thr Ser Ile
435 440 445

Ser Gly Asp Leu Lys Asn Ser Ser Ser Val Lys Gly Arg Thr Val Pro
450 455 460

Ala Gln Val Thr Asp Leu His Val Ala Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser
465 470 475 480

Leu Phe Thr Asn Trp Thr Gln Ala Gln Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln
485 490 495

Val Leu Leu Ile His Glu Asn Val Val Ile Lys Asn Glu Ser Ile Ser
500 505 510

Ser Glu Thr Ser Arg Tyr Ser Phe His Ser Leu Lys Ser Gly Ser Leu
515 520 525

Tyr Ser Val Val Val Thr Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln
530 535 540

Val Val Val Glu Gly Arg Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr
545 550 555 560

Val Asn Asn Ser Gly Arg Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Leu
565 570 575

Ala Pro Gly Asp Val Asp Asn Tyr Glu Val Thr Leu Ser His Asp Gly
580 585 590

Lys Val Val Gln Ser Leu Val Ile Ala Lys Ser Val Arg Glu Cys Ser
595 600 605

Phe Ser Ser Leu Thr Pro Gly Arg Leu Tyr Thr Val Thr Ile Thr Thr
610 615 620

Arg Ser Gly Lys Tyr Glu Asn His Ser Phe Ser Gln Glu Arg Thr Val
625 630 635 640

Pro Asp Lys Val Gln Gly Val Ser Val Ser Asn Ser Ala Arg Ser Asp
645 650 655

Tyr Leu Arg Val Ser Trp Val His Ala Thr Gly Asp Phe Asp His Tyr
660 665 670

Glu Val Thr Ile Lys Asn Lys Asn Asn Phe Ile Gln Thr Lys Ser Ile
675 680 685

Pro Lys Ser Glu Asn Glu Cys Val Phe Val Gln Leu Val Pro Gly Arg
690 695 700

Leu Tyr Ser Val Thr Val Thr Thr Lys Ser Gly Gln Tyr Glu Ala Asn
705 710 715 720

Glu Gln Gly Asn Gly Arg Thr Ile Pro Glu Lys Gly Asn Ser Ala Asp
725 730 735

Ile Gln His Ser Gly Gly Arg Ser Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu
740 745 750

Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr
755 760 765

Gly His His His His His His
770 775

<210> 5

<211> 421
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 5

Met Leu Ser His Gly Ala Gly Leu Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Leu
 1 5 10 15

Leu Gln Thr Gly Leu Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala
 20 25 30

Glu Ser Lys Ala Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu
 35 40 45

Gly Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly
 50 55 60

Ala Ala Leu Cys Pro Thr Phe Arg Ile Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys
 65 70 75 80

Asn Leu Gln Asp Leu Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Lys Ile Ile
 85 90 95

Ser Leu Asp Glu Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu Pro
 100 105 110

Pro Ala Arg Phe Gly Val Ser Lys Glu Lys Thr Thr Ser Thr Gly Leu
 115 120 125

His Val Trp Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Thr Ser Tyr Glu Val
 130 135 140

Gln Leu Phe Asp Glu Asn Asn Gln Lys Ile Gln Gly Val Gln Ile Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Thr Ser Trp Asn Glu Tyr Thr Phe Phe Asn Leu Thr Ala Gly

165 170 175

Ser Lys Tyr Asn Ile Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Gly Lys Arg Ser
180 185 190

Phe Ser Val Tyr Thr Asn Gly Ser Thr Val Pro Ser Pro Val Lys Asp
195 200 205

Ile Gly Ile Ser Thr Lys Ala Asn Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser His
210 215 220

Gly Ser Gly Asn Val Glu Arg Tyr Arg Leu Met Leu Met Asp Lys Gly
225 230 235 240

Ile Leu Val His Gly Gly Val Val Asp Lys His Ala Thr Ser Tyr Ala
245 250 255

Phe His Gly Leu Thr Pro Gly Tyr Leu Tyr Asn Leu Thr Val Met Thr
260 265 270

Glu Ala Ala Gly Leu Gln Asn Tyr Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr Ala
275 280 285

Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Ser Leu Thr
290 295 300

Ser Leu Lys Val Lys Trp Gln Arg Pro Pro Gly Asn Val Asp Ser Tyr
305 310 315 320

Asn Ile Thr Leu Ser His Lys Gly Thr Ile Lys Glu Ser Arg Val Leu
325 330 335

Ala Pro Trp Ile Thr Glu Thr His Phe Lys Glu Leu Val Pro Gly Arg
340 345 350

Leu Tyr Gln Val Thr Val Ser Cys Val Ser Gly Glu Leu Ser Ala Gln
355 360 365

Lys Met Ala Val Gly Arg Thr Phe Lys Gly Asn Ser Ala Asp Ile Gln
370 375 380

His Ser Gly Gly Arg Ser Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu Gly Lys
385 390 395 400

Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr Gly His
405 410 415

His His His His His
420

<210> 6
<211> 247
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Leu Ser His Gly Ala Gly Leu Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Leu
1 5 10 15

Leu Gln Thr Gly Leu Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala
20 25 30

Glu Ser Lys Ala Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu
35 40 45

Gly Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly
50 55 60

Ala Ala Leu Cys Pro Thr Phe Arg Ile Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys
65 70 75 80

Asn Leu Gln Asp Leu Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Lys Ile Ile
85 90 95

Ser Leu Asp Glu Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu Pro
100 105 110

Pro Ala Arg Phe Gly Val Ser Lys Glu Lys Thr Thr Ser Thr Gly Leu
115 120 125

His Val Trp Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Thr Ser Tyr Glu Val
130 135 140

Gln Leu Phe Asp Glu Asn Asn Gln Lys Ile Gln Gly Val Gln Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ser Thr Ser Trp Asn Glu Tyr Thr Phe Phe Asn Leu Thr Ala Gly
165 170 175

Ser Lys Tyr Asn Ile Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Gly Lys Arg Ser
180 185 190

Phe Ser Val Tyr Thr Asn Gly Ser Thr Val Lys Gly Asn Ser Ala Asp
195 200 205

Ile Gln His Ser Gly Gly Arg Ser Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu
210 215 220

Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr
225 230 235 240

Gly His His His His His His
245

<210> 7
<211> 1632
<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 7

Met Leu Arg His Gly Ala Leu Thr Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Val
1 5 10 15

Val Gln Thr Gly Val Ala Glu Gln Val Lys Cys Asn Phe Thr Leu Leu
20 25 30

Glu Ser Arg Val Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gln Trp Arg Thr Phe
35 40 45

Ala Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Ser Gly
50 55 60

Pro Met Trp Cys His Pro Ile Arg Ile Asp Asn Phe Thr Tyr Gly Cys
65 70 75 80

Asn Pro Lys Asp Leu Gln Ala Gly Thr Val Tyr Asn Phe Arg Ile Val
85 90 95

Ser Leu Asp Gly Glu Glu Ser Thr Leu Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu
100 105 110

Pro Pro Ala Arg Phe Glu Val Asn Arg Glu Lys Thr Ala Ser Thr Thr
115 120 125

Leu Gln Val Arg Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Ser Trp Tyr Glu
130 135 140

Val Gln Leu Phe Asp His Asn Asn Gln Lys Ile Gln Glu Val Gln Val
145 150 155 160

Gln Glu Ser Thr Thr Trp Ser Gln Tyr Thr Phe Leu Asn Leu Thr Glu
165 170 175

Gly Asn Ser Tyr Lys Val Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Glu Lys Arg
180 185 190

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

Asp Leu Gly Ile Ser Pro Asn Pro Asn Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser
210 215 220

Arg Gly Ser Gly Asn Val Glu Gln Tyr Arg Leu Val Leu Met Asp Lys
225 230 235 240

Gly Ala Ile Val Gln Asp Thr Asn Val Asp Arg Arg Asp Thr Ser Tyr
245 250 255

Ala Phe His Glu Leu Thr Pro Gly His Leu Tyr Asn Leu Thr Ile Val
260 265 270

Thr Met Ala Ser Gly Leu Gln Asn Ser Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr
275 280 285

Ala Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Arg Leu
290 295 300

Thr Ser Leu Asn Val Lys Trp Gln Lys Pro Pro Gly Asp Val Asp Ser
305 310 315 320

Tyr Ser Ile Thr Leu Ser His Gln Gly Thr Ile Lys Glu Ser Lys Thr
325 330 335

Leu Ala Pro Pro Val Thr Glu Thr Gln Phe Lys Asp Leu Val Pro Gly
340 345 350

Arg Leu Tyr Gln Val Thr Ile Ser Cys Ile Ser Gly Glu Leu Ser Ala
355 360 365

Glu Lys Ser Ala Ala Gly Arg Thr Val Pro Glu Lys Val Arg Asn Leu
370 375 380

Val Ser Tyr Asn Glu Ile Trp Met Lys Ser Phe Thr Val Asn Trp Thr
385 390 395 400

Pro Pro Ala Gly Asp Trp Glu His Tyr Arg Ile Val Leu Phe Asn Glu
405 410 415

Ser Leu Val Leu Leu Asn Thr Thr Val Gly Lys Glu Glu Thr His Tyr
420 425 430

Ala Leu Asp Gly Leu Glu Leu Ile Pro Gly Arg Gln Tyr Glu Ile Glu
435 440 445

Val Ile Val Glu Ser Gly Asn Leu Arg Asn Ser Glu Arg Cys Gln Gly
450 455 460

Arg Thr Val Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg Val Lys His Ala Asn
465 470 475 480

Glu Thr Ser Leu Gly Ile Thr Trp Arg Ala Pro Leu Gly Glu Trp Glu
485 490 495

Lys Tyr Ile Ile Ser Leu Met Asp Arg Glu Leu Leu Val Ile His Lys
500 505 510

Ser Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe Thr Asp Leu Met Pro
515 520 525

Gly Arg Asn Tyr Lys Ala Thr Val Thr Ser Met Ser Gly Asp Leu Lys
530 535 540

Gln Ser Ser Ser Ile Lys Gly Arg Thr Val Pro Ala Gln Val Thr Asp

545	550	555	560
Leu His Val Asn Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser Leu Phe Thr Asn Trp			
	565	570	575
Thr Lys Ala Leu Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln Val Leu Leu Ile His			
	580	585	590
Glu Asn Val Val Val Lys Asn Glu Ser Val Ser Ser Asp Thr Ser Arg			
	595	600	605
Tyr Ser Phe Arg Ala Leu Lys Pro Gly Ser Leu Tyr Ser Val Val Val			
	610	615	620
Thr Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln Val Val Ala Glu Gly			
	625	630	635 640
Arg Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr Val Asn Asn Ser Gly			
	645	650	655
Arg Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Pro Ala Pro Gly Glu Val			
	660	665	670
Asp His Tyr Val Val Ser Leu Ser His Glu Gly Lys Val Asp Gln Phe			
	675	680	685
Leu Ile Ile Ala Lys Ser Val Ser Glu Cys Ser Phe Ser Ser Leu Thr			
	690	695	700
Pro Gly Arg Leu Tyr Asn Val Thr Val Thr Thr Lys Ser Gly Asn Tyr			
	705	710	715 720
Ala Ser His Ser Phe Thr Glu Glu Arg Thr Val Pro Asp Lys Val Gln			
	725	730	735

Gly Ile Ser Val Ser Asn Ser Ala Arg Ser Asp Tyr Leu Lys Val Ser
740 745 750

Trp Val His Ala Thr Gly Asp Phe Asp His Tyr Glu Val Thr Ile Lys
755 760 765

Asn Arg Glu Ser Phe Ile Gln Thr Lys Thr Ile Pro Lys Ser Glu Asn
770 775 780

Glu Cys Glu Phe Ile Glu Leu Val Pro Gly Arg Leu Tyr Ser Val Thr
785 790 795 800

Val Ser Thr Lys Ser Gly Gln Tyr Glu Ala Ser Glu Gln Gly Thr Gly
805 810 815

Arg Thr Ile Pro Glu Pro Val Lys Asp Leu Thr Leu Leu Asn Arg Ser
820 825 830

Thr Glu Asp Leu His Val Thr Trp Ser Arg Ala Asn Gly Asp Val Asp
835 840 845

Gln Tyr Glu Val Gln Leu Leu Phe Asn Asp Met Lys Val Phe Pro His
850 855 860

Ile His Leu Val Asn Thr Ala Thr Glu Tyr Lys Phe Thr Ala Leu Thr
865 870 875 880

Pro Gly Arg His Tyr Lys Ile Leu Val Leu Thr Ile Ser Gly Asp Val
885 890 895

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

Asn Ile His Ile Ser Ala Asn Gly Ala Thr Asp Arg Leu Met Val Thr
915 920 925

Trp Ser Pro Gly Gly Gly Asp Val Asp Ser Tyr Val Val Ser Ala Phe
 930 935 940

Arg Gln Asp Glu Lys Val Asp Ser Gln Thr Ile Pro Lys His Ala Ser
 945 950 955 960

Glu His Thr Phe His Arg Leu Glu Ala Gly Ala Lys Tyr Arg Ile Ala
 965 970 975

Ile Val Ser Val Ser Gly Ser Leu Arg Asn Gln Ile Asp Ala Leu Gly
 980 985 990

Gln Thr Val Pro Ala Ser Val Gln Glu Val Val Ala Ala Asn Ala Tyr
 995 1000 1005

Ser Ser Asn Ser Leu Thr Val Ser Trp Gln Lys Ala Leu Gly Val
 1010 1015 1020

Ala Glu Arg Tyr Asp Ile Leu Leu Leu Asn Glu Asn Gly Leu Leu
 1025 1030 1035

Leu Ser Asn Val Ser Glu Pro Ala Thr Ala Arg Gln His Lys Phe
 1040 1045 1050

Glu Asp Leu Thr Pro Gly Lys Lys Tyr Lys Met Gln Ile Leu Thr
 1055 1060 1065

Val Ser Gly Gly Leu Phe Ser Lys Glu Ser Gln Ala Glu Gly Arg
 1070 1075 1080

Thr Val Pro Ala Ala Val Thr Asn Leu Arg Ile Thr Glu Asn Ser
 1085 1090 1095

Ser Arg Tyr Leu Ser Phe Gly Trp Thr Ala Ser Glu Gly Glu Leu
 1100 1105 1110

Ser Trp Tyr Asn Ile Phe Leu Tyr Asn Pro Asp Arg Thr Leu Gln
 1115 1120 1125

Glu Arg Ala Gln Val Asp Pro Leu Val Gln Ser Phe Ser Phe Gln
 1130 1135 1140

Asn Leu Leu Gln Gly Arg Met Tyr Lys Met Val Ile Val Thr His
 1145 1150 1155

Ser Gly Glu Leu Ser Asn Glu Ser Phe Ile Phe Gly Arg Thr Val
 1160 1165 1170

Pro Ala Ala Val Asn His Leu Lys Gly Ser His Arg Asn Thr Thr
 1175 1180 1185

Asp Ser Leu Trp Phe Ser Trp Ser Pro Ala Ser Gly Asp Phe Asp
 1190 1195 1200

Phe Tyr Glu Leu Ile Leu Tyr Asn Pro Asn Gly Thr Lys Lys Glu
 1205 1210 1215

Asn Trp Lys Glu Lys Asp Val Thr Glu Trp Arg Phe Gln Gly Leu
 1220 1225 1230

Val Pro Gly Arg Lys Tyr Thr Leu Tyr Val Val Thr His Ser Gly
 1235 1240 1245

Asp Leu Ser Asn Lys Val Thr Gly Glu Gly Arg Thr Ala Pro Ser
 1250 1255 1260

Pro Pro Ser Leu Leu Ser Phe Ala Asp Val Ala Asn Thr Ser Leu
 1265 1270 1275

Ala Ile Thr Trp Lys Gly Pro Pro Asp Trp Thr Asp Tyr Asn Asp

1280	1285	1290
Phe Glu	Leu Gln Trp Phe Pro	Gly Asp Ala Leu Thr Ile Phe Asn
1295	1300	1305
Pro Tyr	Ser Ser Arg Lys Ser	Glu Gly Arg Ile Val Tyr Gly Leu
1310	1315	1320
His Pro	Gly Arg Ser Tyr Gln	Phe Ser Val Lys Thr Val Ser Gly
1325	1330	1335
Asp Ser	Trp Lys Thr Tyr Ser	Lys Pro Ile Ser Gly Ser Val Arg
1340	1345	1350
Thr Lys	Pro Asp Lys Ile Gln	Asn Leu His Cys Arg Pro Gln Asn
1355	1360	1365
Ser Thr	Ala Ile Ala Cys Ser	Trp Ile Pro Pro Asp Ser Asp Phe
1370	1375	1380
Asp Gly	Tyr Ser Ile Glu Cys	Arg Lys Met Asp Thr Gln Glu Ile
1385	1390	1395
Glu Phe	Ser Arg Lys Leu Glu	Lys Glu Lys Ser Leu Leu Asn Ile
1400	1405	1410
Met Met	Leu Val Pro His Lys	Arg Tyr Leu Val Ser Ile Lys Val
1415	1420	1425
Gln Ser	Ala Gly Met Thr Ser	Glu Val Val Glu Asp Ser Thr Ile
1430	1435	1440
Thr Met	Ile Asp Arg Pro Pro	Gln Pro Pro Pro His Ile Arg Val
1445	1450	1455

Asn Glu Lys Asp Val Leu Ile Ser Lys Ser Ser Ile Asn Phe Thr
1460 1465 1470

Val Asn Cys Ser Trp Phe Ser Asp Thr Asn Gly Ala Val Lys Tyr
1475 1480 1485

Phe Ala Val Val Val Arg Glu Ala Asp Ser Met Asp Glu Leu Lys
1490 1495 1500

Pro Glu Gln Gln His Pro Leu Pro Ser Tyr Leu Glu Tyr Arg His
1505 1510 1515

Asn Ala Ser Ile Arg Val Tyr Gln Thr Asn Tyr Phe Ala Ser Lys
1520 1525 1530

Cys Ala Glu Ser Pro Asp Ser Ser Ser Lys Ser Phe Asn Ile Lys
1535 1540 1545

Leu Gly Ala Glu Met Asp Ser Leu Gly Gly Lys Cys Asp Pro Ser
1550 1555 1560

Gln Gln Lys Phe Cys Asp Gly Pro Leu Lys Pro His Thr Ala Tyr
1565 1570 1575

Arg Ile Ser Ile Arg Ala Phe Thr Gln Leu Phe Asp Glu Asp Leu
1580 1585 1590

Lys Glu Phe Thr Lys Pro Leu Tyr Ser Asp Thr Phe Phe Ser Met
1595 1600 1605

Pro Ile Thr Thr Glu Ser Glu Pro Leu Phe Gly Val Ile Glu Arg
1610 1615 1620

Gly Arg His His His His His Gly
1625 1630

<210> 8

<211> 774

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> human-mouse chimeric molecule

<400> 8

Met Leu Arg His Gly Ala Leu Thr Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Val
1 5 10 15

Val Gln Thr Gly Val Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala
 20 25 30

Glu Ser Lys Ala Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu
 35 40 45

Gly Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly
 50 55 60

Ala Ala Leu Cys Pro Thr Phe Arg Ile Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys
65 70 75 80

Asn Leu Gln Asp Leu Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Lys Ile Ile
 85 90 95

Ser Leu Asp Glu Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu Pro
 100 105 110

Pro Ala Arg Phe Gly Val Ser Lys Glu Lys Thr Thr Ser Thr Gly Leu
 115 120 125

His Val Trp Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Thr Ser Tyr Glu Val
 130 135 140

Gln Leu Phe Asp Glu Asn Asn Gln Lys Ile Gln Gly Val Gln Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ser Thr Ser Trp Asn Glu Tyr Thr Phe Phe Asn Leu Thr Ala Gly
165 170 175

Ser Lys Tyr Asn Ile Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Gly Lys Arg Ser
180 185 190

Phe Ser Val Tyr Thr Asn Gly Ser Thr Val Pro Ser Pro Val Lys Asp
195 200 205

Leu Gly Ile Ser Pro Asn Pro Asn Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Arg
210 215 220

Gly Ser Gly Asn Val Glu Gln Tyr Arg Leu Val Leu Met Asp Lys Gly
225 230 235 240

Ala Ile Val Gln Asp Thr Asn Val Asp Arg Arg Asp Thr Ser Tyr Ala
245 250 255

Phe His Glu Leu Thr Pro Gly His Leu Tyr Asn Leu Thr Ile Val Thr
260 265 270

Met Ala Ser Gly Leu Gln Asn Ser Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr Ala
275 280 285

Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Arg Leu Thr
290 295 300

Ser Leu Asn Val Lys Trp Gln Lys Pro Pro Gly Asp Val Asp Ser Tyr
305 310 315 320

Ser Ile Thr Leu Ser His Gln Gly Thr Ile Lys Glu Ser Lys Thr Leu
325 330 335

Ala Pro Pro Val Thr Glu Thr Gln Phe Lys Asp Leu Val Pro Gly Arg
340 345 350

Leu Tyr Gln Val Thr Ile Ser Cys Ile Ser Gly Glu Leu Ser Ala Glu
355 360 365

Lys Ser Ala Ala Gly Arg Thr Val Pro Glu Lys Val Arg Asn Leu Val
370 375 380

Ser Tyr Asn Glu Ile Trp Met Lys Ser Phe Thr Val Asn Trp Thr Pro
385 390 395 400

Pro Ala Gly Asp Trp Glu His Tyr Arg Ile Val Leu Phe Asn Glu Ser
405 410 415

Leu Val Leu Leu Asn Thr Thr Val Gly Lys Glu Glu Thr His Tyr Ala
420 425 430

Leu Asp Gly Leu Glu Leu Ile Pro Gly Arg Gln Tyr Glu Ile Glu Val
435 440 445

Ile Val Glu Ser Gly Asn Leu Arg Asn Ser Glu Arg Cys Gln Gly Arg
450 455 460

Thr Val Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg Val Lys His Ala Asn Glu
465 470 475 480

Thr Ser Leu Gly Ile Thr Trp Arg Ala Pro Leu Gly Glu Trp Glu Lys
485 490 495

Tyr Ile Ile Ser Leu Met Asp Arg Glu Leu Leu Val Ile His Lys Ser
500 505 510

Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe Thr Asp Leu Met Pro Gly
515 520 525

Arg Asn Tyr Lys Ala Thr Val Thr Ser Met Ser Gly Asp Leu Lys Gln
530 535 540

Ser Ser Ser Ile Lys Gly Arg Thr Val Pro Ala Gln Val Thr Asp Leu
545 550 555 560

His Val Asn Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser Leu Phe Thr Asn Trp Thr
565 570 575

Lys Ala Leu Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln Val Leu Leu Ile His Glu
580 585 590

Asn Val Val Val Lys Asn Glu Ser Val Ser Ser Asp Thr Ser Arg Tyr
595 600 605

Ser Phe Arg Ala Leu Lys Pro Gly Ser Leu Tyr Ser Val Val Val Thr
610 615 620

Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln Val Val Ala Glu Gly Arg
625 630 635 640

Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr Val Asn Asn Ser Gly Arg
645 650 655

Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Pro Ala Pro Gly Glu Val Asp
660 665 670

His Tyr Val Val Ser Leu Ser His Glu Gly Lys Val Asp Gln Phe Leu
675 680 685

Ile Ile Ala Lys Ser Val Ser Glu Cys Ser Phe Ser Ser Leu Thr Pro
690 695 700

Gly Arg Leu Tyr Asn Val Thr Val Thr Thr Lys Ser Gly Asn Tyr Ala

705 710 715 720

Ser His Ser Phe Thr Glu Glu Arg Thr Lys Gly Asn Ser Ala Asp Ile
 725 730 735

Gln His Ser Gly Gly Arg Ser Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu Gly
 740 745 750

Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr Gly
 755 760 765

His His His His His
 770

<210> 9

<211> 775

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> human-mouse chimeric molecule

<400> 9

Met Leu Arg His Gly Ala Leu Thr Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Val
1 5 10 15

Val Gln Thr Gly Val Ala Glu Gln Val Lys Cys Asn Phe Thr Leu Leu
 20 25 30

Glu Ser Arg Val Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gln Trp Arg Thr Phe
 35 40 45

Ala Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Ser Gly
 50 55 60

Pro Met Trp Cys His Pro Ile Arg Ile Asp Asn Phe Thr Tyr Gly Cys
65 70 75 80

Asn Pro Lys Asp Leu Gln Ala Gly Thr Val Tyr Asn Phe Arg Ile Val
85 90 95

Ser Leu Asp Gly Glu Glu Ser Thr Leu Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu
100 105 110

Pro Pro Ala Arg Phe Gly Val Ser Lys Glu Lys Thr Thr Ser Thr Gly
115 120 125

Leu His Val Trp Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Thr Ser Tyr Glu
130 135 140

Val Gln Leu Phe Asp Glu Asn Asn Gln Lys Ile Gln Gly Val Gln Ile
145 150 155 160

Gln Glu Ser Thr Ser Trp Asn Glu Tyr Thr Phe Phe Asn Leu Thr Ala
165 170 175

Gly Ser Lys Tyr Asn Ile Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Gly Lys Arg
180 185 190

Ser Phe Ser Val Tyr Thr Asn Gly Ser Thr Val Pro Ser Pro Val Lys
195 200 205

Asp Leu Gly Ile Ser Pro Asn Pro Asn Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser
210 215 220

Arg Gly Ser Gly Asn Val Glu Gln Tyr Arg Leu Val Leu Met Asp Lys
225 230 235 240

Gly Ala Ile Val Gln Asp Thr Asn Val Asp Arg Arg Asp Thr Ser Tyr
245 250 255

Ala Phe His Glu Leu Thr Pro Gly His Leu Tyr Asn Leu Thr Ile Val

260 265 270

Thr Met Ala Ser Gly Leu Gln Asn Ser Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr
275 280 285

Ala Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Arg Leu
290 295 300

Thr Ser Leu Asn Val Lys Trp Gln Lys Pro Pro Gly Asp Val Asp Ser
305 310 315 320

Tyr Ser Ile Thr Leu Ser His Gln Gly Thr Ile Lys Glu Ser Lys Thr
325 330 335

Leu Ala Pro Pro Val Thr Glu Thr Gln Phe Lys Asp Leu Val Pro Gly
340 345 350

Arg Leu Tyr Gln Val Thr Ile Ser Cys Ile Ser Gly Glu Leu Ser Ala
355 360 365

Glu Lys Ser Ala Ala Gly Arg Thr Val Pro Glu Lys Val Arg Asn Leu
370 375 380

Val Ser Tyr Asn Glu Ile Trp Met Lys Ser Phe Thr Val Asn Trp Thr
385 390 395 400

Pro Pro Ala Gly Asp Trp Glu His Tyr Arg Ile Val Leu Phe Asn Glu
405 410 415

Ser Leu Val Leu Leu Asn Thr Thr Val Gly Lys Glu Glu Thr His Tyr
420 425 430

Ala Leu Asp Gly Leu Glu Leu Ile Pro Gly Arg Gln Tyr Glu Ile Glu
435 440 445

000114

000269

Val Ile Val Glu Ser Gly Asn Leu Arg Asn Ser Glu Arg Cys Gln Gly
450 455 460

Arg Thr Val Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg Val Lys His Ala Asn
465 470 475 480

Glu Thr Ser Leu Gly Ile Thr Trp Arg Ala Pro Leu Gly Glu Trp Glu
485 490 495

Lys Tyr Ile Ile Ser Leu Met Asp Arg Glu Leu Leu Val Ile His Lys
500 505 510

Ser Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe Thr Asp Leu Met Pro
515 520 525

Gly Arg Asn Tyr Lys Ala Thr Val Thr Ser Met Ser Gly Asp Leu Lys
530 535 540

Gln Ser Ser Ser Ile Lys Gly Arg Thr Val Pro Ala Gln Val Thr Asp
545 550 555 560

Leu His Val Asn Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser Leu Phe Thr Asn Trp
565 570 575

Thr Lys Ala Leu Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln Val Leu Leu Ile His
580 585 590

Glu Asn Val Val Val Lys Asn Glu Ser Val Ser Ser Asp Thr Ser Arg
595 600 605

Tyr Ser Phe Arg Ala Leu Lys Pro Gly Ser Leu Tyr Ser Val Val Val
610 615 620

Thr Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln Val Val Ala Glu Gly
625 630 635 640

Arg Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr Val Asn Asn Ser Gly
645 650 655

Arg Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Pro Ala Pro Gly Glu Val
660 665 670

Asp His Tyr Val Val Ser Leu Ser His Glu Gly Lys Val Asp Gln Phe
675 680 685

Leu Ile Ile Ala Lys Ser Val Ser Glu Cys Ser Phe Ser Ser Leu Thr
690 695 700

Pro Gly Arg Leu Tyr Asn Val Thr Val Thr Thr Lys Ser Gly Asn Tyr
705 710 715 720

Ala Ser His Ser Phe Thr Glu Glu Arg Thr Lys Gly Asn Ser Ala Asp
725 730 735

Ile Gln His Ser Gly Gly Arg Ser Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu
740 745 750

Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr
755 760 765

Gly His His His His His His
770 775

- <210> 10
- <211> 774
- <212> PRT
- <213> Artificial
- <220>
- <223> human-mouse chimeric molecule
- <400> 10

Met Leu Arg His Gly Ala Leu Thr Ala Leu Trp Ile Thr Leu Ser Val
1 5 10 15

Val Gln Thr Gly Val Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala
20 25 30

Glu Ser Lys Ala Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu
35 40 45

Gly Ser Pro Cys Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly
50 55 60

Ala Ala Leu Cys Pro Thr Phe Arg Ile Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys
65 70 75 80

Asn Leu Gln Asp Leu Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Lys Ile Ile
85 90 95

Ser Leu Asp Glu Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp Pro Leu Pro
100 105 110

Pro Ala Arg Phe Gly Val Ser Lys Glu Lys Thr Thr Ser Thr Gly Leu
115 120 125

His Val Trp Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Val Thr Ser Tyr Glu Val
130 135 140

Gln Leu Phe Asp Glu Asn Asn Gln Lys Ile Gln Gly Val Gln Ile Gln
145 150 155 160

Glu Ser Thr Ser Trp Asn Glu Tyr Thr Phe Phe Asn Leu Thr Ala Gly
165 170 175

Ser Lys Tyr Asn Ile Ala Ile Thr Ala Val Ser Gly Gly Lys Arg Ser
180 185 190

Phe Ser Val Tyr Thr Asn Gly Ser Thr Val Pro Ser Pro Val Lys Asp
195 200 205

Leu Gly Ile Ser Pro Asn Pro Asn Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Arg
210 215 220

Gly Ser Gly Asn Val Glu Gln Tyr Arg Leu Val Leu Met Asp Lys Gly
225 230 235 240

Ala Ile Val Gln Asp Thr Asn Val Asp Arg Arg Asp Thr Ser Tyr Ala
245 250 255

Phe His Glu Leu Thr Pro Gly His Leu Tyr Asn Leu Thr Ile Val Thr
260 265 270

Met Ala Ser Gly Leu Gln Asn Ser Arg Trp Lys Leu Val Arg Thr Ala
275 280 285

Pro Met Glu Val Ser Asn Leu Lys Val Thr Asn Asp Gly Arg Leu Thr
290 295 300

Ser Leu Asn Val Lys Trp Gln Lys Pro Pro Gly Asp Val Asp Ser Tyr
305 310 315 320

Ser Ile Thr Leu Ser His Gln Gly Thr Ile Lys Glu Ser Lys Thr Leu
325 330 335

Ala Pro Pro Val Thr Glu Thr Gln Phe Lys Asp Leu Val Pro Gly Arg
340 345 350

Leu Tyr Gln Val Thr Ile Ser Cys Ile Ser Gly Glu Leu Ser Ala Glu
355 360 365

Lys Ser Ala Ala Gly Arg Thr Val Pro Glu Lys Val Arg Asn Leu Val
370 375 380

Ser Tyr Asn Glu Ile Trp Met Lys Ser Phe Thr Val Asn Trp Thr Pro
385 390 395 400

Pro Ala Gly Asp Trp Glu His Tyr Arg Ile Val Leu Phe Asn Glu Ser
405 410 415

Leu Val Leu Leu Asn Thr Thr Val Gly Lys Glu Glu Thr His Tyr Ala
420 425 430

Leu Asp Gly Leu Glu Leu Ile Pro Gly Arg Gln Tyr Glu Ile Glu Val
435 440 445

Ile Val Glu Ser Gly Asn Leu Arg Asn Ser Glu Arg Cys Gln Gly Arg
450 455 460

Thr Val Pro Leu Ala Val Leu Gln Leu Arg Val Lys His Ala Asn Glu
465 470 475 480

Thr Ser Leu Gly Ile Thr Trp Arg Ala Pro Leu Gly Glu Trp Glu Lys
485 490 495

Tyr Ile Ile Ser Leu Met Asp Arg Glu Leu Leu Val Ile His Lys Ser
500 505 510

Leu Ser Lys Asp Ala Lys Glu Phe Thr Phe Thr Asp Leu Met Pro Gly
515 520 525

Arg Asn Tyr Lys Ala Thr Val Thr Ser Met Ser Gly Asp Leu Lys Gln
530 535 540

Ser Ser Ser Ile Lys Gly Arg Thr Val Pro Ala Gln Val Thr Asp Leu
545 550 555 560

His Val Asn Asn Gln Gly Met Thr Ser Ser Leu Phe Thr Asn Trp Thr

565	570	575
Lys Ala Leu Gly Asp Val Glu Phe Tyr Gln Val Leu Leu Ile His Glu		
580	585	590
Asn Val Val Val Lys Asn Glu Ser Val Ser Ser Asp Thr Ser Arg Tyr		
595	600	605
Ser Phe Arg Ala Leu Lys Pro Gly Ser Leu Tyr Ser Val Val Val Thr		
610	615	620
Thr Val Ser Gly Gly Ile Ser Ser Arg Gln Val Val Ala Glu Gly Arg		
625	630	635 640
Thr Val Pro Ser Ser Val Ser Gly Val Thr Val Asn Asn Ser Gly Arg		
645	650	655
Asn Asp Tyr Leu Ser Val Ser Trp Leu Pro Ala Pro Gly Glu Val Asp		
660	665	670
His Tyr Val Val Ser Leu Ser His Glu Gly Lys Val Asp Gln Phe Leu		
675	680	685
Ile Ile Ala Lys Ser Val Ser Glu Cys Ser Phe Ser Ser Leu Thr Pro		
690	695	700
Gly Arg Leu Tyr Asn Val Thr Val Thr Thr Lys Ser Gly Asn Tyr Ala		
705	710	715 720
Ser His Ser Phe Thr Glu Glu Arg Thr Lys Gly Asn Ser Ala Asp Ile		
725	730	735
Gln His Ser Gly Gly Arg Ser Ser Leu Glu Gly Pro Arg Phe Glu Gly		
740	745	750

000120

000275

Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr Arg Thr Gly
755 760 765

His His His His His His
770

<210> 11
<211> 89
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 11

Val Ala Glu Pro Glu Arg Cys Asn Phe Thr Leu Ala Glu Ser Lys Ala
1 5 10 15

Ser Ser His Ser Val Ser Ile Gln Trp Arg Ile Leu Gly Ser Pro Cys
20 25 30

Asn Phe Ser Leu Ile Tyr Ser Ser Asp Thr Leu Gly Ala Ala Leu Cys
35 40 45

Pro Thr Phe Arg Ile Asp Asn Thr Thr Tyr Gly Cys Asn Leu Gln Asp
50 55 60

Leu Gln Ala Gly Thr Ile Tyr Asn Phe Lys Ile Ile Ser Leu Asp Glu
65 70 75 80

Glu Arg Thr Val Val Leu Gln Thr Asp
85

 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:		(51) Int Cl: C07K 16/40, A61K 39/395	
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) THE PROCTER & GAMBLE COMPANY	
(30) Prioridad	(31) No. 60/790,506 60/798,896	32) Fecha 07/04/06 09/05/06	(33) País US US
		(72) Inventor(es) ROTELLO, Rocco, Jamie PETERS, Kevin, Gene DAVIS, Michael, Glen	
		(74) Apoderado: ALVARO CORREA ORDOÑEZ	
(85)	Fecha limite inicio fase nacional: 07/11/08		(87) Publicación internacional
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 18/10/07
	Fecha de presentación de la solicitud: 05/04/07		N° publicación: WO/2007/116360
	No. de solicitud PCT/IB2007/051239		
(54) Título: ANTICUERPOS QUE LIGAN PROTEÍNA TIROSINA FOSFATASA HUMANA BETA (HPTPBETA) Y LOS USOS DE ÉSTOS			

Reivindicaciones:

1. Un anticuerpo aislado o fragmento aglutinante de antígeno de éste, que liga la proteína humana tirosina fosfatasa beta (HPTPβ), caracterizado porque el anticuerpo o fragmento aglutinante de antígeno de éste regula la angiogénesis.

277
1111219



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

SUPERINTENDENCIA PATENTE DE INVENCION ☐ PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD ☐ DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(21) N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud:

(51) Clasificación Internacional: C07K 16/40, A61K 39/395

(71) Solicitante(s)

THE PROCTER & GAMBLE COMPANY

(72) Inventor(es) ROTELLO, Rocco, Jamie; PETERS, Kevin, Gene y DAVIS, Michael, Glen

(74) Apoderado: ALVARO CORREA ORDOÑEZ

(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	60/790,506	07/04/06	US
	60/798,896	09/05/06	US

(85) Fecha inicio fase nacional: 07/11/08

(87) Publicación internacional

(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT

Fecha: 18/10/07

Fecha de presentación de la solicitud: 05/04/07

N° publicación: WO/2007/116360

No. de solicitud PCT/IB2007/051239

(54) Título:

ANTICUERPOS QUE LIGAN PROTEÍNA TIROSINA FOSFATASA HUMANA BETA (HPTPBETA) Y LOS USOS DE ÉSTOS

258
600220



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO TEMATICO

SUPERINTENDENCIA PATENTE DE INVENCION _____ PCT X MODELO DE UTILIDAD _____ DISEÑO INDUSTRIAL _____

(21) N° de solicitud: _____ (22) Fecha de solicitud: _____

(51) Clasificación Internacional : C07K 16/40, A61K 39/395

(71) Solicitante(s)

THE PROCTER & GAMBLE COMPANY

(72) Inventor(es) ROTELLO, Rocco, Jamie; PETERS, Kevin, Gene y DAVIS, Michael, Glen

(74) Apoderado: ALVARO CORREA ORDÓÑEZ

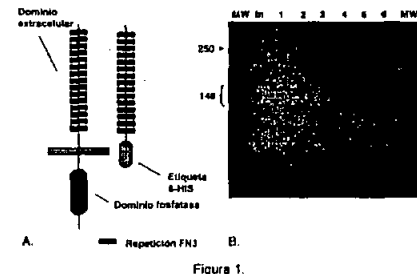
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	60/790,506	07/04/06	US
	60/798,896	09/05/06	US

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 07/11/08

(86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT
 Fecha de presentación de la solicitud: 05/04/07
 No. de solicitud PCT/IB2007/051239

(87) Publicación internacional:

Fecha: 18/10/07
 No. Publicación : WO/2007/116360



(54) Título: **ANTICUERPOS QUE LIGAN PROTEÍNA TIROSINA FOSFATASA HUMANA BETA (HPTPBETA) Y LOS USOS DE ÉSTOS**

(57) Resumen: Anticuerpos y sus fragmentos aglutinante de antígenos que ligan la proteína tirosina fosfatasa humana β (HPTP β), y sus usos.