

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 817 897**

51 Int. Cl.:

C07K 16/40 (2006.01)
G01N 33/573 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01)
C12N 9/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.07.2013** **PCT/US2013/051723**
87 Fecha y número de publicación internacional: **30.01.2014** **WO14018554**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.07.2013** **E 13823022 (2)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.07.2020** **EP 2877494**

54 Título: **PTPRS y proteoglicanos en enfermedad autoinmune**

30 Prioridad:

23.07.2012 US 201261674853 P
24.07.2012 US 201261675036 P
07.06.2013 US 201361832688 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.04.2021

73 Titular/es:

**LA JOLLA INSTITUTE FOR ALLERGY AND
IMMUNOLOGY (100.0%)**
9420 Athena Circle
La Jolla, CA 92037, US

72 Inventor/es:

BOTTINI, NUNZIO y
STANFORD, STEPHANIE

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 817 897 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

PTPRS y proteoglicanos en enfermedad autoinmune

5 Antecedentes de la invención

Aproximadamente del 5 al 8 % de las personas en los Estados Unidos padecen una enfermedad autoinmune. Los investigadores han identificado más de 80 enfermedades autoinmunes diferentes y sospechan que muchas más enfermedades pueden tener un componente autoinmune. La artritis reumatoide (AR) por sí sola afecta a aproximadamente 2,5 millones de personas en los Estados Unidos. La AR afecta a las articulaciones y los huesos, pero también puede afectar a diferentes órganos y sistemas biológicos.

Los sinoviocitos de tipo fibroblasto (FLS) son actores clave en la mediación de la inflamación y la destrucción articular en la artritis reumatoide (AR). Existe un mayor nivel de atención para este tipo de células como posible objetivo de una nueva generación de terapias anti-AR, que se utilizarían en combinación con inmunomoduladores para ayudar a controlar la enfermedad sin aumentar la inmunosupresión. El comportamiento de los FLS está controlado por múltiples vías de transducción de señales interconectadas. Varias de estas vías implican la fosforilación reversible de proteínas en residuos de tirosina, que es el resultado de la acción equilibrada de las proteínas tirosina cinasas (PTK) y fosfatasa (PTP). Las PTK son mediadoras del crecimiento y la invasividad de los FLS. Las PTP actúan eliminando los grupos fosfato de los residuos de tirosina fosforilados en las proteínas. Las proteínas de tipo receptor de tirosina fosfatasa (RPTP o PTPR) son PTP que generalmente tienen un dominio extracelular de longitud variable seguido de una región transmembrana y un dominio citoplásmico catalítico C-terminal. Sin embargo, se sabe poco sobre la conexión entre las PTP o las PTPR en relación con FLS. En el documento WO2012/148003 se proporcionan anticuerpos anti-PTPRS que pueden detectar, identificar o aislar células dendríticas plasmocitoides (pDC). Coles *et al.*, Science (2011), vol. 332, 484-488 describen estudios cristalográficos para investigar la base estructural del reconocimiento de proteoglicanos en las RPTP y RPTP de tipo IIa en general. En el presente documento se proporcionan métodos y composiciones que abordan estas y otras necesidades en la técnica.

30 Breve resumen de la invención

La invención se define en las reivindicaciones. La invención proporciona una proteína recombinante no enzimática que comprende una secuencia de aminoácidos de un dominio extracelular de PTPRS, donde la proteína comprende tanto el dominio 1 (Ig1) de tipo inmunoglobulina como el dominio 2 de tipo inmunoglobulina (Ig2) de PTPRS, para su uso en terapia.

La invención también proporciona un agente de desagrupación de PTPRS para su uso en un método de tratamiento de artritis donde el agente de desagrupación de PTPRS se selecciona de: la proteína recombinante no enzimática como se define en el presente documento; un anticuerpo anti-PTPRS, o un fragmento del mismo; o un anticuerpo antiheparán sulfato, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del agente de desagrupación de PTPRS, donde la administración trata la artritis en el sujeto.

En el presente documento se describen métodos para modular la matriz extracelular en un sujeto. Los métodos incluyen administrar al sujeto una cantidad eficaz de una proteína recombinante no enzimática que comprende una secuencia de aminoácidos de un dominio extracelular de PTPRS o una porción del mismo.

En el presente documento se describen métodos para identificar un agente de desagrupación de PTPRS candidato. Los métodos incluyen poner en contacto un agente de prueba con proteínas PTPRS agrupadas y detectar la desagrupación de las proteínas PTPRS, identificando así un agente de desagrupación de PTPRS candidato. Como alternativa, los métodos incluyen poner en contacto un agente de prueba con PTPRS y heparán sulfato, y determinar si el agente de prueba inhibe la unión de las PTPRS al heparán sulfato, inhibición de la unión que indica que el agente de prueba es un agente de desagrupación de PTPRS.

Breve descripción de los dibujos

Las figuras 1A y 1B son gráficos que representan la expresión de PTPRS en sinoviocitos de tipo fibroblasto (FLS). La figura 1A muestra la expresión en ratones. La figura 1B muestra la expresión en seres humanos.

Las figuras 2A, 2B, 2C, 2D, 2E y 2F son imágenes y gráficos que representan una mayor gravedad de la erosión ósea en la artritis para ratones PTPRS $-/-$ en comparación con ratones PTPRS $+/+$. A los ratones se les inyectaron 100 μ l de suero K/BxN por vía intraperitoneal a las 8-10 semanas de edad (PTPRS $-/-$ recibieron proporcionalmente menos suero para reflejar su peso corporal disminuido). El grosor del tobillo se midió con calibradores digitales y los tobillos y las muñecas recibieron una puntuación de artritis clínica entre 0 (sin enrojecimiento ni hinchazón) y 4 (hinchazón máxima con los dedos afectados) cada dos días durante 14 días. Véanse las figuras 2A, 2B, y 2C. Después de 14 días, se sacrificó a los ratones y se fijaron los tobillos para determinar la puntuación histológica usando tinción con H&E (inflamación y erosión ósea) y safranina O (erosión

del cartílago). Véanse las figuras 2D (inflamación), 2E (erosión del cartílago) y 2F (erosión ósea) para determinar las puntuaciones histológicas.

La figura 3 es un histograma que muestra que el tratamiento de FLS de ratón (mFLS) con sulfato de condroitina (CS) reduce su invasión a través de una matriz extracelular. Los PTPRS-/- mFLS exhiben una inhibición de la invasión mediada por CS reducida.

La figura 4 es un gráfico que muestra que la invasividad de PTPRS-/- mFLS no se ve afectada por CS a niveles aproximadamente 5 veces más altos que los de la articulación.

La figura 5 es un gráfico que muestra que el tratamiento de mFLS con CS reduce su migración. Los PTPRS-/- mFLS exhiben una inhibición de la migración mediada por CS reducida.

La figura 6 son imágenes de geles que muestran la inactivación de PTPRS mediada por morfolino vivo en FLS de ratón y humano. Panel izquierdo: MLS murino; panel derecho: FLS humano.

La figura 7 es un histograma que muestra que la inactivación de PTPRS aumenta la migración de RA FLS humano y anula la inhibición de la migración mediada por CS.

La figura 8 son gráficos que muestran que el análisis PTPome de ARNm de RA FLS muestra que al menos 5 PTP están altamente expresadas.

Las figuras 9A y 9B son gráficos que muestran la expresión de ARNm de PTPRS. La expresión en la figura 9A de FLS clasificada de ratones de control o ratones con artritis aguda o crónica inducida por suero K/BxN y macrófagos clasificados de ratón en la figura 9B y FLS con PTPRC incluido como control positivo para la expresión en macrófagos. La expresión de PTP en FLS y macrófagos de ratones combinados se midió mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa. Los valores son la media de la expresión de PTP con respecto al gen constitutivo GAPDH.

Las figuras 10A y 10B son gráficos que muestran la migración de FLS. En la figura 10A, se permitió la invasión de PTPRS WT o KO FLS a través de cámaras transwell recubiertas con Matrigel. Las células por campo se contaron después de la invasión durante 24 horas en respuesta a suero fetal bovino (FBS) al 5 % en presencia de CS. En la figura 10B, se permitió que PTPRS WT o KO FLS migraran a través de cámaras transwell no revestidas. Las células por campo se contaron después de la migración durante 4 h en respuesta a FBS al 5 % en presencia de CS con o sin tratamiento con condroitinasa ABC. Las barras indican la media +/- error estándar del cambio múltiplo de migración con respecto a la de las células no tratadas. Los datos incluyen tres experimentos independientes que utilizan tres conjuntos de líneas celulares de crías de la misma camada. (**P <0,001; significancia determinada mediante la prueba de Mann-Whitney sobre datos brutos).

Las figuras 11A y 11B son gráficos que muestran que la inhibición de la migración de RA FLS por sulfato de condroitina (CS) depende de la expresión de PTPRS. La figura 11A es un gráfico de datos de RT-PCR que muestra la inactivación de PTPRS en RA FLS después de la incubación con oligo antisentido (ASO) durante 7 días. En la figura 11B, se permitió que PTPRS WT o KO FLS migraran a través de cámaras transwell no revestidas. Las células por campo se contaron después de la migración durante 4 h en respuesta a suero fetal bovino (FBS) al 5 % en presencia de CS con o sin tratamiento con condroitinasa ABC. Las barras indican la media +/- error estándar del cambio múltiplo de migración con respecto a la de las células no tratadas. Los datos incluyen tres experimentos independientes que utilizan tres conjuntos de líneas celulares de crías de la misma camada. (**P <0,001; significancia determinada mediante la prueba de Mann-Whitney sobre datos brutos).

Las figuras 12A y 12B son gráficos que muestran que el desplazamiento de PTPRS de HS es suficiente para inhibir la migración y la invasión de FLS. Se permitió la invasión de PTPRS WT o KO FLS a través de cámaras transwell no recubiertas. Las células por campo se contaron después de la migración durante 4 h en respuesta a suero fetal bovino (FBS) al 5 % en presencia de 20 nM de los dominios de Ig1 e Ig2 de PTPRS (Ig1+2) en solitario (figura 12A) o además de 100 µg/ml de CS (figura 12B). Las barras indican la media +/- error estándar del cambio múltiplo de la migración con respecto a la de las células no tratadas. Los datos incluyen tres experimentos independientes que utilizan tres conjuntos de líneas celulares de crías de la misma camada. (**P <0,01, ***P <0,001, ****P <0,0001; significancia determinada mediante la prueba de Mann-Whitney sobre datos brutos).

Las figuras 13A y 13B son imágenes de micrografías de luz de explantes de cartílago bovino y un gráfico. La figura 13A muestra micrografías de luz teñidas con hematoxilina de Mayer con y sin tratamiento con Ig1+2. La figura 13B es un gráfico que muestra los recuentos celulares con y sin tratamiento con Ig1+2.

Las figuras 14A y 14B son gráficos que muestran la unión y desfosforilación de beta-catenina y cadherina. La figura 14A es una transferencia de Western de lisados de células totales o lisados incubados con sustrato de GST o GST-PTPRS D/A que atrapa el mutante de FLS no estimulado o estimulado por pervanadato. * representa

GST-PTPRS D1 D/A y ** representa la etiqueta GST. Figura 14B Transferencia de Western que muestra una disminución de la fosforilación de tirosina de beta-catenina inmunopurificada en presencia de GST-PTPRS D1 en comparación con GST en solitario.

La figura 15 es un gráfico que muestra el efecto de Ig1 e Ig2 en la mejora de la artritis. Puntuación clínica de ratones BALB/c inducidos con artritis aguda mediante la administración de 100 µl de suero K/BxN el Día 0 y tratados con vehículo (control) o 500 µg de Ig1+2 al día desde los días 0 a 6. N = 3 por tratamiento. Análisis histopatológico de la articulación con (panel inferior) y sin (panel superior) tratamiento con Ig1+2 más puntuación de erosión y daño del cartílago.

La figura 16 es un gráfico que muestra el tratamiento de mFLS con Ig1+2 de PTPRS recombinante que reduce la migración.

La figura 17 es un gráfico que muestra que PTPRS-/- mFLS son insensibles a la migración reducida mediada por Ig1+2 de PTPRS recombinante.

La figura 18 es un esquema de la actividad propuesta de PTPRS, sulfato de condroitina y sulfato de heparina en sinoviocitos de tipo fibroblasto en la articulación.

Descripción detallada de la invención

La presente descripción se refiere a la PTP transmembrana comúnmente denominada proteína tirosina fosfatasa, tipo receptor, S o Sigma (PTPRS). El dominio extracelular de PTPRS incluye múltiples dominios de tipo fibronectina tipo III y dominios de tipo inmunoglobulina (Ig). Los dos dominios de Ig más externos (llamados Ig1 e Ig2) interactúan con afinidad nanomolar con PG (proteoglicano) que contiene HS (heparán sulfato) y CS (sulfato de condroitina). La interacción de PTPRS con HS (que se encuentra en capas en la superficie celular de la mayoría de los tipos de células) induce una topología agrupada de PTPRS, que inhibe la acción de la fosfatasa y promueve la señalización. Por el contrario, el CS (enriquecido en la MEC que rodea a las neuronas y otras células) induce una conformación desagrupada, que es activa y conduce a la inhibición de la señalización. Se puede encontrar más información sobre PTPRS, por ejemplo, en Shen *et al.*, Science 23 octubre de 2009, 592-596; Coles *et al.*, Science 22 abril de 2011, 484-488.

Como se demuestra en el presente documento, el dominio extracelular de PTPRS se une a proteoglicanos en la matriz extracelular. Esta unión a diferentes proteoglicanos da como resultado diferencias en las funciones intracelulares de la fosfatasa. Este mecanismo mediado por PTPRS de regulación de la señalización intracelular por la matriz extracelular se denomina en el presente documento "interruptor de proteoglicanos". Como se demuestra en el presente documento, el interruptor de proteoglicanos regula de una manera dependiente de PTPRS la adhesión y la invasividad de FLS. La interferencia con el interruptor de proteoglicanos *in vivo* conduce a una disminución de la gravedad de la artritis en un modelo de ratón. Por lo tanto, como se demuestra en el presente documento, PTPRS es un regulador clave del comportamiento destructivo de RA FLS.

Los términos "sujeto", "paciente", "individuo", etc. no pretenden ser limitantes y pueden intercambiarse generalmente. Es decir, un individuo descrito como un "paciente" no necesariamente tiene una enfermedad determinada, sino que simplemente busca asesoramiento médico.

Un "control" o "control estándar" se refiere a una muestra, medición, o valor que sirve como referencia, normalmente una referencia conocida, para la comparación con una muestra de prueba, medición, o valor. Por ejemplo, se puede tomar una muestra de prueba de un paciente que se sospecha que tiene una enfermedad determinada (por ejemplo, una enfermedad inmune, enfermedad inmune inflamatoria, cáncer, enfermedad infecciosa, enfermedad inmune, u otra enfermedad) y compararla con un individuo normal conocido (no enfermo) (por ejemplo, un sujeto de control estándar). Un control estándar también puede representar una medición o valor promedio obtenido de una población de individuos similares (por ejemplo, sujetos de control estándar) que no tienen una enfermedad determinada (es decir, población de control estándar), por ejemplo, individuos sanos con antecedentes médicos similares, la misma edad, peso, etc. También se puede obtener un valor de control estándar del mismo individuo, por ejemplo, de una muestra obtenida anteriormente del paciente antes de la aparición de la enfermedad. Un experto reconocerá que se pueden diseñar controles estándar para la evaluación de cualquier número de parámetros (por ejemplo, niveles de ARN, niveles de proteínas, tipos de células específicas, fluidos corporales específicos, tejidos específicos, sinoviocitos, líquido sinovial, tejido sinovial, sinoviocitos de tipo fibroblasto, sinoviocitos de tipo macrófago, etc.).

Un experto en la técnica comprenderá qué controles estándar son los más apropiados en una situación dada y podrá analizar los datos basándose en comparaciones con los valores de control estándar. Los controles estándar también son valiosos para determinar la significancia (por ejemplo, significancia estadística) de los datos. Por ejemplo, si los valores de un parámetro dado varían ampliamente en los controles estándar, la variación en las muestras de prueba no se considerará significativa.

Los términos "dosis" y "dosificación" se usan indistintamente en el presente documento. Una dosis se refiere a la

cantidad de principio activo que se le da a un individuo en cada administración. La dosis variará dependiendo de varios factores, incluyendo el intervalo de dosis normales para una terapia determinada, la frecuencia de administración; tamaño y tolerancia del individuo; gravedad de la afección; riesgo de efectos secundarios; y la vía de administración. Un experto reconocerá que la dosis puede modificarse dependiendo de los factores anteriores o basándose en el progreso terapéutico. El término "forma de dosificación" se refiere al formato particular del producto farmacéutico o la composición farmacéutica, y depende de la vía de administración. Por ejemplo, una forma de dosificación puede estar en forma líquida para nebulización, por ejemplo, para inhalantes, en un comprimido o líquido, por ejemplo, para administración oral, o una solución salina, por ejemplo, para inyección.

Como se usan en el presente documento, los términos "tratar" y "prevenir" pueden referirse a cualquier retraso en el inicio, reducción en la frecuencia o gravedad de los síntomas, mejora de los síntomas, mejora en la comodidad o función del paciente (por ejemplo, función articular), disminución en la gravedad de la patología, etc. El efecto del tratamiento se puede comparar con un individuo o grupo de individuos que no reciben un tratamiento determinado, o con el mismo paciente antes o después del cese del tratamiento. El término "prevenir" generalmente se refiere a una disminución en la aparición de una enfermedad determinada (por ejemplo, una enfermedad autoinmune, autoinmune inflamatoria, cáncer, infecciosa, inmune u otra enfermedad) o síntomas de enfermedad en un paciente. Como se ha indicado anteriormente, la prevención puede ser completa (sin síntomas detectables) o parcial, de manera que se observen menos síntomas de los que probablemente aparecerían sin tratamiento.

Por "dosis o cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en el presente documento, se entiende una dosis que produce los efectos para los que se administra (por ejemplo, tratar o prevenir una enfermedad). La dosis y la formulación exactas dependerán del propósito del tratamiento, y un experto en la técnica podrá determinarlas usando técnicas conocidas (véanse, por ejemplo, Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (vols. 1-3, 1992); Lloyd, *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding* (1999); Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 20ª edición, Gennaro, Editor (2003), y Pickar, *Dosage Calculations* (1999)). Por ejemplo, para un determinado parámetro, una cantidad terapéuticamente eficaz mostrará un aumento o disminución de al menos el 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 40 %, 50 %, 60 %, 75 %, 80 %, 90 %, o al menos el 100 %. La eficacia terapéutica también se puede expresar como aumento o disminución "del número de veces". Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz puede tener al menos un efecto de 1,2 veces, 1,5 veces, 2 veces, 5 veces o más sobre un control estándar. Una dosis o cantidad terapéuticamente eficaz puede mejorar uno o más síntomas de una enfermedad. Una dosis o cantidad terapéuticamente eficaz puede prevenir o retrasar la aparición de una enfermedad o uno o más síntomas de una enfermedad cuando el efecto por el que se administra es tratar a una persona que corre el riesgo de desarrollar la enfermedad.

El término "diagnóstico" se refiere a una probabilidad relativa de que una enfermedad (por ejemplo, una enfermedad autoinmune, autoinmune inflamatoria, cáncer, infecciosa, inmune u otra), esté presente en el sujeto. De manera similar, el término "pronóstico" se refiere a una probabilidad relativa de que un determinado resultado futuro pueda tener lugar en el sujeto con respecto a una patología. Por ejemplo, en el contexto de la presente invención, el pronóstico puede referirse a la probabilidad de que un individuo desarrolle una enfermedad (por ejemplo, una enfermedad autoinmune, autoinmune inflamatoria, cáncer, infecciosa, inmune u otra), o la probable gravedad de la enfermedad (por ejemplo, duración de la enfermedad). Los términos no pretenden ser absolutos, como apreciará cualquier experto en el campo del diagnóstico médico.

"Ácido nucleico" u "oligonucleótido" o "polinucleótido" o equivalentes gramaticales usados en el presente documento significa al menos dos nucleótidos unidos covalentemente entre sí. El término "ácido nucleico" incluye ADN, ARN monocatenario, bicatenario o multcatenario y análogos (derivados) de los mismos. Los oligonucleótidos son típicamente de aproximadamente 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 25, 30, 40, 50 o más nucleótidos de longitud, hasta aproximadamente 100 nucleótidos de longitud. Los ácidos nucleicos y polinucleótidos son polímeros de cualquier longitud, incluyendo longitudes más largas, por ejemplo, 200, 300, 500, 1000, 2000, 3000, 5000, 7000, 10.000, etc. Los ácidos nucleicos en el presente documento pueden contener enlaces fosfodiéster. Los análogos de ácido nucleico pueden tener esqueletos alternativos, que comprenden, por ejemplo, enlaces fosforamidato, fosforotioato, fosforoditioato u O-metilfosforamidita (véase Eckstein, *Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach*, Oxford University Press); y esqueletos y enlaces peptídicos de ácidos nucleicos. Otros ácidos nucleicos análogos incluyen aquellos con esqueletos positivos; esqueletos no iónicos, esqueletos no ribosa, incluyendo los descritos en las Patentes de EE.UU. N.º 5.235.033 y 5.034.506, y Capítulos 6 y 7, ASC Symposium Series 580, *Carbohydrate Modifications in Antisense Research*, Sanghui y Cook, eds. Los ácidos nucleicos que contienen uno o más azúcares carbocíclicos también se incluyen dentro de una definición de ácidos nucleicos. Las modificaciones del esqueleto de ribosa-fosfato se pueden realizar por diversas razones, por ejemplo, para aumentar la estabilidad y la semivida de dichas moléculas en entornos fisiológicos o como sondas en un biochip. Pueden prepararse mezclas de ácidos nucleicos de origen natural y análogos; como alternativa, pueden prepararse mezclas de diferentes análogos de ácidos nucleicos y mezclas de ácidos nucleicos de origen natural y análogos.

Una secuencia de ácido nucleico particular también incluye "variantes de corte y empalme". De manera similar, una proteína particular codificada por un ácido nucleico abarca cualquier proteína codificada por una variante de corte y empalme de ese ácido nucleico. Las "variantes de corte y empalme", como sugiere el nombre, son productos de corte y empalme alternativos de un gen. Después de la transcripción, puede cortarse y empalmarse un transcrito de

ácido nucleico inicial de modo que diferentes productos de corte y empalme de ácido nucleico (alternativos) codifiquen diferentes polipéptidos. Los mecanismos para la producción de variantes de corte y empalme varían, pero incluyen corte y empalme alternativo de exones. Los polipéptidos alternativos derivados del mismo ácido nucleico por transcripción de lectura también están incluidos en esta definición. Cualquier producto de una reacción de corte y empalme, incluidas las formas recombinantes de los productos de corte y empalme, se incluye en esta definición. Un ejemplo de variantes de corte y empalme de canales de potasio se analiza en Leicher, *et al.*, J. Biol. Chem. 273(52):35095-35101 (1998).

El ácido nucleico está "unido operativamente" cuando se coloca en una relación funcional con otra secuencia de ácido nucleico. Por ejemplo, el ADN de una presecuencia o líder secretor está unido operativamente al ADN de un polipéptido si se expresa como una preproteína que participa en la secreción del polipéptido; un promotor o potenciador está unido operativamente a una secuencia codificante si afecta a la transcripción de la secuencia; o un sitio de unión al ribosoma está unido operativamente a una secuencia codificante si se posiciona de manera que facilite la traducción. Generalmente, "unido operativamente" significa que las secuencias de ADN que se unen están próximas entre sí y, en el caso de un líder secretor, contiguas y en fase de lectura. Sin embargo, los potenciadores no tienen que ser contiguos. La unión se logra mediante ligadura en sitios de restricción convenientes. Si dichos sitios no existen, los adaptadores o enlazadores de oligonucleótidos sintéticos se utilizan de acuerdo con la práctica convencional.

El término "sonda" o "cebador", como se usa en el presente documento, se define como uno o más fragmentos de ácido nucleico cuya hibridación específica con una muestra puede detectarse. Una sonda o cebador puede tener cualquier longitud dependiendo de la técnica particular para la que se utilizará. Por ejemplo, los cebadores de PCR tienen generalmente entre 10 y 40 nucleótidos de longitud, mientras que las sondas de ácido nucleico para, por ejemplo, una transferencia de Southern, pueden tener una longitud de más de cien nucleótidos. La sonda puede estar sin marcar o marcada como se describe a continuación para que se pueda detectar su unión a la diana o muestra. La sonda se puede producir a partir de una fuente de ácidos nucleicos a partir de una o más porciones particulares (preseleccionadas) de un cromosoma, por ejemplo, uno o más clones, un cromosoma completo aislado o un fragmento de cromosoma, o una colección de productos de amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La longitud y la complejidad del ácido nucleico fijado sobre el elemento diana no son importantes para la invención. Un experto en la técnica puede ajustar estos factores para proporcionar una hibridación y una producción de señales óptimas para un procedimiento de hibridación dado, y para proporcionar la resolución requerida entre diferentes genes o ubicaciones genómicas.

La sonda también pueden ser ácidos nucleicos aislados inmovilizados sobre una superficie sólida (por ejemplo, portaobjetos de nitrocelulosa, vidrio, cuarzo, sílice fundida), como en una matriz. La sonda puede ser miembro de una serie de ácidos nucleicos como se describe, por ejemplo, en el documento WO 96/17958. También se pueden usar técnicas capaces de producir matrices de alta densidad para este propósito (véanse, por ejemplo, Fodor (1991) Science 767-773; Johnston (1998) Curr. Biol. 8: R171-R174; Schummer (1997) Biotechniques 23: 1087-1092; Kern (1997) Biotechniques 23: 120-124; Patente de EE.UU. N.º 5.143.854).

Una "sonda u oligonucleótido de ácido nucleico marcado" es uno que está unido, ya sea covalentemente, a través de un enlazador o un enlace químico, o no covalentemente, a través de enlaces iónicos, de van der Waals, electrostáticos o de hidrógeno de manera que la presencia de la sonda pueda detectarse detectando la presencia del marcador unido a la sonda. Como alternativa, un método que usa interacciones de alta afinidad puede lograr los mismos resultados cuando uno de un par de compañeros de unión se une al otro, por ejemplo, biotina, estreptavidina.

Los términos "idéntica" o "identidad" de secuencia porcentual, en el contexto de dos o más ácidos nucleicos o secuencias polipeptídicas, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o tienen un porcentaje especificado de residuos de aminoácidos o nucleótidos que son iguales (es decir, aproximadamente un 60 % de identidad, preferiblemente un 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o mayor identidad en una región específica, en comparación y en alineamiento para obtener la máxima correspondencia sobre una ventana de comparación o región designada) según se mide usando un algoritmo de comparación de secuencias BLAST o BLAST 2.0 con los parámetros predeterminados descritos a continuación, o mediante alineamiento manual e inspección visual (véase, por ejemplo, el sitio web de NCBI en ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/ o similares). Entonces se dice que dichas secuencias son "sustancialmente idénticas". Esta definición también se refiere, o puede aplicarse, al complemento de una secuencia de prueba. La definición también incluye secuencias que tienen delecciones y/o adiciones, así como aquellas que tienen sustituciones. Los algoritmos empleados pueden tener en cuenta los huecos y similares.

Para las comparaciones de secuencias, típicamente una secuencia actúa como una secuencia de referencia, con la que se comparan las secuencias de prueba. Cuando se usa un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias de prueba y de referencia se introducen en un ordenador, se designan las coordenadas de subsecuencia, en caso necesario, y se designan los parámetros del programa del algoritmo de secuencias. Preferiblemente, se pueden usar parámetros de programa predeterminados, o se pueden designar parámetros alternativos. A continuación, el algoritmo de comparación de secuencias calcula el porcentaje de identidades de

secuencia para las secuencias de prueba con respecto a la secuencia de referencia, basándose en los parámetros del programa.

Una "ventana de comparación", como se usa en el presente documento, incluye la referencia a un segmento de una cualquiera del número de posiciones contiguas seleccionadas del grupo que consiste en de 20 a 600, usualmente, de aproximadamente 50 a aproximadamente 200, más normalmente, de aproximadamente 100 a aproximadamente 150 en el que se puede comparar una secuencia con una secuencia de referencia del mismo número de posiciones contiguas una vez alineadas las dos secuencias de manera óptima. Se conocen bien en la técnica métodos de alineamiento de secuencias para comparación. Se puede realizar un alineamiento óptimo de secuencias para la comparación, por ejemplo, por el algoritmo de homología local de Smith y Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2:482 (1981), mediante el algoritmo de alineamiento de homología de Needleman y Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48:443 (1970), mediante la búsqueda del método de similitud de Pearson y Lipman, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. EE.UU.* 85:2444 (1988), mediante implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el paquete informático de Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), o mediante alineamiento manual e inspección visual (véase, por ejemplo, *Current Protocols in Molecular Biology* (Ausubel *et al.*, eds. 1995 complemento)).

Un ejemplo preferido de algoritmo que es adecuado para determinar el porcentaje de identidad de secuencia y similitud de secuencia son los algoritmos BLAST y BLAST 2.0, que se describen en Altschul *et al.*, *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402 (1977) y Altschul *et al.*, *J. Mol. Biol.* 215:403-410 (1990), respectivamente.

La expresión "hibrida selectivamente (o específicamente) con" se refiere a la unión, duplexación o hibridación de una molécula solo con una secuencia de nucleótidos particular con una afinidad más alta, por ejemplo, en condiciones más rigurosas, que con otras secuencias de nucleótidos (por ejemplo, ADN o ARN celular total o de biblioteca).

La expresión "condiciones de hibridación rigurosas" se refiere a las condiciones en las que un ácido nucleico se hibridará con su secuencia diana, típicamente en una mezcla compleja de ácidos nucleicos, pero no con otras secuencias. Las condiciones rigurosas dependen de la secuencia y serán distintas en circunstancias distintas. Las secuencias más largas se hibridan específicamente a temperaturas más altas. Se encuentra una guía extensa para la hibridación de ácidos nucleicos en Tijssen, *Techniques in Biochemistry and Molecular Biology - Hybridization with Nucleic Probes*, "Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid assays" (1993). Generalmente, las condiciones de hibridación rigurosas se seleccionan para que sean aproximadamente 5-10 °C más bajas que el punto de fusión térmico (Tm) para la secuencia específica a un pH de fuerza iónica definido. La Tm es la temperatura (bajo una fuerza iónica definida, pH y concentración nucleica) a la que el 50 % de las sondas complementarias a la diana hibridan con la secuencia diana en equilibrio (ya que las secuencias diana están presentes en exceso, a Tm, el 50 % de las sondas están ocupadas en equilibrio). También se pueden lograr condiciones de hibridación rigurosas con la adición de agentes desestabilizadores tales como formamida. Para la hibridación selectiva o específica, una señal positiva es al menos dos veces el fondo, preferiblemente 10 veces la hibridación del fondo. Las condiciones de hibridación rigurosas ejemplares pueden ser las siguientes: formamida al 50 %, 5x SSC, y SDS al 1 %, incubación a 42 °C, o 5x SSC, SDS al 1 %, incubación a 65 °C, con lavado en 0,2x SSC, y SDS al 0,1 % a 65 °C. Las "condiciones de hibridación moderadamente rigurosas" ejemplares incluyen una hibridación en un tampón de formamida al 40 %, NaCl 1 M, SDS al 1 % a 37 °C, y un lavado en 1x SSC a 45 °C. Una hibridación positiva es al menos dos veces el fondo. Los expertos en la materia reconocerán fácilmente que se pueden utilizar condiciones alternativas de hibridación y lavado para proporcionar condiciones de rigurosidad similar. Se proporcionan pautas adicionales para determinar los parámetros de hibridación en numerosas referencias, por ejemplo, y *Current Protocols in Molecular Biology*, ed. Ausubel, *et al.*, John Wiley & Sons.

Los ácidos nucleicos pueden ser sustancialmente idénticos si los polipéptidos que codifican son sustancialmente idénticos. Esto sucede, por ejemplo, cuando se crea una copia de un ácido nucleico usando la máxima degeneración de codones permitida por el código genético. En dichos casos, los ácidos nucleicos se hibridan típicamente en condiciones de hibridación moderadamente rigurosas.

Un "ácido nucleico inhibidor" es un ácido nucleico (por ejemplo, ADN, ARN, polímero de análogos de nucleótidos) que es capaz de unirse a un ácido nucleico diana (por ejemplo, un ARNm traducible a PTPRS) y reducir la transcripción del ácido nucleico diana (por ejemplo, ARNm a partir de ADN), o reducir la traducción del ácido nucleico diana (por ejemplo, ARNm), o alterar el corte y empalme del transcrito (por ejemplo, oligo morfolino monocatenario). Un "oligo morfolino" puede denominarse alternativamente como un "ácido morfolino nucleico" y se refiere a ácidos nucleicos de ácido nucleico que contienen morfolina comúnmente conocidos en la técnica (por ejemplo, fosforamidato morfolinio oligo o un "PMO"). Véase Marcos, P., *Biochemical and Biophysical Research Communications* 358 (2007) 521-527. En algunas realizaciones, el "ácido nucleico inhibidor" es un ácido nucleico que es capaz de unirse (por ejemplo, hibridar) a un ácido nucleico diana (por ejemplo, un ARNm traducible a una RPTPS) y reducir la traducción del ácido nucleico diana. El ácido nucleico diana es o incluye una o más secuencias de ácido nucleico diana a las que se une (por ejemplo, se hibrida) el ácido nucleico inhibidor. Por lo tanto, un ácido nucleico inhibidor es típicamente o incluye una secuencia (también denominada en el presente documento como una "secuencia de ácido nucleico antisentido") que es capaz de hibridar con al menos una porción de un ácido nucleico diana en una secuencia de ácido nucleico diana. Un ejemplo de un ácido nucleico inhibidor es un ácido nucleico

antisentido. Otro ejemplo de un ácido nucleico inhibidor es siARN o ARNi (incluyendo sus derivados o precursores, tales como análogos de nucleótidos). Ejemplos adicionales incluyen shARN, miARN, shmiARN, o algunos de sus derivados o precursores. En algunas realizaciones, el ácido nucleico inhibidor es monocatenario. En otras realizaciones, el ácido nucleico inhibidor es bicatenario.

Un "ácido nucleico antisentido" es un ácido nucleico (por ejemplo, ADN, ARN o análogos de los mismos) que es al menos parcialmente complementario al menos a una porción de un ácido nucleico diana específico (por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico diana), tal como una molécula de ARNm (por ejemplo, una molécula de ARNm diana) (véase, por ejemplo, Weintraub, Scientific American, 262:40 (1990)), por ejemplo, antisentido, siARN, shARN, shmiARN, miARN (microARN). Por lo tanto, los ácidos nucleicos antisentido son capaces de hibridar (por ejemplo, hibridar selectivamente) con un ácido nucleico diana (por ejemplo, ARNm diana). En algunas realizaciones, el ácido nucleico antisentido hibrida con la secuencia de ácido nucleico diana (por ejemplo, ARNm) en condiciones rigurosas de hibridación. En algunas realizaciones, el ácido nucleico antisentido se hibrida con el ácido nucleico diana (por ejemplo, ARNm) en condiciones de hibridación moderadamente rigurosas. Los ácidos nucleicos antisentido pueden comprender nucleótidos de origen natural o nucleótidos modificados tales como, por ejemplo, fosforotioato, fosfonato de metilo y azúcar anomérico-fosfato, nucleótidos modificados por el esqueleto. Un "ácido nucleico antisentido anti-PTPRS" es un ácido nucleico antisentido que es al menos parcialmente complementario con al menos una porción de una secuencia de ácido nucleico diana, tal como una molécula de ARNm, que codifica al menos una porción de la PTPRS. Un ácido nucleico antisentido puede ser un oligo morfolino. Un oligo morfolino puede ser un ácido nucleico antisentido monocatenario, como se conoce en la técnica. Un oligo morfolino puede disminuir la expresión de proteínas de una diana, reducir la traducción del ARNm diana, reducir el inicio de la traducción del ARNm diana, o modificar el corte y empalme de la transcripción. El oligo morfolino puede conjugarse con un resto permeable a las células (por ejemplo, péptido). Los ácidos nucleicos antisentido pueden ser ácidos nucleicos monocatenarios o bicatenarios.

En la célula, los ácidos nucleicos antisentido pueden hibridar con el ARNm diana, formando una molécula bicatenaria. Los ácidos nucleicos antisentido interfieren con la traducción del ARNm, ya que la célula no traducirá un ARNm que sea bicatenario. El uso de métodos antisentido para inhibir la traducción *in vitro* de genes se conoce bien en la técnica (Marcus-Sakura, Anal. Biochem., 172:289, (1988)). Pueden usarse moléculas antisentido que se unen directamente al ADN.

Los ácidos nucleicos inhibidores pueden administrarse al sujeto usando cualquier medio apropiado conocido en la técnica, incluyendo por inyección, inhalación o ingestión oral. Otro sistema de administración adecuado es un sistema de dispersión coloidal tal como, por ejemplo, complejos de macromoléculas, nanocápsulas, microesferas, perlas y sistemas a base de lípidos, incluidas emulsiones de aceite en agua, micelas, micelas mixtas y liposomas. Un ejemplo de un sistema coloidal de esta invención es un liposoma. Los liposomas son vesículas de membrana artificial que son útiles como vehículos de administración *in vitro* e *in vivo*. Los ácidos nucleicos, incluidos el ARN y el ADN dentro de los liposomas, se administran a las células en una forma biológicamente activa (Fraleigh, *et al.*, Trends Biochem. Sci., 6:77, 1981). Los liposomas pueden dirigirse a tipos de células o tejidos específicos utilizando cualquier medio conocido en la técnica. Los ácidos nucleicos inhibidores (por ejemplo, ácidos nucleicos antisentido, oligos morfolino) pueden administrarse a una célula usando sistemas de administración permeables a las células (por ejemplo, péptidos permeables a las células). Los ácidos nucleicos inhibidores pueden administrarse a células o tejidos específicos usando vectores virales o virus.

Un "siARN" se refiere a un ácido nucleico que forma un ARN bicatenario, cuyo ARN bicatenario tiene la capacidad de reducir o inhibir la expresión de un gen o gen diana cuando el siARN está presente (por ejemplo, expresado) en la misma célula que el gen o gen diana. El siARN tiene típicamente de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 nucleótidos de longitud, más típicamente de aproximadamente 10 a aproximadamente 50 nucleótidos de longitud, más típicamente de aproximadamente 15 a aproximadamente 30 nucleótidos de longitud, mucho más típicamente aproximadamente 20-30 nucleótidos de base, o aproximadamente 20-25 o aproximadamente 24-29 nucleótidos de longitud, por ejemplo, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleótidos de longitud. Las moléculas de siARN y los métodos para generarlas se describen en, por ejemplo, Bass, 2001, Nature, 411, 428-429; Elbashir *et al.*, 2001, Nature, 411, 494-498; los documentos WO 00/44895; WO 01/36646; WO 99/32619; WO 00/01846; WO 01/29058; WO 99/07409; y WO 00/44914. Una molécula de ADN que transcribe dsARN o siARN (por ejemplo, como un dúplex de horquilla) también proporciona ARNi. Las moléculas de ADN para transcribir dsARN se describen en la patente de EE.UU. N.º 6.573.099 y en las publicaciones de solicitud de patente de EE.UU. N.º 2002/0160393 y 2003/0027783, y Tuschl y Borkhardt, Molecular Interventions, 2:158 (2002).

El siARN se puede administrar directamente o se pueden usar vectores de expresión de siARN para inducir ARNi que tienen diferentes criterios de diseño. Un vector puede tener insertadas dos repeticiones invertidas separadas por una secuencia espaciadora corta y que termina con una cadena de T que sirven para terminar la transcripción.

La construcción de vectores adecuados que contienen las secuencias de ácido nucleico emplea técnicas estándar de ligadura y restricción, que se conocen bien en la técnica (véase Maniatis *et al.*, en Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Nueva York (1982)). Los plásmidos aislados, las secuencias de ADN o los oligonucleótidos sintetizados se escinden, se adaptan y se vuelven a ligar en la forma deseada.

"Muestra biológica" o "muestra" se refieren a materiales obtenidos o derivados de un sujeto o paciente. Una muestra biológica incluye secciones de tejidos, tales como muestras de biopsia y autopsia, y secciones congeladas tomadas con fines histológicos. Dichas muestras incluyen fluidos corporales tales como sangre y fracciones o productos de sangre (por ejemplo, suero, plasma, plaquetas, glóbulos rojos y similares), esputo, tejido, células cultivadas (por ejemplo, cultivos primarios, explantes y células transformadas), heces, orina, líquido sinovial, tejido articular, tejido sinovial, sinoviocitos, sinoviocitos de tipo fibroblasto, sinoviocitos de tipo macrófagos, células inmunes, células hematopoyéticas, fibroblastos, macrófagos, linfocitos T, etc. Una muestra biológica se obtiene típicamente de un organismo eucariota, tal como un mamífero, tal como un primate, por ejemplo, un chimpancé o un ser humano; vaca; perro; gato; un roedor, por ejemplo, cobaya, rata, ratón; conejo; o un ave; reptil; o pez.

Una "biopsia" se refiere al proceso de extraer una muestra de tejido para evaluación de diagnóstico o pronóstico, y al propio espécimen de tejido. Cualquier técnica de biopsia conocida en la técnica puede aplicarse a los métodos de diagnóstico y pronóstico descritos en el presente documento. La técnica de biopsia aplicada dependerá del tipo de tejido a evaluar (es decir, próstata, ganglios linfáticos, hígado, médula ósea, glóbulo rojo, tejido articular, tejido sinovial, sinoviocitos, sinoviocitos de tipo fibroblasto, sinoviocitos de tipo macrófagos, células inmunes, células hematopoyéticas, fibroblastos, macrófagos, linfocitos T, etc.), entre otros factores. Las técnicas de biopsia representativas incluyen biopsia por escisión, biopsia por incisión, biopsia con aguja, biopsia quirúrgica y biopsia de médula ósea. Las técnicas de biopsia se analizan, por ejemplo, en Harrison's Principles of Internal Medicine, Kasper, *et al.*, eds., 16ª ed., 2005, Capítulo 70, y en toda la Parte V.

Los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína" se usan indistintamente en el presente documento para referirse a un polímero de residuos de aminoácidos. Los términos se aplican a polímeros de aminoácidos en los que uno o más residuos de aminoácidos son un mimético químico artificial de un aminoácido de origen natural correspondiente, así como polímeros de aminoácidos de origen natural y polímeros de aminoácidos de origen no natural.

El término "aminoácido" se refiere a aminoácidos sintéticos y de origen natural, así como a análogos de aminoácidos y miméticos de aminoácidos que funcionan de una manera similar a los aminoácidos de origen natural. Los aminoácidos de origen natural son aquellos codificados por el código genético, así como aquellos modificados que están modificados posteriormente, por ejemplo, hidroxiprolina, γ -carboxiglutamato, y O-fosfoserina. Los análogos de aminoácidos se refieren a compuestos que tienen la misma estructura básica que un aminoácido de origen natural, es decir, un carbono α que está unido a un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino, y un grupo R, por ejemplo, homoserina, norleucina, sulfóxido de metionina, metionina metil sulfonio. Dichos análogos tienen grupos R modificados (por ejemplo, norleucina) o esqueletos peptídicos modificados, pero conservan la misma estructura química básica que un aminoácido de origen natural. Los miméticos de aminoácidos se refieren a compuestos químicos que tienen una estructura que es diferente de la estructura química general de un aminoácido, pero que funciona de una manera similar a un aminoácido de origen natural.

Se puede hacer referencia a los aminoácidos en el presente documento por sus símbolos de tres letras comúnmente conocidos o por los símbolos de una letra recomendados por la Comisión de Nomenclatura Bioquímica IUPAC-IUB. Asimismo, se puede hacer referencia a los nucleótidos por sus códigos de una sola letra comúnmente aceptados.

Las "variantes modificadas de forma conservativa" se aplican tanto a las secuencias de aminoácidos como a las de ácidos nucleicos. Con respecto a secuencias particulares de ácido nucleico, variantes modificadas conservativamente modificadas se refiere a aquellos ácidos nucleicos que codifican secuencias de aminoácidos idénticas o esencialmente idénticas, o donde el ácido nucleico no codifica una secuencia de aminoácidos, de secuencias esencialmente idénticas. Debido a la degeneración del código genético, un gran número de ácidos nucleicos funcionalmente idénticos codifican cualquier proteína dada. Por ejemplo, los codones GCA, GCC, GCG y GCU codifican todos el aminoácido alanina. Por lo tanto, en cada posición donde una alanina se especifica por un codón, el codón puede alterarse en cualquiera de los codones correspondientes descritos sin alterar el polipéptido codificado. Dichas variaciones de ácidos nucleicos son "variaciones silenciosas", que son una especie de variaciones modificadas conservativamente. Cada secuencia de ácido nucleico en el presente documento que codifica un polipéptido también describe cada posible variación silenciosa del ácido nucleico. Un experto reconocerá que cada codón en un ácido nucleico (excepto AUG que es normalmente el único codón para la metionina, y TGG, que es normalmente el único codón para el triptófano) puede modificarse para dar como resultado una molécula funcionalmente idéntica. Por consiguiente, cada variación silenciosa de un ácido nucleico que codifica un polipéptido está implícita en cada secuencia descrita con respecto al producto de expresión, pero no con respecto a las secuencias sonda reales.

En cuanto a las secuencias de aminoácidos, un experto reconocerá que las sustituciones individuales, delecciones o adiciones a un ácido nucleico, péptido, polipéptido o secuencia de proteínas que altera, añade o elimina un solo aminoácido o un pequeño porcentaje de aminoácidos en la secuencia codificada es una variante conservativamente modificada donde la alteración da como resultado la sustitución de un aminoácido con un aminoácido químicamente similar. Las tablas de sustituciones conservativas que proporcionan aminoácidos funcionalmente similares son bien conocidas en la técnica. Dichas variantes conservativamente modificadas son adicionales y no excluyen variantes polimórficas, homólogos entre especies y alelos de la invención.

Los siguientes ocho grupos contienen cada uno aminoácidos que son sustituciones conservativas entre sí: 1) Alanina (A), Glicina (G); 2) Ácido aspártico (D), Ácido glutámico (E); 3) Asparagina (N), Glutamina (Q); 4) Arginina (R), Lisina (K); 5) Isoleucina (I), Leucina (L), Metionina (M), Valina (V); 6) Fenilalanina (F), Tirosina (Y), Triptófano (W); 7) Serina (S), Treonina (T); y 8) Cisteína (C), Metionina (M) (véase, por ejemplo, Creighton, *Proteins* (1984)).

Un "marcador" o un "resto detectable" es una composición detectable por medios espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, inmunoquímicos, químicos, u otros medios físicos. Por ejemplo, marcadores útiles incluyen ³²P, colorantes fluorescentes, reactivos densos en electrones, enzimas (por ejemplo, como se usa comúnmente en un ELISA), biotina, digoxigenina o haptenos y proteínas u otras entidades que pueden hacerse detectables, por ejemplo, incorporando un radiomarcador en un péptido o anticuerpo específicamente reactivo con un péptido diana. Puede emplearse cualquier método conocido en la técnica para conjugar un anticuerpo al marcador, por ejemplo, utilizando métodos descritos en Hermanson, *Bioconjugate Techniques* 1996, Academic Press, Inc., San Diego.

El término "recombinante" cuando se usa con referencia, por ejemplo, a una célula, o ácido nucleico, proteína, o vector, indica que la célula, ácido nucleico, proteína o vector se ha modificado por o es el resultado de métodos de laboratorio. Por lo tanto, por ejemplo, las proteínas recombinantes incluyen proteínas producidas por métodos de laboratorio. Las proteínas recombinantes pueden incluir residuos de aminoácidos que no se encuentran dentro de la forma nativa (no recombinante) de la proteína o pueden incluir residuos de aminoácidos que se han modificado, por ejemplo, marcados.

El término "heterólogo", cuando se usa con referencia a porciones de un ácido nucleico, indica que el ácido nucleico comprende dos o más subsecuencias que no se encuentran en la misma relación entre sí en la naturaleza. Por ejemplo, el ácido nucleico se produce típicamente de forma recombinante, que tiene dos o más secuencias de genes no relacionados dispuestas para preparar un nuevo ácido nucleico funcional, por ejemplo, un promotor de una fuente y una región codificante de otra fuente. De manera similar, una proteína heteróloga indica que la proteína comprende dos o más subsecuencias que no se encuentran en la misma relación entre sí en la naturaleza (por ejemplo, una proteína de fusión).

"Anticuerpo" se refiere a un polipéptido que comprende una región marco de un gen de inmunoglobulina o fragmentos del mismo que se une a y reconoce específicamente un antígeno. Los genes de inmunoglobulina reconocidos incluyen los genes de región constante kappa, lambda, alfa, gamma, delta, épsilon y mu, así como una miríada de genes de las regiones variables de inmunoglobulinas. Las cadenas ligeras se clasifican en kappa o lambda. Las cadenas pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta o épsilon, que a su vez definen las clases de inmunoglobulina, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente. Típicamente, la región de unión al antígeno de un anticuerpo será más crítica en la especificidad y afinidad de unión. En algunas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos pueden derivarse de diferentes organismos, incluyendo seres humanos, ratones, ratas, hámsteres, camellos, etc. Los anticuerpos de la invención pueden incluir anticuerpos que se han modificado o mutado en una o más posiciones de aminoácidos para mejorar o modular una función deseada del anticuerpo (por ejemplo, glucosilación, expresión, reconocimiento de antígeno, funciones efectoras, unión de antígeno, especificidad, etc.).

Una unidad estructural de inmunoglobulina (anticuerpo) ejemplar comprende un tetrámero. Cada tetrámero está compuesto por dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas, teniendo cada par una cadena "ligera" (aproximadamente 25 kD) y una cadena "pesada" (aproximadamente 50-70 kD). El extremo N de cada cadena define una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos principalmente responsable del reconocimiento de antígenos. Los términos cadena ligera variable (VL) y cadena pesada variable (VH) se refieren a estas cadenas ligera y pesada respectivamente.

Los anticuerpos existen, por ejemplo, como inmunoglobulinas intactas, o en forma de numerosos fragmentos bien caracterizados producidos por digestión con diversas peptidasas. Por lo tanto, por ejemplo, la pepsina digiere un anticuerpo por debajo de los enlaces disulfuro en la región bisagra para producir F(ab')₂, un dímero de Fab que a su vez es una cadena ligera unida a VH-CH1 mediante un enlace disulfuro. El F(ab')₂ se puede reducir en condiciones suaves para romper la unión disulfuro en la región bisagra, convirtiendo así el dímero F(ab')₂ en un monómero Fab'. El monómero Fab' es esencialmente Fab con parte de la región bisagra (véase *Fundamental Immunology* (Paul ed., 3ª ed. 1993). Aunque varios fragmentos de anticuerpos se definen en términos de la digestión de un anticuerpo intacto, un experto apreciará que dichos fragmentos pueden sintetizarse de novo ya sea químicamente o usando metodología de ADN recombinante. Por lo tanto, el término anticuerpo, como se usa en el presente documento, también incluye fragmentos de anticuerpos producidos por la modificación de anticuerpos completos, o aquellos sintetizados de novo usando metodologías de ADN recombinante (por ejemplo, Fv monocatenario) o los identificados usando bibliotecas de presentación de fagos (véase, por ejemplo, McCafferty *et al.*, *Nature* 348:552-554 (1990)).

Para la preparación de anticuerpos adecuados para su uso de acuerdo con la invención, por ejemplo, anticuerpos recombinantes, monoclonales o policlonales, se pueden usar muchas técnicas conocidas en la técnica (véanse, por ejemplo, Kohler y Milstein, *Nature* 256:495-497 (1975); Kozbor *et al.*, *Immunology Today* 4: 72 (1983); Cole *et al.*,

págs. 77-96 en *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc. (1985); Coligan, *Current Protocols in Immunology* (1991); Harlow y Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual* (1988); y Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice* (2ª ed. 1986)). Los genes que codifican las cadenas pesada y ligera de un anticuerpo de interés pueden clonarse a partir de una célula, por ejemplo, los genes que codifican un anticuerpo monoclonal pueden clonarse a partir de un hibridoma y usarse para producir un anticuerpo monoclonal recombinante. También se pueden elaborar bibliotecas de genes que codifican cadenas pesadas y ligeras de anticuerpos monoclonales a partir de hibridomas o células plasmáticas. Las combinaciones aleatorias de los productos génicos de cadena pesada y ligera generan un gran conjunto de anticuerpos con diferente especificidad antigénica (véase, por ejemplo, Kuby, *Immunology* (3ª ed. 1997)). Las técnicas para la producción de anticuerpos monocatenarios o anticuerpos recombinantes (Patente de Estados Unidos 4.946.778, Patente de Estados Unidos N.º 4.816.567) pueden adaptarse para producir anticuerpos contra polipéptidos de esta invención. Además, se pueden usar ratones transgénicos u otros organismos tales como otros mamíferos, para expresar anticuerpos humanizados o humanos (véanse, por ejemplo, las Patentes de EE.UU. N.º 5.545.807; 5.545.806; 5.569.825; 5.625.126; 5.633.425; 5.661.016, Marks *et al.*, *Bio/Technology* 10:779-783 (1992); Lonberg *et al.*, *Nature* 368:856-859 (1994); Morrison, *Nature* 368:812-13 (1994); Fishwild *et al.*, *Nature Biotechnology* 14:845-51 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnology* 14:826 (1996); y Lonberg y Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13:65-93 (1995)). Como alternativa, la tecnología de presentación en fagos puede usarse para identificar anticuerpos y fragmentos Fab heteroméricos que se unen específicamente a antígenos seleccionados (véanse, por ejemplo, McCafferty *et al.*, *Nature* 348:552-554 (1990); Marks *et al.*, *Biotechnology* 10:779-783 (1992)). Los anticuerpos también pueden hacerse biespecíficos, es decir, capaces de reconocer dos antígenos diferentes (véase, por ejemplo, el documento WO 93/08829, Traunecker *et al.*, *EMBO J.* 10:3655-3659 (1991); y Suresh *et al.*, *Methods in Enzymology* 121:210 (1986)). Los anticuerpos también pueden ser heteroconjugados, por ejemplo, dos anticuerpos unidos covalentemente, o inmunotoxinas (véanse, por ejemplo, la Patente de EE.UU. N.º 4.676.980, los documentos WO 91/00360; WO 92/200373; y EP 03089).

Se conocen bien en la técnica métodos para humanizar o primatizar anticuerpos no humanos (por ejemplo, Patentes de EE.UU. N.º 4.816.567; 5.530.101; 5.859.205; 5.585.089; 5.693.761; 5.693.762; 5.777.085; 6.180.370; 6.210.671; y 6.329.511; WO 87/02671; solicitud de patente EP 0173494; Jones *et al.* (1986) *Nature* 321:522; y Verhoyen *et al.* (1988) *Science* 239:1534). Se describen adicionalmente anticuerpos humanizados en, por ejemplo, Winter y Milstein (1991) *Nature* 349:293. Generalmente, un anticuerpo humanizado tiene uno o más residuos de aminoácidos introducidos en él de una fuente que no es humana. Estos residuos de aminoácidos no humanos a menudo se denominan residuos importados, que típicamente se toman de un dominio variable de importación. La humanización se puede realizar esencialmente siguiendo el método de Winter y colaboradores (véanse, por ejemplo, Morrison *et al.*, *PNAS USA*, 81:6851-6855 (1984), Jones *et al.*, *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-327 (1988); Morrison y Oi, *Adv. Immunol.*, 44:65-92 (1988), Verhoeven *et al.*, *Science* 239:1534-1536 (1988) y Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992), Padlan, *Molec. Immun.*, 28:489-498 (1991); Padlan, *Molec. Immun.*, 31(3):169-217 (1994)), sustituyendo las CDR o secuencias de CDR de roedor por las secuencias correspondientes de un anticuerpo humano. Por consiguiente, dichos anticuerpos humanizados son anticuerpos quiméricos (patente de EE.UU. N.º 4.816.567), donde sustancialmente menos de un dominio variable humano intacto ha sido sustituido por la secuencia correspondiente de una especie no humana. En la práctica, los anticuerpos humanizados son típicamente anticuerpos humanos en los que algunos residuos de CDR y posiblemente algunos residuos de FR se sustituyen por residuos de sitios análogos en anticuerpos de roedores. Por ejemplo, los polinucleótidos que comprenden una primera secuencia que codifica las regiones marco de inmunoglobulina humanizada y un segundo conjunto de secuencias que codifica las regiones determinantes de complementariedad de inmunoglobulina deseadas, pueden producirse sintéticamente o combinando segmentos apropiados de ADNc y ADN genómico. Las secuencias de ADN de la región constante humana pueden aislarse de acuerdo con procedimientos bien conocidos de una diversidad de células humanas.

Un "anticuerpo quimérico" es una molécula de anticuerpo en la que (a) la región constante, o una porción de la misma, está alterada, reemplazada o intercambiada de tal manera que el sitio de unión a antígeno (región variable) se une a una región constante de una clase diferente o alterada, una función y/o una especie efectora, o una molécula completamente diferente que confiere nuevas propiedades al anticuerpo quimérico, por ejemplo, una enzima, toxina, hormona, factor de crecimiento, fármaco, etc.; o (b) la región variable, o una porción de la misma, está alterada, reemplazada o intercambiada con una región variable que tiene una especificidad por el antígeno diferente o alterada. Los anticuerpos preferidos de, y para su uso de acuerdo con la invención, incluyen anticuerpos monoclonales humanizados y/o quiméricos.

Las técnicas para conjugar agentes terapéuticos con anticuerpos son bien conocidas (véanse, por ejemplo, Arnon *et al.*, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", en *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy*, Reisfeld *et al.* (eds.), págs. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom *et al.*, "Antibodies For Drug Delivery" in *Controlled Drug Delivery* (2ª Ed.), Robinson *et al.* (eds.), págs. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review" en *Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications*, Pinchera *et al.* (eds.), págs. 475-506 (1985); y Thorpe *et al.*, "The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates", *Immunol. Rev.*, 62:119-58 (1982)).

La expresión "se une específicamente (o selectivamente)" a un anticuerpo o "inmunorreactivo específicamente (o selectivamente) con", cuando se refiere a una proteína o péptido, se refiere a una reacción de unión que es

determinante de la presencia de la proteína, a menudo en una población heterogénea de proteínas y otros productos biológicos. Por lo tanto, en condiciones de inmunoensayo designadas, los anticuerpos especificados se unen a una proteína particular al menos dos veces el fondo y más típicamente más de 10 a 100 veces el fondo. La unión específica a un anticuerpo en dichas condiciones requiere un anticuerpo que se seleccione por su especificidad por una proteína particular. Por ejemplo, se pueden seleccionar anticuerpos policlonales para obtener solo aquellos anticuerpos policlonales que son específicamente inmunorreactivos con el antígeno seleccionado y no con otras proteínas. Esta selección puede lograrse quitando anticuerpos que reaccionan de forma cruzada con otras moléculas. Se puede usar una diversidad de formatos de inmunoensayo para seleccionar anticuerpos específicamente inmunorreactivos con una proteína particular. Por ejemplo, los inmunoensayos ELISA en fase sólida se utilizan de forma rutinaria para seleccionar anticuerpos específicamente inmunorreactivos con una proteína (véase, por ejemplo, Harlow y Lane, Using Antibodies, A Laboratory Manual (1998) para obtener una descripción de los formatos y las condiciones de los inmunoensayos que se pueden utilizar para determinar la inmunorreactividad específica).

Como se usa en el presente documento, el término "farmacéuticamente aceptable" se usa como sinónimo de "fisiológicamente aceptable" y "farmacológicamente aceptable". Una composición farmacéutica generalmente comprenderá agentes para tamponamiento y conservación en almacenamiento, y puede incluir tampones y vehículos para una administración apropiada, dependiendo de la vía de administración.

Ciertos compuestos usados en la presente invención pueden existir en formas no solvatadas así como en formas solvatadas, incluyendo formas hidratadas. En general, las formas solvatadas son equivalentes a las formas no solvatadas y se pretende que estén incluidas dentro del alcance de la presente invención. Ciertos compuestos usados en la presente invención pueden existir en múltiples formas cristalinas o amorfas. En general, todas las formas físicas son equivalentes para los usos contemplados por la presente invención y se pretende que estén dentro del alcance de la presente invención.

"PTPRS" o "RPTP" o "rPTP" (todos los términos son equivalentes) se refieren a proteínas de tipo receptor de tirosina fosfatasas, que se encuentran en la naturaleza como proteínas tirosina fosfatasas.

"PTPRS" se refiere al receptor de proteína tirosina fosfatasa tipo S (o sigma), que es un miembro de la familia de proteína tirosina fosfatasa (PTP). La secuencia de aminoácidos de PTPRS se puede encontrar, por ejemplo, en UniProtKB/Swiss-Prot N.º de Acceso Q13332 y B0V2N1, y también la SEQ ID NO: 4. La secuencia de ácido nucleico de PTPRS se puede encontrar, por ejemplo, en GenBank N.º de Acceso NC_000019.9 y, PTPRS incluye un dominio intracelular, por ejemplo, los residuos de aminoácidos 1304-1948 de SEQ ID NO: 8 o los residuos de aminoácidos 1279-1907 de SEQ ID NO: 4, un dominio transmembrana, por ejemplo, los residuos de aminoácidos 1283-1303 de SEQ ID NO: 8 o los residuos de aminoácidos 1258-1278 de SEQ ID NO: 4, y un dominio extracelular, por ejemplo, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10. El término dominio transmembrana se refiere a la porción de una proteína o polipéptido que está incrustada y, opcionalmente, se extiende por una membrana. El término dominio intracelular se refiere a la porción de una proteína o polipéptido que se extiende al citoplasma de una célula. El término dominio extracelular se refiere a la porción de una proteína o polipéptido que se extiende al ambiente extracelular. El dominio extracelular de PTPRS incluye el dominio 1 (Ig1) de tipo inmunoglobulina, el dominio 2 de tipo inmunoglobulina (Ig2) y el dominio 2 de tipo inmunoglobulina (Ig3). La secuencia de aminoácidos de Ig1 incluye los residuos de aminoácidos 30 a 127 de SEQ ID NO: 4 o los residuos de aminoácidos 30-127 de SEQ ID NO: 8, o la secuencia de aminoácidos
EEPRFIKEPKDQIGVSGGVASFVCQATGDPKPRVTWNKKGKKVNSQRFETIEFDESAGA
VLRIQPLRTPRDENVYECVAQNSVGEITVHAKLTVLRE (SEQ ID NO: 1) o la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5. La secuencia de aminoácidos de Ig2 incluye los residuos de aminoácidos 128 a 231 de SEQ ID NO: 4, o los residuos de aminoácidos 128-244 de SEQ ID NO: 8, o la secuencia de aminoácidos
DQLPSGFPNIDMGPQLKVVERTRTATMLCAASGNPDPEITWFKDFLPVDPASNGRIKQLRSETFESTPIRGALQIESS
EETDQGGKYECVATNSAGVRYSSPANLYVRVRRVA (SEQ ID NO: 2) o la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6. La secuencia de aminoácidos de Ig3 incluye los residuos de aminoácidos 232 a 321 de SEQ ID NO: 4, o los residuos de aminoácidos 245-334 de SEQ ID NO: 8 o la secuencia de aminoácidos
PRFSILPMSHEIMPGGNVNITCVAVGSPMPYVKWMQGAEDLTPEDDMPVGRNVLELTD
VKDSANYTCVAMSSLGVEAVAQITVKSLPKA (SEQ ID NO: 3) o la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7.

Un "nivel de proteína de una RPTP" se refiere a una cantidad (relativa o absoluta) de RPTP en su forma de proteína (a diferencia de su forma de ARN precursora). Una proteína de una RPTP puede incluir una proteína de longitud completa (por ejemplo, la proteína traducida de la región codificante completa del gen, que también puede incluir modificaciones postraduccionales), fragmentos funcionales de la proteína de longitud completa (por ejemplo, subdominios de la proteína de longitud completa que poseen una actividad o función en un ensayo), o fragmentos de proteína de RPTP, que pueden ser cualquier péptido u oligopéptido de la proteína de longitud completa.

Un "nivel de ARN de una RPTP" se refiere a una cantidad (relativa o absoluta) de ARN presente que puede traducirse para formar una RPTP. El ARN de una RPTP puede ser un ARN de longitud completa suficiente para formar una RPTP de longitud completa. El ARN de una RPTP también puede ser un fragmento del ARN de longitud completa, formando así un fragmento de RPTP de longitud completa. El fragmento del ARN de longitud completa puede formar un fragmento funcional de RPTP. El ARN de RPTP puede incluir todas las variantes de corte y

empalme de un gen RPTP.

Un "agente terapéutico autoinmune" es una molécula (por ejemplo, anticuerpo, ácido nucleico, ácido nucleico inhibidor, químico sintético, molécula química pequeña) que trata o previene una enfermedad autoinmune cuando se administra a un sujeto en una dosis o cantidad terapéuticamente eficaz. Un agente terapéutico autoinmune puede ser un agente de unión a RPTP.

Un "agente de unión a RPTP" es una molécula que se une (por ejemplo, se une preferiblemente) a RPTP, ARN que se puede traducir a RPTP, o ADN que se puede transcribir a un ARN que se puede traducir a RPTP. Cuando la molécula se une preferiblemente, la unión es preferente en comparación con otras biomoléculas macromoleculares presentes en un organismo o célula. Un compuesto se une preferiblemente en comparación con otras biomoléculas macromoleculares presentes en un organismo o célula, por ejemplo, cuando la unión preferencial es 1,1 veces, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 1,6 veces, 1,7 veces, 1,8 veces, 1,9 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces, 100 veces, 200 veces, 300 veces, 400 veces, 500 veces, 600 veces, 700 veces, 800 veces, 900 veces, 1000 veces, 2000 veces, 3000 veces, 4000 veces, 5000 veces, 6000 veces, 7000 veces, 8000 veces, 9000 veces, 10000 veces, 100.000 veces, 1.000.000 veces o más.

Un agente puede "dirigirse" a una RPTP, un ácido nucleico (por ejemplo, ARN o ADN) que codifica una RPTP, o una proteína de una RPTP, uniéndose (por ejemplo, preferiblemente, uniéndose) a la RPTP, ácido nucleico (por ejemplo, ARN o ADN) que codifica una RPTP, o proteína de una RPTP. Opcionalmente, la RPTP es PTPRS. Un agente se une preferiblemente a una molécula, por ejemplo, cuando la unión a la molécula diana es mayor que la unión a otras moléculas de una forma similar. La unión preferencial puede ser 1,1 veces, 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 1,6 veces, 1,7 veces, 1,8 veces, 1,9 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces, 100 veces, 200 veces, 300 veces, 400 veces, 500 veces, 600 veces, 700 veces, 800 veces, 900 veces, 1000 veces, 2000 veces, 3000 veces, 4000 veces, 5000 veces, 6000 veces, 7000 veces, 8000 veces, 9000 veces, 10000 veces, 100.000 veces, 1.000.000 veces o más. En algunos casos, un agente se dirige a una RPTP, un ácido nucleico (por ejemplo, ARN o ADN) de una RPTP, o una proteína de una RPTP cuando se realiza un ensayo o experimento de unión (por ejemplo, electroforesis en gel, cromatografía, inmunoensayo, marcaje radiactivo o no radiactivo, inmunoprecipitación, ensayo de actividad, etc.), revela solo una interacción o principalmente una interacción con una sola RPTP, un ácido nucleico (por ejemplo, ARN o ADN) de una sola RPTP, o una proteína de una sola RPTP. Un agente también puede "dirigirse" a una RPTP, un ácido nucleico (por ejemplo, ARN o ADN) de una RPTP, o una proteína de una RPTP al unirse a RPTP, ácido nucleico (por ejemplo, ARN o ADN) de una RPTP, o una proteína de una RPTP, disminuyendo o aumentando la cantidad de RPTP en una célula u organismo en relación con la ausencia del agente, o disminuyendo la interacción entre RPTP con un ligando fisiológico o natural. Un experto en la técnica, utilizando la orientación proporcionada en el presente documento, puede determinar fácilmente si un agente disminuye o aumenta la cantidad de RPTP en una célula u organismo.

Como se usa en el presente documento, "tratar" o "tratamiento de" una afección, enfermedad o trastorno, o síntomas asociados con una afección, enfermedad o trastorno, se refiere a un enfoque para obtener resultados beneficiosos o deseados, incluidos resultados clínicos. Los resultados beneficiosos o deseados pueden incluir, pero sin limitación, alivio o mejora de uno o más síntomas o afecciones, disminución del grado de la afección, trastorno o enfermedad, estabilización del estado de la afección, trastorno o enfermedad, prevención del desarrollo de la afección, trastorno o enfermedad, prevención de la propagación de la afección, trastorno o enfermedad, retraso o ralentización del avance de la afección, trastorno o enfermedad, retraso o ralentización del avance de la afección, trastorno o enfermedad, mejora o paliación del estado de la afección, trastorno o enfermedad, y remisión, ya sea parcial o total. "Tratar" también puede significar prolongar la supervivencia de un sujeto más allá de lo esperado en ausencia de tratamiento. "Tratar" también puede significar inhibir el avance de la afección, trastorno o enfermedad, ralentizar el avance de la afección, trastorno o enfermedad temporalmente, aunque, en algunos casos, implica detener la progresión de la afección, trastorno o enfermedad de forma permanente. Como se usan en el presente documento, los términos tratamiento, tratar o que trata, se refieren a un método para reducir los efectos de uno o más síntomas de una enfermedad o afección caracterizada por la expresión de la proteasa, o síntoma de la enfermedad o afección caracterizada por la expresión de la proteasa. Por lo tanto, en el método descrito, el tratamiento puede referirse a una reducción del 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, o del 100 % de la gravedad de una enfermedad establecida, afección o síntoma de la enfermedad o afección. Por ejemplo, un método para tratar una enfermedad se considera un tratamiento si hay una reducción del 10 % en uno o más síntomas de la enfermedad en un sujeto en comparación con un control. Por lo tanto, la reducción puede ser de un 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 %, o cualquier reducción porcentual entre el 10 % y el 100 % en comparación con niveles nativos o de control. Se entiende que el tratamiento no se refiere necesariamente a una cura o ablación completa de la enfermedad, afección o síntomas de la enfermedad o afección. Además, como se usan en el presente documento, las referencias a disminuir, reducir o inhibir incluyen un cambio del 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o más en comparación con un nivel de control, y dichos términos pueden incluir pero no necesariamente incluyen la eliminación completa.

En el presente documento se describen agentes de desagrupación de PTPRS. Como se usan en el presente

documento, los términos "agente de desagrupación de PTPRS" y similares, se refieren a un agente (por ejemplo, moléculas pequeñas, proteínas que incluyen anticuerpos y similares) capaz de causar una reducción en el nivel de dimerización, oligomerización o agrupación de proteínas PTPRS. Sin pretender quedar ligado a teoría alguna, se cree que la agrupación de PTPRS puede dar lugar a una forma dimérica inactiva. Por consiguiente, la acción de un agente de desagrupación de PTPRS da como resultado PTPRS monomérica que recupera la actividad en relación con la forma agrupada (por ejemplo, dimerizada u oligomerizada) de PTPRS. Opcionalmente, el agente de desagrupación de PTPRS es una proteína recombinante no enzimática que comprende una secuencia de aminoácidos de un dominio extracelular de PTPRS o una subsecuencia, porción, homólogo, variante o derivado del mismo, como se describe en el presente documento. Opcionalmente, la proteína recombinante no enzimática es el dominio extracelular de PTPRS. Sin pretender quedar limitado a teoría alguna, el dominio extracelular de PTPRS o porciones del mismo, desplaza PTPRS de HS. Esto puede activar la PTPRS y conducir a la desfosforilación de la beta-catenina y otros sustratos y la inhibición de las acciones invasivas y proinflamatorias de FLS aguas abajo. Esto está respaldado por los ejemplos y los datos proporcionados en el presente documento. Opcionalmente, el agente de desagrupación de PTPRS es un anticuerpo anti-PTPRS o un fragmento del mismo. Opcionalmente, el agente de desagrupación de PTPRS es un aptámero anti-PTPRS. Opcionalmente, el agente de desagrupación PTPRS se une al heparán sulfato. Opcionalmente, el agente de desagrupación de PTPRS es un anticuerpo anti-heparán sulfato o un fragmento del mismo. Opcionalmente, el agente de desagrupación de PTPRS es un aptámero anti-heparán sulfato. Opcionalmente, el agente de desagrupación de PTPRS no es sulfato de condroitina. La PTPRS, opcionalmente, no es un mimético del sulfato de condroitina o un agente que tiene el mismo mecanismo de acción o similar que el sulfato de condroitina. En otras realizaciones, el agente de desagrupación de PTPRS es un mimético de sulfato de condroitina.

En el presente documento se proporcionan proteínas recombinantes no enzimáticas que comprenden una secuencia de aminoácidos de un dominio extracelular de PTPRS, o una subsecuencia, porción, homólogo, variante o derivado del mismo. Como se usa en el presente documento, el término "proteína recombinante no enzimática" se refiere a una proteína recombinante que no tiene actividad enzimática (por ejemplo, la proteína no funciona como catalizador biológico). Por lo tanto, en algunas realizaciones, las proteínas recombinantes no enzimáticas que comprenden una secuencia de aminoácidos de un dominio extracelular de PTPRS proporcionadas en el presente documento incluyen solo porciones de dominio extracelular de PTPRS y no las porciones enzimáticas de PTPRS. En realizaciones, las proteínas recombinantes no enzimáticas que comprenden una secuencia de aminoácidos de un dominio extracelular de PTPRS proporcionadas en el presente documento incluyen solo porciones del dominio extracelular de PTPRS y no las porciones enzimáticas de PTPRS o las porciones transmembrana de PTPRS. En algunas realizaciones, las proteínas recombinantes no enzimáticas que comprenden una secuencia de aminoácidos de un dominio extracelular de PTPRS incluyen dos o más dominios extracelulares de PTPRS unidos entre sí (por ejemplo, unidos por un enlazador de aminoácidos tal como un enlazador de aminoácidos de al menos 2, al menos 3, al menos 5, al menos 10, aproximadamente de 2 a 50 o 100 aminoácidos, aproximadamente de 3 a 50 o 100 aminoácidos, o aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 aminoácidos, donde la secuencia de aminoácidos está diseñada para no interferir con el dominio extracelular de la unión del ligando de PTPRS). El término "dominio extracelular de PTPRS" puede incluir subsecuencias, porciones, homólogos, variantes o derivados del dominio extracelular de PTPRS. Por lo tanto, la proteína recombinante no enzimática puede comprender una parte del dominio extracelular de PTPRS, por ejemplo, la proteína comprende uno o más dominios de tipo inmunoglobulina de PTPRS, por ejemplo, SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 y/o SEQ ID NO: 7, o subsecuencias, porciones, homólogos, variantes o derivados de los mismos. El dominio extracelular de PTPRS típicamente es capaz de unirse (por ejemplo, unirse específicamente) a un ligando de PTPRS tal como heparán sulfato. El dominio extracelular de PTPRS comprende tanto el dominio 1 de tipo inmunoglobulina (Ig1) como el dominio 2 de tipo inmunoglobulina (Ig2) de PTPRS. El dominio extracelular también puede comprender el dominio 3 de tipo inmunoglobulina (Ig3), o una subsecuencia, porción, homólogo, variante o derivado del mismo.

Opcionalmente, la proteína comprende los residuos de aminoácidos de Ig1 39 a 124 de SEQ ID NO: 4, o una subsecuencia, porción, homólogo, variante o derivado de la misma. Opcionalmente, la proteína comprende una secuencia de aminoácidos expuesta como: EEPRIKEPKDQIGVSGGVASFVCQATGDPKPRVTWNKKGKKVNSQRFETIEFDESAGA VLRIQPLRTPRDENVYECVAQNSVGEITVHAKLTVLRE (SEQ ID NO: 1) o expuesta en la SEQ ID NO: 5, o una subsecuencia, porción, homólogo, variante o derivado de la misma.

Opcionalmente, la proteína comprende los residuos de aminoácidos de Ig2 152 a 233 de SEQ ID NO: 4, o una subsecuencia, porción, homólogo, variante o derivado de la misma. Opcionalmente, la proteína comprende una secuencia de aminoácidos expuesta como: DQLPSGFNPIDMGPKLVVTRTATMLCAASGNPDPEITWFKDFLPVDPSASNGRIKQLRSETFESTPIRGALQIESS EETDQGGKYECVATNSAGVRYSSPANLYVRVRRVA (SEQ ID NO: 2) o expuesta como SEQ ID NO: 6, o una subsecuencia, porción, homólogo, variante o derivado de la misma.

Opcionalmente, la proteína comprende los residuos de aminoácidos de Ig3 259-327 de SEQ ID NO: 4, o una subsecuencia, porción, homólogo, variante o derivado de la misma. Opcionalmente, la proteína comprende una secuencia de aminoácidos expuesta como:

PRFSILPMSHEIMPGGNVITCVAVGSPMPYVKWMQGAEDLTPEDDMPVGRNVLELTD

VKDSANYTCVAMSSLGVEAVAQITVKSLPKA (SEQ ID NO: 3), o expuesta como la SEQ ID NO: 7, o una subsecuencia, porción, homólogo, variante o derivado de la misma.

- 5 En algunas realizaciones, la proteína recombinante no enzimática que comprende una secuencia de aminoácidos de un dominio extracelular de PTPRS o una porción del mismo, carece de un dominio transmembrana y/o carece de un dominio intracelular. En algunas realizaciones, la proteína recombinante no enzimática que comprende una secuencia de aminoácidos de un dominio extracelular de PTPRS o una porción del mismo, carece de un dominio transmembrana. En algunas realizaciones, la proteína recombinante no enzimática que comprende una secuencia de aminoácidos de un dominio extracelular de PTPRS o una porción del mismo, carece de un dominio intracelular.

- Opcionalmente, el agente de desagrupación de PTPRS proporcionado se une (por ejemplo, se une específicamente) al heparán sulfato. Opcionalmente, el agente de desagrupación de PTPRS evita la oligomerización o agrupación de proteínas PTPRS; por ejemplo, el agente de desagrupación de PTPRS impide la dimerización de las proteínas PTPRS. Opcionalmente, el agente de desagrupación de PTPRS modula la actividad de PTPRS; por ejemplo, el agente de desagrupación de PTPRS aumenta la actividad fosfatasa de PTPRS.

- En el presente documento se proporcionan composiciones que incluyen los agentes proporcionados en el presente documento. En el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas que incluyen un agente de desagrupación de PTPRS y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Las composiciones proporcionadas pueden incluir un solo agente o más de un agente. Las composiciones proporcionadas son, opcionalmente, adecuadas para formulación y administración *in vitro* o *in vivo*. Opcionalmente, las composiciones comprenden uno o más de los agentes proporcionados y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los vehículos adecuados y sus formulaciones se describen en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21ª Edición, David B. Troy, ed., Lippicott Williams y Wilkins (2005). Por vehículo farmacéuticamente aceptable se entiende un material que no es biológicamente o de otro modo indeseable, es decir, el material se administra a un sujeto sin causar efectos biológicos no deseados o interactuar de manera perjudicial con los otros componentes de la composición farmacéutica en la que está contenido. Si se administra a un sujeto, el vehículo se selecciona opcionalmente para minimizar la degradación del principio activo y minimizar los efectos secundarios adversos en el sujeto.

- El término "sales farmacéuticamente aceptables" o "vehículo farmacéuticamente aceptable" pretende incluir sales de los compuestos activos que se preparan con ácidos o bases relativamente no tóxicos, dependiendo de los sustituyentes particulares encontrados en los compuestos descritos en el presente documento. Cuando los compuestos de la presente solicitud contienen funcionalidades relativamente ácidas, se pueden obtener sales de adición de base poniendo en contacto la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente de la base deseada, pura o en un disolvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales de adición de base farmacéuticamente aceptables incluyen sal de sodio, potasio, calcio, amonio, amino orgánico o magnesio o una sal similar. Cuando los compuestos de la presente solicitud contienen funcionalidades relativamente básicas, se pueden obtener sales de adición de ácido poniendo en contacto la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, puro o en un disolvente inerte adecuado. Ejemplos de sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables incluyen las derivadas de ácidos inorgánicos como ácidos clorhídrico, bromhídrico, nítrico, carbónico, monohidrogenocarbónico, fosfórico, monohidrogenofosfórico, dihidrogenofosfórico, sulfúrico, monohidrogenosulfúrico, yodhídrico o fosforoso, y similares, así como las sales procedentes de ácidos orgánicos relativamente no tóxicos como acético, propiónico, isobutírico, maleico, malónico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, láctico, mandélico, ftálico, bencenosulfónico, p-tolilsulfónico, cítrico, tartárico, metanosulfónico, y similares. También se incluyen sales de aminoácidos tales como arginato y similares, y sales de ácidos orgánicos como ácidos glucorónico o galacturónico y similares (véase, por ejemplo, Berge *et al.*, Journal of Pharmaceutical Science 66:1-19 (1977)). Otros vehículos farmacéuticamente aceptables conocidos por los expertos en la técnica son adecuados para las composiciones descritas en el presente documento.

- Las composiciones para administración comprenderán comúnmente un agente como se describe en el presente documento disuelto en un vehículo farmacéuticamente aceptable, preferiblemente un vehículo acuoso. Puede usarse una diversidad de vehículos acuosos, por ejemplo, solución salina tamponada, y similares. Estas soluciones son estériles y generalmente no contienen materia no deseada. Estas composiciones pueden esterilizarse mediante técnicas de esterilización convencionales bien conocidas. Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables según se requiera para aproximar las condiciones fisiológicas tales como agentes reguladores y tamponadores del pH, agentes reguladores de la toxicidad y similares, por ejemplo, acetato de sodio, cloruro de sodio, cloruro potásico, cloruro de calcio, lactato sódico y similares. La concentración de agente activo en estas formulaciones puede variar ampliamente, y se seleccionará principalmente basándose en los volúmenes de fluido, viscosidades, peso corporal y similares, de acuerdo con el modo particular de administración seleccionado y las necesidades del sujeto.

- Las soluciones de los compuestos activos como la base libre o la sal farmacológicamente aceptable se pueden preparar en agua mezclada adecuadamente con un tensioactivo, tal como hidroxipropilcelulosa. Las dispersiones también se pueden preparar en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de los mismos y en aceites. En condiciones normales de almacenamiento y uso, estas preparaciones pueden contener un conservante para prevenir

el crecimiento de microorganismos.

Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar mediante soluciones o pulverizaciones intranasales o inhalables, aerosoles o inhalantes. Las soluciones nasales pueden ser soluciones acuosas diseñadas para administrarse a los conductos nasales en gotas o aerosoles. Las soluciones nasales se pueden preparar para que sean similares en muchos aspectos a las secreciones nasales. Por lo tanto, las soluciones nasales acuosas suelen ser isotónicas y ligeramente tamponadas para mantener un pH de 5,5 a 6,5. Además, se pueden incluir en la formulación conservantes antimicrobianos, similares a los utilizados en preparaciones oftálmicas y estabilizadores farmacológicos apropiados, si es necesario. Se conocen diversas preparaciones nasales comerciales y pueden incluir, por ejemplo, antibióticos y antihistamínicos.

Las formulaciones orales pueden incluir excipientes como, por ejemplo, grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina de sodio, celulosa, carbonato de magnesio, y similares. Estas composiciones adoptan la forma de soluciones, suspensiones, comprimidos, píldoras, cápsulas, formulaciones de liberación sostenida o polvos. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas orales comprenderán un diluyente inerte o un vehículo comestible asimilable, o pueden estar encerradas en una cápsula de gelatina de cubierta dura o blanda, o pueden comprimirse en comprimidos, o pueden incorporarse directamente con el alimento de la dieta. Para la administración terapéutica oral, los compuestos activos pueden incorporarse con excipientes y usarse en forma de comprimidos ingeribles, comprimidos bucales, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas, y similares. Dichas composiciones y preparaciones deben contener al menos un 0,1 % de compuesto activo. El porcentaje de las composiciones y preparaciones puede, por supuesto, puede variarse y puede ser convenientemente entre aproximadamente el 2 y aproximadamente el 75 % del peso de la unidad, o preferiblemente entre el 25-60 %. La cantidad de compuestos activos en dichas composiciones es tal que se puede obtener una dosis adecuada.

Para la administración parenteral en una solución acuosa, por ejemplo, la solución debe tamponarse adecuadamente y el diluyente líquido primero debe hacerse isotónico con suficiente solución salina o glucosa. Las soluciones acuosas, en particular, los medios acuosos estériles, son especialmente adecuadas para la administración intravenosa, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal. Por ejemplo, una dosis podría disolverse en 1 ml de solución isotónica de NaCl y añadirse a 1000 ml de líquido de hipodermoclasia o inyectarse en el sitio de infusión propuesto.

Se pueden preparar soluciones inyectables estériles incorporando los compuestos activos o construcciones en la cantidad requerida en el disolvente apropiado seguido de esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando los diversos principios activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico. Las técnicas de secado al vacío y liofilización, que producen un polvo del principio activo más cualquier ingrediente adicional deseado, pueden usarse para preparar polvos estériles para la reconstitución de soluciones inyectables estériles. También se contempla la preparación de soluciones más concentradas, o altamente concentradas, para inyección directa. Se puede utilizar DMSO como disolvente para una penetración extremadamente rápida, proporcionando altas concentraciones de los agentes activos a un área pequeña.

Las formulaciones de compuestos se pueden presentar en envases sellados de dosis unitaria o multidosis, tales como ampollas y viales. Por lo tanto, la composición puede estar en forma de dosis unitaria. En tal forma, la preparación se subdivide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del componente activo. Por lo tanto, las composiciones se pueden administrar en una diversidad de formas de dosificación unitarias dependiendo del método de administración. Por ejemplo, las formas de dosificación unitaria adecuadas para la administración oral incluyen, pero sin limitación, polvo, comprimidos, píldoras, cápsulas y grageas.

Las composiciones se pueden formular para proporcionar una liberación rápida, sostenida o retardada después de la administración empleando procedimientos conocidos en la técnica. Ciertos vehículos pueden ser más preferibles dependiendo, por ejemplo, de la vía de administración y la concentración de la composición que se administra. Se pueden encontrar formulaciones adecuadas para su uso en las composiciones proporcionadas en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21ª Edición, David B. Troy, ed., Lippicott Williams y Wilkins (2005).

En el presente documento se proporcionan kits que comprenden una o más de las composiciones proporcionadas e instrucciones de uso. Opcionalmente, el kit comprende una o más dosis de una cantidad eficaz de una composición que comprende un agente de desagregación de PTPRS. Opcionalmente, el kit comprende una proteína recombinante no enzimática que comprende una secuencia de aminoácidos de un dominio extracelular de PTPRS o una subsecuencia, porción, homólogo, variante o derivado de la misma. Opcionalmente, el kit comprende una o más porciones del dominio extracelular de PTPRS. Opcionalmente, la composición o proteína está presente en un recipiente (por ejemplo, un vial o paquete). Opcionalmente, el kit comprende uno o más agentes adicionales para tratar o prevenir uno o más síntomas de una enfermedad inflamatoria y/o autoinmune. Opcionalmente, el kit comprende un medio para administrar la composición, tal como, por ejemplo, una jeringa, aguja, tubos, catéter, parche y similares. El kit también puede comprender formulaciones y/o materiales que requieran esterilización y/o dilución antes de su uso.

Las composiciones y agentes que se describen en el presente documento son útiles tanto para el tratamiento profiláctico como terapéutico. Para uso profiláctico, se administra a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de los agentes descritos en el presente documento antes o durante el inicio temprano (por ejemplo, tras los signos y síntomas iniciales de una enfermedad autoinmune). El tratamiento terapéutico implica la administración a un sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de los agentes descritos en el presente documento después del diagnóstico o desarrollo de la enfermedad.

Las proteínas, agentes y composiciones proporcionados son para su uso en el tratamiento de un sujeto que tiene o está en riesgo de desarrollar una enfermedad autoinmune, incluyendo, por ejemplo, artritis tal como artritis reumatoide u osteoartritis. Opcionalmente, las proteínas, agentes y composiciones son para su uso en el tratamiento de un sujeto que tiene o está en riesgo de desarrollar una enfermedad de la matriz extracelular y/o una enfermedad mediada por fibroblastos. Como se usa en el presente documento, el término "enfermedad de la matriz extracelular" se refiere a una afección, trastorno o enfermedad, asociada con la matriz extracelular (MEC) o uno o más componentes de la matriz extracelular. La matriz extracelular proporciona soporte estructural a las células además de estar involucrada en otras funciones biológicas que incluyen, pero sin limitación, la comunicación intracelular. Los componentes de la matriz extracelular incluyen, pero sin limitación, proteoglicanos (por ejemplo, heparán sulfato, sulfato de condroitina y sulfato de queratina), polisacáridos no proteoglicanos (por ejemplo, ácido hialurónico), fibras, colágeno, elastina, fibronectina y laminina. La matriz extracelular también sirve como depósito para señalar moléculas tales como factores de crecimiento y citocinas. Las enfermedades de la matriz extracelular incluyen enfermedades asociadas con la desregulación de una o más funciones de la MEC (por ejemplo, comunicación intracelular y/o movimiento desregulados) o desregulación de uno o más componentes de la MEC (por ejemplo, actividad aumentada o disminuida y/o producción de uno o más componentes de la MEC). Las enfermedades de la matriz extracelular también incluyen enfermedades asociadas con la degradación y remodelación alteradas de la MEC y enfermedades asociadas con la acumulación alterada (por ejemplo, aumentada o disminuida) de agentes, por ejemplo, inmunocomplejos y otros productos inmunitarios, en la MEC. Las enfermedades de la matriz extracelular incluyen, pero sin limitación, aterosclerosis, cáncer, enfermedades amiloides, enfermedades glomerulares, enfermedades mesangiales, afecciones inflamatorias y trastornos del desarrollo. Como se usa en el presente documento, el término "enfermedad mediada por fibroblastos" se refiere a una afección, trastorno o enfermedad, asociada con la actividad o el movimiento de las células de fibroblastos. Los fibroblastos son un tipo de célula involucrada en la síntesis de la MEC y el colágeno y son el tipo de célula principal del tejido conectivo. Los tipos de fibroblastos incluyen, pero sin limitación, fibroblastos sinoviales, fibroblastos dérmicos y fibroblastos intersticiales. La función principal de los fibroblastos es mantener la integridad del tejido conectivo secretando continuamente componentes de la MEC. Las enfermedades mediadas por fibroblastos incluyen enfermedades asociadas con la actividad y/o movimiento alterados de fibroblastos. Por lo tanto, por ejemplo, una enfermedad mediada por fibroblastos incluye enfermedades asociadas con la migración de fibroblastos alterada o la actividad de fibroblastos alterada. Las actividades de los fibroblastos incluyen, pero sin limitación, producción de colágeno, producción de glucosaminoglicanos, producción de fibras reticulares y elásticas, producción de citocinas y producción de glucoproteínas. Por lo tanto, las enfermedades mediadas por fibroblastos incluyen enfermedades asociadas con la producción alterada por fibroblastos de uno o más de colágeno, glucosaminoglicanos, fibras reticulares y elásticas, citocinas y glucoproteínas.

En el presente documento se proporcionan métodos para modular la actividad de PTPRS en un sujeto, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad eficaz de un agente de desagrupación de PTPRS, donde la administración modula la actividad de PTPRS en el sujeto. También se proporcionan métodos para tratar, prevenir y/o mejorar una enfermedad o trastorno autoinmune en un sujeto que lo necesite. Específicamente, se proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmune en un sujeto, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente de desagrupación de PTPRS, donde la administración trata la enfermedad autoinmune en el sujeto. También se proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmune en un sujeto, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que aumenta la actividad fosfatasa de PTPRS, donde la administración trata la enfermedad autoinmune en el sujeto. Las enfermedades o trastornos autoinmunes incluyen, pero sin limitación, enfermedades autoinmunes inflamatorias. Opcionalmente, la enfermedad autoinmune es artritis, artritis reumatoide, artritis psoriásica, artritis idiopática juvenil, esclerodermia, esclerodermia sistémica, esclerosis múltiple, lupus eritematoso sistémico (LES), miastenia grave, diabetes de inicio juvenil, diabetes mellitus tipo 1, síndrome de Guillain-Barre, encefalitis de Hashimoto, tiroiditis de Hashimoto, espondilitis anquilosante, psoriasis, síndrome de Sjögren, vasculitis, glomerulonefritis, tiroiditis autoinmune, enfermedad de Behcet, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, penfigoide bulloso, sarcoidosis, psoriasis, ictiosis, oftalmopatía de Graves, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Addison, vitiligo, asma o asma alérgica. Opcionalmente, la enfermedad autoinmune es artritis, enfermedad de Crohn, esclerodermia o artritis reumatoide. Opcionalmente, el compuesto es un agente de desagrupación de PTPRS. Opcionalmente, el agente de desagrupación de PTPRS no es sulfato de condroitina. Opcionalmente, el agente de desagrupación no es sulfato de condroitina, un mimético del sulfato de condroitina o un agente que tenga el mismo mecanismo de acción o similar que el sulfato de condroitina. Opcionalmente, el agente de desagrupación de PTPRS es un anticuerpo anti-PTPRS o un fragmento del mismo, un anticuerpo anti-heparán sulfato o un mimético de sulfato de condroitina. Opcionalmente, como se describe en todo momento, el agente de desagrupación de PTPRS puede ser una proteína recombinante no enzimática que comprende una secuencia de aminoácidos de un dominio extracelular de PTPRS o una subsecuencia, porción, variante homóloga, o derivado de la misma.

Los métodos incluyen administrar una cantidad eficaz de los agentes y composiciones proporcionados, donde la administración de la cantidad eficaz de la composición trata o previene la enfermedad autoinmune en el sujeto. La administración de una composición descrita en el presente documento puede ser una administración sistémica o localizada. Por ejemplo, el tratamiento de un sujeto que tiene un trastorno autoinmune inflamatorio puede incluir la administración de una forma oral o inyectable de la composición farmacéutica diariamente o en una programación regular. Opcionalmente, los agentes y la composición se formulan para su administración, se pueden formular para su administración al líquido sinovial, y/o para su administración a sinoviocitos de tipo fibroblasto. En algunos casos, el tratamiento es solo según sea necesario, por ejemplo, tras la aparición de síntomas de enfermedad autoinmune inflamatoria.

También se proporcionan métodos para disminuir la actividad de los fibroblastos en un sujeto. Los métodos incluyen administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente de desagrupación de PTPRS, donde la administración disminuye la actividad de los fibroblastos en el sujeto. Opcionalmente, el agente de desagrupación no es sulfato de condroitina, un mimético del sulfato de condroitina o un agente que tenga el mismo mecanismo de acción o similar que el sulfato de condroitina. En algunos casos, el agente de desagrupación es un mimético de sulfato de condroitina. Opcionalmente, el agente de desagrupación de PTPRS es una proteína recombinante no enzimática como se proporciona en el presente documento. Opcionalmente, el agente de desagrupación PTPRS se une al heparán sulfato. Opcionalmente, el agente de desagrupación de PTPRS es un anticuerpo anti-PTPRS, o un fragmento del mismo, o un anticuerpo anti-heparán sulfato, o un fragmento del mismo. Opcionalmente, la actividad de los fibroblastos comprende la migración de los fibroblastos. Opcionalmente, la actividad de los fibroblastos comprende producción de colágeno, producción de glucosaminoglicanos, producción de fibras reticulares y elásticas, producción de citocinas, producción de quimiocinas, producción de glucoproteínas o combinaciones de las mismas. Opcionalmente, la actividad de los fibroblastos comprende la producción de matriz extracelular. Los fibroblastos incluyen, pero sin limitación, fibroblastos sinoviales, fibroblastos dérmicos y fibroblastos intersticiales. Opcionalmente, los fibroblastos son fibroblastos sinoviales.

Opcionalmente, el sujeto tiene una enfermedad mediada por fibroblastos. Por lo tanto, se proporcionan métodos para tratar una enfermedad mediada por fibroblastos en un sujeto. Los métodos incluyen administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente de desagrupación de PTPRS, donde la administración trata la enfermedad mediada por fibroblastos en el sujeto. Opcionalmente, el agente de desagrupación no es sulfato de condroitina, un mimético del sulfato de condroitina o un agente que tenga el mismo mecanismo de acción o similar que el sulfato de condroitina. En algunos casos, el agente de desagrupación es un mimético de condroitina. Opcionalmente, el agente de desagrupación de PTPRS es una proteína recombinante no enzimática como se proporciona en el presente documento. Opcionalmente, el agente de desagrupación PTPRS se une al heparán sulfato. Opcionalmente, el agente de desagrupación de PTPRS es un anticuerpo anti-PTPRS, o un fragmento del mismo, o un anticuerpo anti-heparán sulfato, o un fragmento del mismo. Las enfermedades mediadas por fibroblastos incluyen, pero sin limitación, fibrosis y enfermedades autoinmunes mediadas por fibroblastos. La fibrosis puede ser, por ejemplo, fibrosis pulmonar, fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis hepática, fibrosis endomiocárdica, fibrosis auricular, fibrosis mediastínica, mielofibrosis, fibrosis retroperitoneal, fibrosis sistémica nefrogénica, fibrosis cutánea o artrofibrosis. La enfermedad autoinmune mediada por fibroblastos puede ser, por ejemplo, enfermedad de Crohn, artritis, artritis reumatoide y esclerodermia.

En el presente documento se proporcionan métodos para modular la matriz extracelular en un sujeto, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad eficaz de la proteína recombinante no enzimática proporcionada en el presente documento, donde la administración modula la matriz extracelular en el sujeto. Opcionalmente, el método no incluye la administración de sulfato de condroitina, un mimético del sulfato de condroitina o un agente que tenga el mismo mecanismo de acción o similar que el sulfato de condroitina. La modulación de la matriz extracelular incluye, por ejemplo, la modulación de uno o más componentes de la matriz extracelular. Opcionalmente, el componente de la matriz extracelular se selecciona del grupo que consiste en un proteoglicano, polisacárido o fibra. Opcionalmente, el componente de la matriz extracelular es un proteoglicano, por ejemplo, heparán sulfato o sulfato de condroitina. Opcionalmente, el componente de la matriz extracelular es heparán sulfato. Opcionalmente, el sujeto tiene una enfermedad de la matriz extracelular. Las enfermedades de la matriz extracelular son conocidas e incluyen, pero sin limitación, aterosclerosis, cáncer, una enfermedad amiloide, una afección inflamatoria, y un trastorno del desarrollo. Opcionalmente, la enfermedad amiloide es la enfermedad de Alzheimer o amiloidosis AA relacionada con la inflamación. Opcionalmente, la afección inflamatoria es osteoartritis, esclerodermia sistémica o lupus.

Los métodos proporcionados en el presente documento que incluyen el tratamiento de sujetos con una afección inflamatoria, una enfermedad autoinmune, una enfermedad mediada por fibroblastos, o una enfermedad de la matriz extracelular pueden incluir la administración de uno o más agentes adicionales que tratan o previenen la afección inflamatoria o la enfermedad autoinmune. Por ejemplo, los métodos proporcionados pueden incluir además la administración de una cantidad eficaz de uno o más agentes antiinflamatorios. Los agentes adicionales adecuados para su uso en los métodos proporcionados incluyen, pero sin limitación, analgésicos, fármacos antiinflamatorios no esteroideos, fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad, corticosteroides y análogos de vitamina D. Los fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad ejemplares para tratar o prevenir la artritis reumatoide

incluyen, pero sin limitación, azatioprina, ciclosporina A, D-penicilamina, sales de oro, hidroxiclороquina, leflunomida, metotrexato (MTX), minociclina, sulfasalazina (SSZ), y ciclofosfamida.

Las combinaciones de agentes o composiciones se pueden administrar de forma concomitante (por ejemplo, como una mezcla), por separado pero simultáneamente (por ejemplo, a través de líneas intravenosas separadas) o secuencialmente (por ejemplo, se administra primero un agente seguido de la administración del segundo agente). Por lo tanto, el término combinación se utiliza para referirse a la administración concomitante, simultánea o secuencial de dos o más agentes o composiciones. El curso del tratamiento se determina mejor de forma individual dependiendo de las características particulares del sujeto y del tipo de tratamiento seleccionado. El tratamiento, tal como los descritos en el presente documento, se puede administrar al sujeto de forma diaria, dos veces al día, quincenal, mensual, o cualquier base aplicable que sea terapéuticamente eficaz. El tratamiento se puede administrar en solitario o en combinación con cualquier otro tratamiento descrito en el presente documento o conocido en la técnica. El tratamiento adicional se puede administrar simultáneamente con el primer tratamiento, en un momento diferente, o en un programa terapéutico completamente diferente (por ejemplo, el primer tratamiento puede ser diario, mientras que el tratamiento adicional es semanal).

De acuerdo con los métodos proporcionados en el presente documento, al sujeto se le administra una cantidad eficaz de uno o más de los agentes proporcionados en el presente documento. Los términos cantidad eficaz y dosis eficaz se utilizan indistintamente. El término cantidad eficaz se define como cualquier cantidad necesaria para producir una respuesta fisiológica deseada (por ejemplo, reducción de la inflamación). Un experto en la técnica puede determinar empíricamente las cantidades y los programas eficaces para administrar el agente. Los intervalos de dosificación para la administración son los suficientemente grandes para producir el efecto deseado en el que se ven afectados (por ejemplo, reducidos o retardados) uno o más síntomas de la enfermedad o trastorno. La dosis no debe ser tan grande como para causar efectos secundarios adversos sustanciales, tales como reacciones cruzadas no deseadas, reacciones anafilácticas, y similares. Generalmente, la dosis variará con la edad, condición, sexo, tipo de enfermedad, la extensión de la enfermedad o trastorno, vía de administración, o si se incluyen otros fármacos en el régimen, y puede determinarse por un experto en la técnica. La dosis puede ser ajustada por el médico individual en caso de contraindicaciones. Las dosis pueden variar y pueden administrarse en una o más dosis diarias, durante uno o varios días. En la bibliografía se pueden encontrar orientaciones sobre las dosis adecuadas para determinadas clases de productos farmacéuticos. Por ejemplo, para un determinado parámetro, una cantidad eficaz mostrará un aumento o disminución de al menos el 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 40 %, 50 %, 60 %, 75 %, 80 %, 90 %, o al menos el 100 %. La eficacia también se puede expresar como un aumento o una disminución del "número de veces". Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz puede tener al menos un efecto de 1,2 veces, 1,5 veces, 2 veces, 5 veces o más de efecto en comparación con un control. La dosis y la formulación exactas dependerán del propósito del tratamiento, y un experto en la técnica podrá determinarlas usando técnicas conocidas (véanse, por ejemplo, Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (vols. 1-3, 1992); Lloyd, *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding* (1999); Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 20ª edición, Gennaro, Editor (2003), y Pickar, *Dosage Calculations* (1999)).

Opcionalmente, los métodos de tratamiento proporcionados o el método para modular la actividad o función de PTPRS en un sujeto incluyen además obtener una muestra biológica del sujeto y determinar si el sujeto tiene un nivel de ARN alterado o un nivel de proteína alterado de una PTPRS en comparación con un control, un nivel de ARN alterado, o un nivel de proteína alterado que indica que el sujeto tiene o está en riesgo de desarrollar una afección inflamatoria, una enfermedad autoinmune, enfermedad mediada por fibroblastos o enfermedad de la matriz extracelular. Opcionalmente, el nivel alterado es un nivel elevado en comparación con un control. Una muestra o valor de control se refiere a una muestra que sirve como referencia, normalmente una referencia conocida, para compararla con una muestra de prueba. Por ejemplo, se puede tomar una muestra de prueba de un paciente sospechoso de tener una enfermedad autoinmune y compararla con muestras de un sujeto que se sabe que tiene una enfermedad autoinmune o un sujeto normal conocido (no enfermo). Un control también puede representar un valor promedio obtenido de una población de individuos similares, por ejemplo, pacientes con enfermedades autoinmunes o individuos sanos con antecedentes médicos similares, la misma edad, peso, etc. También se puede obtener un valor de control del mismo individuo, por ejemplo, de una muestra obtenida anteriormente, antes de la enfermedad, o antes del tratamiento.

Por lo tanto, también se proporcionan métodos para determinar si un sujeto tiene o está en riesgo de desarrollar una afección inflamatoria, enfermedad autoinmune, enfermedad mediada por fibroblastos o enfermedad de la matriz extracelular, que comprenden obtener una muestra biológica del sujeto y determinar si el sujeto tiene un nivel de ARN elevado o un nivel de proteína elevado de una PTPRS, un nivel de ARN elevado o un nivel de proteína elevado que indica que el sujeto tiene o está en riesgo de desarrollar una enfermedad autoinmune, enfermedad inflamatoria, enfermedad mediada por fibroblastos o enfermedad de la matriz extracelular. Opcionalmente, los métodos proporcionados comprenden además seleccionar un sujeto con una enfermedad autoinmune. Opcionalmente, la enfermedad autoinmune es una enfermedad autoinmune inflamatoria, por ejemplo, artritis o artritis reumatoide. Como se usa en el presente documento, las muestras biológicas incluyen, pero sin limitación, células, tejidos y fluidos corporales. Los fluidos corporales que se utilizan para evaluar la presencia, ausencia o nivel de ARN de PTPRS o proteína incluyen, sin limitación, sangre completa, plasma, orina, suero, lágrimas, linfa, bilis, líquido cefalorraquídeo, líquido intersticial, humor acuoso o vítreo, calostro, esputo, líquido amniótico, saliva, muestra de

lavado bronquioaviolar, transpiración, trasudado, exudado y líquido sinovial. Opcionalmente, la muestra biológica se deriva de un tejido articular o fluido corporal. Opcionalmente, los métodos proporcionados comprenden además aislar células del tejido articular o del fluido corporal formando así una muestra de células aisladas. Dichas muestras de células aisladas pueden comprender sinoviocitos, fibroblastos, células hematopoyéticas, macrófagos, leucocitos, linfocitos T, o una combinación de los mismos. Opcionalmente, los sinoviocitos son sinoviocitos de tipo fibroblasto o sinoviocitos de tipo macrófago. Opcionalmente, la muestra de células aisladas comprende sinoviocitos de tipo fibroblasto.

Los métodos para detectar e identificar ácidos nucleicos y proteínas y las interacciones entre dichas moléculas implican técnicas de biología molecular convencional, microbiología y de ADN recombinante dentro del conocimiento de la técnica. Dichas técnicas se explican completamente en la bibliografía (véanse, por ejemplo, Sambrook, Fritsch y Maniatis, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Segunda Edición 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; *Animal Cell Culture*, R. I. Freshney, ed., 1986).

Los métodos para detectar ARN son en gran parte acumulativos con los ensayos de detección de ácido nucleico e incluyen, por ejemplo, transferencias de Northern, RT-PCR, matrices que incluyen micromatrices, y secuenciación que incluye métodos de secuenciación de alto rendimiento. En algunas realizaciones, se realiza una reacción de transcriptasa inversa y a continuación la secuencia diana se amplifica usando PCR estándar. La PCR cuantitativa (qPCR) o la PCR en tiempo real (RT-PCR) es útil para determinar los niveles de expresión relativa, en comparación con un control. Las técnicas y plataformas de PCR cuantitativa son conocidas en la técnica y están disponibles comercialmente (véase, por ejemplo, el sitio web del qPCR Symposium, disponible en qpersymposium.com). Las matrices de ácidos nucleicos también son útiles para detectar la expresión de ácidos nucleicos. Las matrices personalizables están disponibles, por ejemplo, en Affymatrix. Opcionalmente, los métodos para detectar ARN incluyen métodos de secuenciación. La secuenciación de ARN es conocida y puede realizarse con una diversidad de plataformas que incluyen, pero sin limitación, plataformas proporcionadas por Illumina, Inc., (La Jolla, CA) o Life Technologies (Carlsbad, CA). Véanse, por ejemplo, Wang, *et al.*, *Nat Rev Genet.* 10(1):57-63 (2009); y Martin, *Nat Rev Genet.* 12(10):671-82 (2011).

Los niveles o la concentración de proteínas se pueden determinar mediante métodos estándar en la técnica para cuantificar proteínas, tales como transferencia de Western, ELISA, ELISPOT, inmunoprecipitación, inmunofluorescencia (por ejemplo, FACS), inmunohistoquímica, inmunocitoquímica, etc., así como cualquier otro método ahora conocido o desarrollado posteriormente para cuantificar proteínas en o producidas por una célula.

También se proporcionan métodos para identificar un agente de desagrupación de PTPRS candidato, comprendiendo el método poner en contacto un agente de prueba con péptidos de PTPRS agrupados y detectar la desagrupación de los péptidos de PTPRS, identificando así un agente de desagrupación de PTPRS candidato. Opcionalmente, el método para identificar un agente de desagrupación de PTPRS candidato incluye poner en contacto un agente de prueba con PTPRS y heparán sulfato y determinar si el agente de prueba inhibe o reduce la unión de PTPRS al heparán sulfato, la inhibición o reducción de la unión que indica que el agente de prueba es un agente de desagrupación de PTPRS. Opcionalmente, el agente de prueba es un ácido nucleico, péptido, anticuerpo o molécula pequeña. Opcionalmente, el PTPRS agrupado forma parte de una membrana celular o célula. Los métodos de identificación de agentes de desagrupación de PTPRS se pueden realizar *in vitro*, *in situ* o *in vivo*. Un agente de prueba puede identificarse como un agente de desagrupación de PTPRS usando los métodos descritos en el ejemplo siguiente y otros conocidos por los expertos en la técnica. Véanse, por ejemplo, véase Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3ª ed., Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY (2001). Por lo tanto, la desagrupación de PTPRS agrupada se puede realizar usando cualquier método apropiado conocido en la técnica. Hay diversos métodos disponibles para evaluar si un agente es eficaz para desagrupar la PTPRS. Por ejemplo, se puede usar un ensayo de lectura basado en células para la función de PTPRS. La desagrupación de PTPRS se puede observar detectando una disminución en la fosforilación de tirosina de sustratos de PTPRS o intermedios de señalización aguas abajo. La desagrupación también se puede observar detectando una disminución en la migración o invasión de fibroblastos (por ejemplo, FLS). Otros ensayos incluyen, pero sin limitación, ensayos basados en FRET, y filtración en gel. Por ejemplo, en dichos ensayos, las células pueden tratarse con HS para inducir la agrupación de PTPRS y a continuación tratarse con los agentes de prueba para probar la desagrupación de PTPRS. De manera similar, la unión por inhibición de PTPRS al heparán sulfato puede detectarse usando cualquier método apropiado conocido en la técnica. Por ejemplo, un agente puede identificarse como un agente que inhibe o reduce la unión de PTPRS al heparán sulfato mediante la realización de un ensayo en el que se puede detectar la unión de PTPRS a heparán sulfato (por ejemplo, un inmunoensayo). El agente inhibe o reduce la unión de PTPRS al heparán sulfato si se puede detectar la unión de PTPRS a heparán sulfato en ausencia del agente, pero ya no se detecta o la unión se reduce en presencia del agente. Opcionalmente, la unión puede detectarse determinando si el agente a ensayar inhibe competitivamente el heparán sulfato de la unión a PTPRS. Opcionalmente, un agente puede identificarse como un agente que inhibe o reduce la unión de PTPRS al heparán sulfato realizando un ensayo que mide la función o actividad de PTPRS.

A modo de ejemplo, un agente de prueba puede identificarse como un agente de desagrupación de PTPRS determinando si el agente reduce la gravedad de uno o más síntomas de la enfermedad o afección autoinmune o inflamatoria. Por lo tanto, a modo de ejemplo, en los métodos de cribado proporcionados, la etapa de contacto

comprende administrar el agente a un sujeto con una enfermedad autoinmune o inflamatoria, y la etapa de determinación comprende determinar si el agente previene o reduce uno o más síntomas de la enfermedad en un sujeto. Opcionalmente, la enfermedad es artritis o artritis reumatoide. Dichos métodos de cribado se pueden realizar usando, por ejemplo, modelos animales de enfermedad inflamatoria y autoinmune, que se pueden obtener de laboratorios comerciales (por ejemplo, Jackson Laboratory, 600 Main Street, Bar Harbor, Maine 04609 EE.UU.). Dichos métodos de cribado también se pueden realizar utilizando los modelos de ratón y métodos descritos en el ejemplo siguiente.

Se describen materiales, composiciones y componentes que se pueden usar, se pueden usar junto con, se pueden usar en la preparación para, o son productos de los métodos y composiciones que se describen. Estos y otros materiales se describen en el presente documento, y se entiende que cuando se describen combinaciones, subconjuntos, interacciones, grupos, etc. de estos materiales, si bien la referencia específica de cada una de las diversas combinaciones y permutaciones individuales y colectivas de estos compuestos no se puede describir explícitamente, cada uno se contempla y se describe específicamente en el presente documento. Por ejemplo, si se describe y se analiza un método y se analizan una serie de modificaciones que se pueden realizar en varias moléculas, incluido el método, se contemplan específicamente todas y cada una de las combinaciones y permutaciones del método, y las modificaciones que son posibles, a menos que específicamente se indique lo contrario. Asimismo, cualquier subconjunto o combinación de estos también se contempla y se describe específicamente. Este concepto se aplica a todos los aspectos de esta descripción, incluidas, pero sin limitación, las etapas en los métodos que utilizan las composiciones descritas. Por lo tanto, si hay una diversidad de etapas adicionales que se pueden realizar, se entiende que cada una de estas etapas adicionales se puede realizar con cualquier etapa específica del método o combinación de etapas del método de los métodos descritos, y que cada una de dichas combinaciones o subconjuntos de combinaciones se contemplan específicamente y deben considerarse descritas.

Ejemplo

Ejemplo 1. Interacciones funcionales entre PTPRS y proteoglicanos en sinoviocitos de tipo fibroblasto.

La proteína tirosina fosfatasa, tipo receptor, S o Sigma (PTPRS) tiene un dominio extracelular que incluye múltiples dominios de tipo fibronectina tipo III y dominios de tipo inmunoglobulina (Ig). Los dos dominios de Ig más externos (llamados Ig1 e Ig2) interactúan con afinidad nanomolar con PG (proteoglicano) que contiene HS (heparán sulfato) y CS (sulfato de condroitina). La interacción de PTPRS con HS-PG (proteoglicanos) (que se encuentran en capas en la superficie celular de la mayoría de los tipos de células) induce una topología agrupada de PTPRS, que inhibe la acción de la fosfatasa y promueve la señalización. Por el contrario, CS-PG (enriquecido en la MEC que rodea a las neuronas y otras células) compite eficazmente con HS-PG induciendo una conformación desagrupada, que es activa y conduce a la inhibición de la señalización. En ciertos experimentos, se utilizaron ratones desactivados para PTPRS. Estos ratones mostraron un fenotipo de disminución del peso corporal y del tamaño del cerebro, déficits en la memoria de aprendizaje, funciones nerviosas, aumento de la regeneración de la médula espinal después de hemisección y lesiones por contusión y aumento de la formación de axones a través de barreras inhibitorias (CSPG).

Los ratones que expresan el transgén del receptor de linfocitos T (TCR) KRN y la molécula A(g7) del MHC de clase II (ratones K/BxN) desarrollan artritis inflamatoria grave. El suero de estos ratones causa artritis en otras cepas de ratones. Para determinar si PTPRS está implicado en la artritis, se evaluó la expresión de PTPRS en ratones que recibieron suero K/BxN. Las figuras 1A y 1B son gráficos que representan la expresión de PTPRS en sinoviocitos de tipo fibroblasto (FLS). La figura 1A muestra la expresión en ratones. Se aislaron CD90+CD11b-CD3-CD45- mFLS primarios del tejido articular 7 días después de la transferencia aguda de suero K/BxN (administración única de 150 µl de suero), 21 días después de la transferencia crónica de suero K/BxN (administración única de 150 µl de suero seguida de 2 dosis de refuerzo semanales de 50 µl de suero), o de ratones de control no inyectados. La figura 1A muestra los niveles de expresión de PTPRS y Cadherina-11 (CAD11) medidos por qPCR. Para determinar si la expresión de PTPRS está elevada en seres humanos, se evaluaron los niveles de expresión de PTPRS por qPCR de fibroblastos dérmicos humanos normales y el FLS cultivado aislado de una articulación reumatoide. Los resultados se muestran en la figura 1B. La PTPRS también está elevada en FLS aislado de una articulación reumatoide en un ser humano.

Se observó una mayor gravedad de la erosión ósea en la artritis para ratones PTPRS -/- en comparación con ratones PTPRS +/- . Los resultados se muestran en las figuras 2A-2F. A los ratones se les inyectaron 100 µl de suero K/BxN por vía intraperitoneal a las 8-10 semanas de edad (PTPRS-/- recibieron proporcionalmente menos suero para reflejar su peso corporal disminuido). El grosor del tobillo se midió con calibradores digitales y los tobillos y las muñecas recibieron una puntuación de artritis clínica entre 0 (sin enrojecimiento ni hinchazón) y 4 (hinchazón máxima con los dedos afectados) cada dos días durante 14 días. Véanse las figuras 2A, 2B, y 2C. Después de 14 días, se sacrificó a los ratones y se fijaron los tobillos para determinar la puntuación histológica usando tinción con H&E (inflamación y erosión ósea) y safranina O (erosión del cartílago). Véanse las figuras 2D (inflamación), 2E (erosión del cartílago) y 2F (erosión ósea).

Con el fin de investigar más a fondo el papel de PTPRS, se aislaron y evaluaron FLS de ratón primarios. Las

articulaciones de la rodilla, tobillo y codo se combinaron de ratones individuales y se trituraron en medio RPMI caliente en condiciones estériles. Se incubaron porciones picadas de cada ratón en 40 ml de medio RPMI caliente que contenía 0,5 mg/ml de colagenasa tipo IX durante 2 horas a temperatura ambiente en una plataforma basculante. Las células y trozos de articulación se recogieron por centrifugación y se resuspendieron en medio FLS (DMEM que contenía FBS al 10 %, 100 UI/ml de penicilina/100 µg/ml de estreptomycin, 10 µg/ml de gentamicina, glutamina 2 mM) y se colocaron en placas en matraces T75 durante 3 días antes de cambiar de medio. Una vez que las células alcanzaron una confluencia del -90 %, los trozos de articulación se lavaron y las células se subcultivaron. Las células se expandieron y se congelaron en el pase 2 y se usaron para experimentos entre los pases 4 y 8.

Se hicieron crecer mFLS de ratones PTPRS +/- hasta una confluencia de -90 % y se privaron de alimento durante una noche. Se recubrieron insertos transwell (0,8 µm de tamaño de poro) con 100 µl de matrigel diluido 1:25 en medio frío sin suero que no contenía o contenía 100 µg/ml de sulfato de condroitina (CS) y se incubaron a 37 °C durante 2 horas antes de colocarlos en 600 µl de medio FLS que contenía FBS al 5 %. Se sembraron en placas 2,5 x 10⁴ células en cada cámara transwell en 100 µl de medio FLS que contenía BSA al 0,5 %. Se dejó que las células invadieran durante tres días a 37 °C, después de lo cual se aclararon los insertos transwell con PBS y se eliminaron las células de la membrana superior con un hisopo de algodón. Las células que estaban en la superficie de la membrana inferior se fijaron con metanol durante 10 minutos y se tiñeron con violeta cristal durante 30 minutos. Las células se visualizaron utilizando un microscopio óptico Nikon 80i y se utilizaron cinco campos de 100x por membrana para el recuento. Los resultados se muestran en la figura 3. El gráfico es representativo de tres experimentos independientes; tres pocillos por tratamiento; líneas celulares de crías de la misma camada hembra. La figura 3 muestra que PTPRS +/- FLS exhibe una inhibición de la invasión mediada por CS reducida.

Se hicieron crecer mFLS de ratones PTPRS +/- y PTPRS +/- hasta una confluencia de -90 % y se privaron de alimento durante una noche. Se humedecieron previamente insertos transwell (0,8 µm de tamaño de poro) con medio FLS sin suero a 37°C durante 30 minutos antes de colocarlos en 600 µl de medio FLS que contenía FBS al 5 %. Se sembraron en placas 2,5 x 10⁴ células en cada cámara transwell en 100 µl de medio FLS que contenía BSA al 0,5 % y concentraciones crecientes de sulfato de condroitina (CS). Se dejó que las células migraran durante 4 horas a 37 °C, después de lo cual se aclararon los insertos transwell con PBS y se eliminaron las células de la membrana superior con un hisopo de algodón. Las células que migraron a la superficie de la membrana inferior se fijaron con metanol durante 10 minutos y se tiñeron con violeta cristal durante 30 minutos. Las células se visualizaron utilizando un microscopio óptico Nikon 80i y se utilizaron cinco campos de 100x por membrana para el recuento. Los resultados se muestran en la figura 4. El asterisco significa una diferencia estadísticamente significativa entre las dos muestras. La figura 4 muestra que los PTPRS +/- mFLS son insensibles a CS a niveles aproximadamente 5 veces más altos que los de la articulación.

Se hicieron crecer mFLS de ratones PTPRS +/- y PTPRS +/- hasta una confluencia de -90 % y se privaron de alimento durante una noche. Se humedecieron previamente insertos transwell (0,8 µm de tamaño de poro) con medio FLS sin suero a 37°C durante 30 minutos antes de colocarlos en 600 µl de medio FLS que contenía FBS al 5 %. Se sembraron en placas 2,5 x 10⁴ células en cada cámara transwell en 100 µl de medio FLS que contenía BSA al 0,5 % con o sin 100 µg/ml de sulfato de condroitina (CS). Se dejó que las células migraran durante 4 horas a 37 °C, después de lo cual se aclararon los insertos transwell con PBS y se eliminaron las células de la membrana superior con un hisopo de algodón. Las células que migraron a la superficie de la membrana inferior se fijaron con metanol durante 10 minutos y se tiñeron con violeta cristal durante 30 minutos. Las células se visualizaron utilizando un microscopio óptico Nikon 80i y se utilizaron cinco campos de 100x por membrana para el recuento. Los resultados se muestran en la figura 5, que son representativos de tres experimentos independientes; tres pocillos por tratamiento; líneas celulares de crías de la misma camada hembra; confirmados en el segundo par independiente de líneas celulares macho. La figura 5 muestra que PTPRS +/- mFLS exhibe una inhibición de la migración mediada por CS reducida.

Se obtuvieron oligos antisentido morfolino permeables a las células de GeneTools (Philomath, OR) y se diseñaron para unir uniones intrón-exón y provocar el corte y empalme de un exón seleccionado dando como resultado un desplazamiento de marco. Esto finalmente provoca un producto de ARNm truncado y no funcional después de 7 días. Los resultados se muestran en la figura 6. Los morfolidos mediaron la inactivación de PTPRS en FLS primario de ratón y humano.

Para determinar el efecto de la inactivación de PTPRS en la artritis reumatoide (AR) humana, se sembraron hRA FLS en placas de 6 pocillos y se dejaron adherir durante una noche. Se reemplazó el medio que contenía oligo morfolino 2,5 µM (control o dirigido contra PTPRS) y se logró la inactivación después de 7 días (cambiando el medio y el oligo el día 3). A continuación, las células se privaron de alimento durante una noche antes del ensayo de migración. Se humedecieron previamente insertos transwell (0,8 µm de tamaño de poro) con medio FLS sin suero a 37°C durante 30 minutos antes de colocarlos en 600 µl de medio FLS que contenía FBS al 5 %. Se sembraron en placas 5 x 10⁴ células en cada cámara transwell en 100 µl de medio FLS que contenía BSA al 0,5 % con o sin 100 µg/ml de sulfato de condroitina (CS). Se dejó que las células migraran durante 24 horas a 37 °C, después de lo cual se aclararon los insertos transwell con PBS y se eliminaron las células de la membrana superior con un hisopo de algodón. Las células que migraron a la superficie de la membrana inferior se fijaron con metanol durante 10 minutos y se tiñeron con violeta cristal durante 30 minutos. Las células se visualizaron utilizando un microscopio

óptico Nikon 80i y se utilizaron cinco campos de 100x por membrana para el recuento. Los resultados se muestran en la figura 7, que son representativos de cinco experimentos independientes en tres líneas celulares de pacientes; tres pocillos por tratamiento. La figura 7 muestra que la inactivación de PTPRS aumenta la migración de RA FLS humano y anula la inhibición de la migración mediada por CS.

5 Para investigar más el papel de las PTP en las enfermedades autoinmunes, se analizó el PTPome de ARNm de RA FLS. Los resultados se muestran en la figura 8. Al menos 5 PTP se expresaron altamente en RA FLS, una de las cuales fue PTPRS.

10 Para estudiar más a fondo la expresión de PTPRS, se midió la expresión en FLS y macrófagos de ratones combinados mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa. Los resultados se muestran en las figuras 9A y 9B. Los valores son la media de la expresión de PTP con respecto al gen constitutivo GAPDH. La figura 9A muestra que FLS se clasificaron de ratones de control o ratones con artritis aguda o crónica inducida por suero K/BxN, y la figura 9B muestra macrófagos clasificados de ratón y FLS con PTPRC incluida como control positivo para la expresión en macrófagos.

20 Para estudiar más a fondo los efectos de PTPRS sobre la migración de FLS, se permitió la invasión de PTPRS WT o KO FLS a través de cámaras transwell recubiertas con Matrigel. Las células por campo se contaron después de la invasión durante 24 horas en respuesta a suero fetal bovino (FBS) al 5 % en presencia de sulfato de condroitina (CS). Los resultados se muestran en la figura 10A. En la figura 10B, se permitió que PTPRS WT o KO FLS migraran a través de cámaras transwell no revestidas. Las células por campo se contaron después de la migración durante 4 horas en respuesta a FBS al 5 % en presencia de CS con o sin tratamiento con condroitinasa ABC. Las barras indican la media $\pm$ error estándar del cambio múltiplo de migración con respecto a la de las células no tratadas. Los datos incluyen tres experimentos independientes que utilizan tres conjuntos de líneas celulares de crías de la misma camada. (**P <0,001; significancia determinada mediante la prueba de Mann-Whitney sobre datos brutos). Las figuras 10A y 10B muestran que los ratones PTPRS KO FLS no migraron en respuesta a CS.

30 Como se muestra en las figuras 11A y 11B, la inhibición de la migración de RA FLS por sulfato de condroitina (CS) depende de la expresión de PTPRS. La figura 11A es un gráfico de datos de RT-PCR que muestra la inactivación de PTPRS en RA FLS después de la incubación con oligo antisentido (ASO) durante 7 días. En la figura 11B, se permitió que PTPRS WT o KO FLS migraran a través de cámaras transwell no revestidas. Las células por campo se contaron después de la migración durante 4 h en respuesta a suero fetal bovino (FBS) al 5 % en presencia de CS con o sin tratamiento con condroitinasa ABC. Las barras indican la media $\pm$ error estándar del cambio múltiplo de migración con respecto a la de las células no tratadas. Los datos incluyen tres experimentos independientes que utilizan tres conjuntos de líneas celulares de crías de la misma camada. (**P <0,001; significancia determinada mediante la prueba de Mann-Whitney sobre datos brutos).

40 Como se muestra en las figuras 12A y 12B, el desplazamiento de PTPRS del sulfato de heparina (HS) es suficiente para inhibir la migración y la invasión de FLS. Se permitió la invasión de PTPRS WT o KO FLS a través de cámaras transwell no recubiertas. Las células por campo se contaron después de la migración durante 4 h en respuesta a suero fetal bovino (FBS) al 5 % en presencia de 20 nM de Ig1+2 en solitario (figura 12A) o además de 100 μ g/ml de CS (figura 12B). Las barras indican la media $\pm$ error estándar del cambio múltiplo de migración con respecto a la de las células no tratadas. Los datos incluyen tres experimentos independientes que utilizan tres conjuntos de líneas celulares de crías de la misma camada. (**P <0,01, ***P <0,001, ****P <0,0001; significancia determinada mediante la prueba de Mann-Whitney sobre datos brutos).

50 Para estudiar los efectos de Ig1 y 2 sobre el cartílago bovino, se tomaron micrografías de luz de explantes de cartílago bovino en presencia y ausencia de tratamiento con Ig1+2. La figura 13A muestra micrografías de luz teñidas con hematoxilina de Mayer con y sin tratamientos con Ig1+2. La figura 13B es un gráfico que muestra los recuentos celulares con y sin tratamientos con Ig1+2.

Las figuras 14A y 14B son gráficos que muestran la unión y desfosforilación de beta-catenina y cadherina. La figura 14A es una transferencia de Western de lisados de células totales o lisados incubados con sustrato de GST o GST-PTPRS D/A que atrapa el mutante de FLS no estimulado o estimulado por pervanadato. * representa GST-PTPRS D1 D/A y ** representa la etiqueta GST. Figura 14B Transferencia de Western que muestra una disminución de la fosforilación de tirosina de beta-catenina inmunopurificada en presencia de GST-PTPRS D1 en comparación con GST en solitario.

60 La figura 15 es un gráfico que muestra el efecto de Ig1 e Ig2 en la mejora de la artritis. Puntuación clínica de ratones BALB/c inducidos con artritis aguda mediante la administración de 100 μ l de suero K/BxN el Día 0 y tratados con vehículo (control) o 500 μ g de Ig1+2 al día desde los días 0 a 6. N = 3 por tratamiento. Análisis histopatológico de la articulación con y sin tratamiento con Ig1+2 más puntuación de erosión y daño del cartílago.

65 Como se muestra en la figura 16, el tratamiento de mFLS con Ig1+2 de PTPRS recombinante reduce la migración. Se hicieron crecer mFLS hasta una confluencia de -90 % y se privaron de alimento durante una noche. Se humedecieron previamente insertos transwell (0,8 μ m de tamaño de poro) con medio FLS sin suero a 37°C durante

30 minutos antes de colocarlos en 600 µl de medio FLS que contenía FBS al 5 %. Se colocaron en placas 2,5 x 10⁴ células en cada cámara transwell en 100 µl de medio FLS que contenía BSA al 0,5 % con concentraciones crecientes de dominios de Ig1+2 de PTPRS de ratón recombinante. Se dejó que las células migraran durante 4 horas a 37 °C, después de lo cual se aclararon los insertos transwell con PBS y se eliminaron las células de la membrana superior con un hisopo de algodón. Las células que migraron a la superficie de la membrana inferior se fijaron con metanol durante 10 minutos y se tiñeron con violeta cristal durante 30 minutos. Las células se visualizaron utilizando un microscopio óptico Nikon 80i y se utilizaron cinco campos de 100x por membrana para el recuento. La figura 16 muestra que Ig1+2 de PTPRS recombinante reduce la migración de FLS.

Como se muestra en la figura 17, PTPRS -/- mFLS son insensibles a la migración reducida mediada por Ig1+2 de PTPRS recombinante. Se hicieron crecer mFLS hasta una confluencia de -90 % y se privaron de alimento durante una noche. Se humedecieron previamente insertos transwell (0,8 µm de tamaño de poro) con medio FLS sin suero a 37°C durante 30 minutos antes de colocarlos en 600 µl de medio FLS que contenía FBS al 5 %. Se colocaron en placas 2,5 x 10⁴ células en cada cámara transwell en 100 µl de medio FLS que contenía BSA al 0,5 % y en presencia o ausencia de dominios Ig1+2 de PTPRS de ratón recombinante 20 nM y/o 100 µg/ml de sulfato de condroitina (CS). Se dejó que las células migraran durante 4 horas a 37 °C, después de lo cual se aclararon los insertos transwell con PBS y se eliminaron las células de la membrana superior con un hisopo de algodón. Las células que migraron a la superficie de la membrana inferior se fijaron con metanol durante 10 minutos y se tiñeron con violeta cristal durante 30 minutos. Las células se visualizaron utilizando un microscopio óptico Nikon 80i y se utilizaron cinco campos de 100x por membrana para el recuento. El asterisco en la figura 17 indica tres pocillos por tratamiento y líneas celulares de crías de la misma camada hembra. La figura 17 muestra que PTPRS-/- mFLS no responden al tratamiento con Ig1+2 de PTPRS.

El ejemplo y los datos proporcionados en el presente documento demuestran que la PTPRS se expresa altamente en FLS y se une al sulfato de condroitina (CS) con alta afinidad. Además, la PTPRS media la acción inhibitoria de CS sobre la migración e invasión de FLS y el dominio de unión a CS recombinante de PTPRS replica la acción de CS a concentraciones nanomolares. Estos datos sugieren que el modelo propuesto de competencia entre CS y HS para la unión de PTPRS es correcto. Véase la figura 18. Estos datos sugieren además que la PTPRS normalmente se encuentra principalmente en conformación inactiva debido a la fuerte unión a HS y que el desplazamiento de HS usando Ig1+2 recombinante o anticuerpos que imitan al CS, permite la activación de la fosfatasa. La PTPRS se expresa en niveles bajos en células hematopoyéticas y el ratón KO no tiene fenotipo hematopoyético, lo que sugiere que la terapia anti-PTPRS sería mínimamente inmunosupresora.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> La Jolla Institute of Allergy and Immunology Bottini, Nanzio Stanford, Stephanie

<120> PTPRS Y PROTEOGLICANOS EN ARTRITIS REUMATOIDE

<130> 93138-000400PC-880314

<150> 61/674.853

<151> 23/07/2012

<150> 61/675.036

<151> 24/07/2012

<150> 61/832.688

<151> 07/06/2013

<160> 13

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 97

<212> PRT

<213> *Mus musculus*

<400> 1

ES 2 817 897 T3

Glu Glu Pro Arg Phe Ile Lys Glu Pro Lys Asp Gln Ile Gly Val Ser
1 5 10 15

Gly Gly Val Ala Ser Phe Val Cys Gln Ala Thr Gly Asp Pro Lys Pro
20 25 30

Arg Val Thr Trp Asn Lys Lys Gly Lys Lys Val Asn Ser Gln Arg Phe
35 40 45

Glu Thr Ile Glu Phe Asp Glu Ser Ala Gly Ala Val Leu Arg Ile Gln
50 55 60

Pro Leu Arg Thr Pro Arg Asp Glu Asn Val Tyr Glu Cys Val Ala Gln
65 70 75 80

Asn Ser Val Gly Glu Ile Thr Val His Ala Lys Leu Thr Val Leu Arg
85 90 95

Glu

<210> 2
<211> 113
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<400> 2

Asp Gln Leu Pro Ser Gly Phe Pro Asn Ile Asp Met Gly Pro Gln Leu
1 5 10 15

Lys Val Val Glu Arg Thr Arg Thr Ala Thr Met Leu Cys Ala Ala Ser
20 25 30

Gly Asn Pro Asp Pro Glu Ile Thr Trp Phe Lys Asp Phe Leu Pro Val
35 40 45

Asp Pro Ser Ala Ser Asn Gly Arg Ile Lys Gln Leu Arg Ser Glu Thr
50 55 60

Phe Glu Ser Thr Pro Ile Arg Gly Ala Leu Gln Ile Glu Ser Ser Glu
65 70 75 80

Glu Thr Asp Gln Gly Lys Tyr Glu Cys Val Ala Thr Asn Ser Ala Gly
85 90 95

Val Arg Tyr Ser Ser Pro Ala Asn Leu Tyr Val Arg Val Arg Arg Val
100 105 110

Ala

ES 2 817 897 T3

<210> 3
 <211> 90
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

5

<400> 3

Pro Arg Phe Ser Ile Leu Pro Met Ser His Glu Ile Met Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Asn Val Asn Ile Thr Cys Val Ala Val Gly Ser Pro Met Pro Tyr Val
 20 25 30

Lys Trp Met Gln Gly Ala Glu Asp Leu Thr Pro Glu Asp Asp Met Pro
 35 40 45

Val Gly Arg Asn Val Leu Glu Leu Thr Asp Val Lys Asp Ser Ala Asn
 50 55 60

Tyr Thr Cys Val Ala Met Ser Ser Leu Gly Val Ile Glu Ala Val Ala
 65 70 75 80

Gln Ile Thr Val Lys Ser Leu Pro Lys Ala
 85 90

10

<210> 4
 <211> 1907
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

15

<400> 4

ES 2 817 897 T3

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

Val	Arg	Val	Arg	Arg	Val	Ala	Pro	Arg	Phe	Ser	Ile	Leu	Pro	Met	Ser	
225					230					235					240	
His	Glu	Ile	Met	Pro	Gly	Gly	Asn	Val	Asn	Ile	Thr	Cys	Val	Ala	Val	
				245					250					255		
Gly	Ser	Pro	Met	Pro	Tyr	Val	Lys	Trp	Met	Gln	Gly	Ala	Glu	Asp	Leu	
			260					265					270			
Thr	Pro	Glu	Asp	Asp	Met	Pro	Val	Gly	Arg	Asn	Val	Leu	Glu	Leu	Thr	
		275					280					285				
Asp	Val	Lys	Asp	Ser	Ala	Asn	Tyr	Thr	Cys	Val	Ala	Met	Ser	Ser	Leu	
	290					295					300					
Gly	Val	Ile	Glu	Ala	Val	Ala	Gln	Ile	Thr	Val	Lys	Ser	Leu	Pro	Lys	
305					310					315					320	
Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Val	Val	Thr	Glu	Asn	Thr	Ala	Thr	Ser	Ile	Thr	
				325					330					335		
Val	Thr	Trp	Asp	Ser	Gly	Asn	Pro	Asp	Pro	Val	Ser	Tyr	Tyr	Val	Ile	
			340					345					350			
Glu	Tyr	Lys	Ser	Lys	Ser	Gln	Asp	Gly	Pro	Tyr	Gln	Ile	Lys	Glu	Asp	
		355					360					365				
Ile	Thr	Thr	Thr	Arg	Tyr	Ser	Ile	Gly	Gly	Leu	Ser	Pro	Asn	Ser	Glu	
	370					375					380					
Tyr	Glu	Ile	Trp	Val	Ser	Ala	Val	Asn	Ser	Ile	Gly	Gln	Gly	Pro	Pro	
385					390					395					400	
Ser	Glu	Ser	Val	Val	Thr	Arg	Thr	Gly	Glu	Gln	Ala	Pro	Ala	Ser	Ala	
				405					410					415		
Pro	Arg	Asn	Val	Gln	Ala	Arg	Met	Leu	Ser	Ala	Thr	Thr	Met	Ile	Val	
			420					425					430			
Gln	Trp	Glu	Glu	Pro	Val	Glu	Pro	Asn	Gly	Leu	Ile	Arg	Gly	Tyr	Arg	
		435					440					445				
Val	Tyr	Tyr	Thr	Met	Glu	Pro	Glu	His	Pro	Val	Gly	Asn	Trp	Gln	Lys	
	450					455					460					
His	Asn	Val	Asp	Asp	Ser	Leu	Leu	Thr	Thr	Val	Gly	Ser	Leu	Leu	Glu	

ES 2 817 897 T3

465		470		475		480									
Asp	Glu	Thr	Tyr	Thr	Val	Arg	Val	Leu	Ala	Phe	Thr	Ser	Val	Gly	Asp
				485					490					495	
Gly	Pro	Leu	Ser	Asp	Pro	Ile	Gln	Val	Lys	Thr	Gln	Gln	Gly	Val	Pro
			500					505					510		
Gly	Gln	Pro	Met	Asn	Leu	Arg	Ala	Glu	Ala	Lys	Ser	Glu	Thr	Ser	Ile
		515					520					525			
Gly	Leu	Ser	Trp	Ser	Ala	Pro	Arg	Gln	Glu	Ser	Val	Ile	Lys	Tyr	Glu
	530					535					540				
Leu	Leu	Phe	Arg	Glu	Gly	Asp	Arg	Gly	Arg	Glu	Val	Gly	Arg	Thr	Phe
545					550					555					560
Asp	Pro	Thr	Thr	Ala	Phe	Val	Val	Glu	Asp	Leu	Lys	Pro	Asn	Thr	Glu
				565					570					575	
Tyr	Ala	Phe	Arg	Leu	Ala	Ala	Arg	Ser	Pro	Gln	Gly	Leu	Gly	Ala	Phe
			580					585					590		
Thr	Ala	Val	Val	Arg	Gln	Arg	Thr	Leu	Gln	Ala	Lys	Pro	Ser	Ala	Pro
		595					600					605			
Pro	Gln	Asp	Val	Lys	Cys	Thr	Ser	Leu	Arg	Ser	Thr	Ala	Ile	Leu	Val
	610					615					620				
Ser	Trp	Arg	Pro	Pro	Pro	Pro	Glu	Thr	His	Asn	Gly	Ala	Leu	Val	Gly
625					630					635					640
Tyr	Ser	Val	Arg	Tyr	Arg	Pro	Leu	Gly	Ser	Glu	Asp	Pro	Asp	Pro	Lys
				645					650					655	
Glu	Val	Asn	Asn	Ile	Pro	Pro	Thr	Thr	Thr	Gln	Ile	Leu	Leu	Glu	Ala
			660					665					670		
Leu	Glu	Lys	Trp	Thr	Glu	Tyr	Arg	Val	Thr	Ala	Val	Ala	Tyr	Thr	Glu
		675					680					685			
Val	Gly	Pro	Gly	Pro	Glu	Ser	Ser	Pro	Val	Val	Val	Arg	Thr	Asp	Glu
	690					695					700				
Asp	Val	Pro	Ser	Ala	Pro	Pro	Arg	Lys	Val	Glu	Ala	Glu	Ala	Leu	Asn
705					710					715					720

ES 2 817 897 T3

Ala Thr Ala Ile Arg Val Leu Trp Arg Ser Pro Thr Pro Gly Arg Gln
725 730 735

His Gly Gln Ile Arg Gly Tyr Gln Val His Tyr Val Arg Met Glu Gly
740 745 750

Ala Glu Ala Arg Gly Pro Pro Arg Ile Lys Asp Ile Met Leu Ala Asp
755 760 765

Ala Gln Glu Met Val Ile Thr Asn Leu Gln Pro Glu Thr Ala Tyr Ser
770 775 780

Ile Thr Val Ala Ala Tyr Thr Met Lys Gly Asp Gly Ala Arg Ser Lys
785 790 795 800

Pro Lys Val Val Val Thr Lys Gly Ala Val Leu Gly Arg Pro Thr Leu
805 810 815

Ser Val Gln Gln Thr Pro Glu Gly Ser Leu Leu Ala Arg Trp Glu Pro
820 825 830

Pro Ala Asp Ala Ala Glu Asp Pro Val Leu Gly Tyr Arg Leu Gln Phe
835 840 845

Gly Arg Glu Asp Ala Ala Pro Ala Thr Leu Glu Leu Ala Ala Trp Glu
850 855 860

Arg Arg Phe Ala Ala Pro Ala His Lys Gly Ala Thr Tyr Val Phe Arg
865 870 875 880

Leu Ala Ala Arg Gly Arg Ala Gly Leu Gly Glu Glu Ala Ala Ala Ala
885 890 895

Leu Ser Ile Pro Glu Asp Ala Pro Arg Gly Phe Pro Gln Ile Leu Gly
900 905 910

Ala Ala Gly Asn Val Ser Ala Gly Ser Val Leu Leu Arg Trp Leu Pro
915 920 925

Pro Val Pro Ala Glu Arg Asn Gly Ala Ile Ile Lys Tyr Thr Val Ser
930 935 940

Val Arg Glu Ala Gly Ala Pro Gly Pro Ala Thr Glu Thr Glu Leu Ala
945 950 955 960

Ala Ala Ala Gln Pro Gly Ala Glu Thr Ala Leu Thr Leu Arg Gly Leu
965 970 975

ES 2 817 897 T3

Arg Pro Glu Thr Ala Tyr Glu Leu Arg Val Arg Ala His Thr Arg Arg
980 985 990

Gly Pro Gly Pro Phe Ser Pro Pro Leu Arg Tyr Arg Leu Ala Arg Asp
995 1000 1005

Pro Val Ser Pro Lys Asn Phe Lys Val Lys Met Ile Met Lys Thr
1010 1015 1020

Ser Val Leu Leu Ser Trp Glu Phe Pro Asp Asn Tyr Asn Ser Pro
 1025 1030 1035

Thr Pro Tyr Lys Ile Gln Tyr Asn Gly Leu Thr Leu Asp Val Asp
1040 1045 1050

Gly Arg Thr Thr Lys Lys Leu Ile Thr His Leu Lys Pro His Thr
1055 1060 1065

Phe Tyr Asn Phe Val Leu Thr Asn Arg Gly Ser Ser Leu Gly Gly
1070 1075 1080

Leu Gln Gln Thr Val Thr Ala Arg Thr Ala Phe Asn Met Leu Ser
1085 1090 1095

Gly Lys Pro Ser Val Ala Pro Lys Pro Asp Asn Asp Gly Phe Ile
1100 1105 1110

```
Val Val Tyr Leu Pro Asp Gly Gln Ser Pro Val Thr Val Gln Asn
      1115                      1120                      1125
```

Tyr Phe Ile Val Met Val Pro Leu Arg Lys Ser Arg Gly Gly Gln
1130 1135 1140

Phe Pro Val Leu Leu Gly Ser Pro Glu Asp Met Asp Leu Glu Glu
1145 1150 1155

```

Leu Ile  Gln Asp Ile Ser Arg  Leu Gln Arg Arg Ser  Leu Arg His
    1160                                1165                1170

```

Ser Arg Gln Leu Glu Val Pro Arg Pro Tyr Ile Ala Ala Arg Phe
1175 1180 1185

Ser Ile Leu Pro Ala Val Phe His Pro Gly Asn Gln Lys Gln Tyr
1190 1195 1200

Gly Gly Phe Asp Asn Arg Gly Leu Glu Pro Gly His Arg Tyr Val
1205 1210 1215

ES 2 817 897 T3

Leu Phe	Val Leu Ala Val	Leu	Gln Lys Asn Glu	Pro	Thr Phe Ala
1220		1225		1230	
Ala Ser	Pro Phe Ser Asp	Pro	Phe Gln Leu Asp	Asn	Pro Asp Pro
1235		1240		1245	
Gln Pro	Ile Val Asp Gly	Glu	Glu Gly Leu Ile	Trp	Val Ile Gly
1250		1255		1260	
Pro Val	Leu Ala Val Val	Phe	Ile Ile Cys Ile	Val	Ile Ala Ile
1265		1270		1275	
Leu Leu	Tyr Lys Asn Lys	Pro	Asp Ser Lys Arg	Lys	Asp Ser Glu
1280		1285		1290	
Pro Arg	Thr Lys Cys Leu	Leu	Asn Asn Ala Asp	Leu	Ala Pro His
1295		1300		1305	
His Pro	Lys Asp Pro Val	Glu	Met Arg Arg Ile	Asn	Phe Gln Thr
1310		1315		1320	
Pro Gly	Met Leu Ser His	Pro	Pro Ile Pro Ile	Thr	Asp Met Ala
1325		1330		1335	
Glu His	Met Glu Arg Leu	Lys	Ala Asn Asp Ser	Leu	Lys Leu Ser
1340		1345		1350	
Gln Glu	Tyr Glu Ser Ile	Asp	Pro Gly Gln Gln	Phe	Thr Trp Glu
1355		1360		1365	
His Ser	Asn Leu Glu Ala	Asn	Lys Pro Lys Asn	Arg	Tyr Ala Asn
1370		1375		1380	
Val Ile	Ala Tyr Asp His	Ser	Arg Val Ile Leu	Gln	Pro Leu Glu
1385		1390		1395	
Gly Ile	Met Gly Ser Asp	Tyr	Ile Asn Ala Asn	Tyr	Val Asp Gly
1400		1405		1410	
Tyr Arg	Arg Gln Asn Ala	Tyr	Ile Ala Thr Gln	Gly	Pro Leu Pro
1415		1420		1425	
Glu Thr	Phe Gly Asp Phe	Trp	Arg Met Val Trp	Glu	Gln Arg Ser
1430		1435		1440	
Ala Thr	Val Val Met Met	Thr	Arg Leu Glu Glu	Lys	Ser Arg Ile

ES 2 817 897 T3

1445		1450		1455
Lys Cys Asp Gln Tyr Trp Pro Asn Arg Gly Thr Glu Thr Tyr Gly				
1460		1465		1470
Phe Ile Gln Val Thr Leu Leu Asp Thr Met Glu Leu Ala Thr Phe				
1475		1480		1485
Cys Val Arg Thr Phe Ser Leu His Lys Asn Gly Ser Ser Glu Lys				
1490		1495		1500
Arg Glu Val Arg His Phe Gln Phe Thr Ala Trp Pro Asp His Gly				
1505		1510		1515
Val Pro Glu Tyr Pro Thr Pro Phe Leu Ala Phe Leu Arg Arg Val				
1520		1525		1530
Lys Thr Cys Asn Pro Pro Asp Ala Gly Pro Ile Val Val His Cys				
1535		1540		1545
Ser Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Cys Phe Ile Val Ile Asp Ala				
1550		1555		1560
Met Leu Glu Arg Ile Lys Thr Glu Lys Thr Val Asp Val Tyr Gly				
1565		1570		1575
His Val Thr Leu Met Arg Ser Gln Arg Asn Tyr Met Val Gln Thr				
1580		1585		1590
Glu Asp Gln Tyr Gly Phe Ile His Glu Ala Leu Leu Glu Ala Val				
1595		1600		1605
Gly Cys Gly Asn Thr Glu Val Pro Ala Arg Ser Leu Tyr Thr Tyr				
1610		1615		1620
Ile Gln Lys Leu Ala Gln Val Glu Pro Gly Glu His Val Thr Gly				
1625		1630		1635
Met Glu Leu Glu Phe Lys Arg Leu Ala Ser Ser Lys Ala His Thr				
1640		1645		1650
Ser Arg Phe Ile Thr Ala Ser Leu Pro Cys Asn Lys Phe Lys Asn				
1655		1660		1665
Arg Leu Val Asn Ile Leu Pro Tyr Glu Ser Ser Arg Val Cys Leu				
1670		1675		1680

ES 2 817 897 T3

Gln	Pro	Ile	Arg	Gly	Val	Glu	Gly	Ser	Asp	Tyr	Ile	Asn	Ala	Ser
1685						1690					1695			
Phe	Ile	Asp	Gly	Tyr	Arg	Gln	Gln	Lys	Ala	Tyr	Ile	Ala	Thr	Gln
1700						1705					1710			
Gly	Pro	Leu	Ala	Glu	Thr	Thr	Glu	Asp	Phe	Trp	Arg	Ala	Leu	Trp
1715						1720					1725			
Glu	Asn	Asn	Ser	Thr	Ile	Val	Val	Met	Leu	Thr	Lys	Leu	Arg	Glu
1730						1735					1740			
Met	Gly	Arg	Glu	Lys	Cys	His	Gln	Tyr	Trp	Pro	Ala	Glu	Arg	Ser
1745						1750					1755			
Ala	Arg	Tyr	Gln	Tyr	Phe	Val	Val	Asp	Pro	Met	Ala	Glu	Tyr	Asn
1760						1765					1770			
Met	Pro	Gln	Tyr	Ile	Leu	Arg	Glu	Phe	Lys	Val	Thr	Asp	Ala	Arg
1775						1780					1785			
Asp	Gly	Gln	Ser	Arg	Thr	Val	Arg	Gln	Phe	Gln	Phe	Thr	Asp	Trp
1790						1795					1800			
Pro	Glu	Gln	Gly	Ala	Pro	Lys	Ser	Gly	Glu	Gly	Phe	Ile	Asp	Phe
1805						1810					1815			
Ile	Gly	Gln	Val	His	Lys	Thr	Lys	Glu	Gln	Phe	Gly	Gln	Asp	Gly
1820						1825					1830			
Pro	Ile	Ser	Val	His	Cys	Ser	Ala	Gly	Val	Gly	Arg	Thr	Gly	Val
1835						1840					1845			
Phe	Ile	Thr	Leu	Ser	Ile	Val	Leu	Glu	Arg	Met	Arg	Tyr	Glu	Gly
1850						1855					1860			
Val	Val	Asp	Ile	Phe	Gln	Thr	Val	Lys	Val	Leu	Arg	Thr	Gln	Arg
1865						1870					1875			
Pro	Ala	Met	Val	Gln	Thr	Glu	Asp	Glu	Tyr	Gln	Phe	Cys	Phe	Gln
1880						1885					1890			
Ala	Ala	Leu	Glu	Tyr	Leu	Gly	Ser	Phe	Asp	His	Tyr	Ala	Thr	
1895						1900					1905			

<210> 5
 <211> 98
 <212> PRT

ES 2 817 897 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 5

Glu Glu Pro Pro Arg Phe Ile Lys Glu Pro Lys Asp Gln Ile Gly Val
1 5 10 15

Ser Gly Gly Val Ala Ser Phe Val Cys Gln Ala Thr Gly Asp Pro Lys
20 25 30

Pro	Arg	Val	Thr	Trp	Asn	Lys	Lys	Gly	Lys	Lys	Val	Asn	Ser	Gln	Arg
		35				40						45			

Phe Glu Thr Ile Glu Phe Asp Glu Ser Ala Gly Ala Val Leu Arg Ile
50 55 60

Gln Pro Leu Arg Thr Pro Arg Asp Glu Asn Val Tyr Glu Cys Val Ala
65 70 75 80

Gln Asn Ser Val Gly Glu Ile Thr Val His Ala Lys Leu Thr Val Leu
85 90 95

Arg Glu

5

$\langle 210 \rangle$ 6

<211> 117

<212> PRT

10 <213> *Homo sapiens*

<400> 6

Asp Gln Leu Pro Ser Gly Phe Pro Asn Ile Asp Met Gly Pro Gln Leu
1 5 10 15

Lys Val Val Glu Arg Thr Arg Thr Ala Thr Met Leu Cys Ala Ala Ser
20 25 30

Gly Asn Pro Asp Pro Glu Ile Thr Trp Phe Lys Asp Phe Leu Pro Val
35 40 45

Asp Pro Ser Ala Ser Asn Gly Arg Ile Lys Gln Leu Arg Ser Glu Thr
50 55 60

Phe Glu Ser Thr Pro Ile Arg Gly Ala Leu Gln Ile Glu Ser Ser Glu
65 70 75 80

Glu Thr Asp Gln Gly Lys Tyr Glu Cys Val Ala Thr Asn Ser Ala Gly
85 90 95

15

ES 2 817 897 T3

Val Arg Tyr Ser Ser Pro Ala Asn Leu Tyr Val Arg Glu Leu Arg Glu
100 105 110

Val Arg Arg Val Ala
115

<210> 7
<211> 90
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 7

Pro Arg Phe Ser Ile Leu Pro Met Ser His Glu Ile Met Pro Gly Gly
1 5 10 15

Asn Val Asn Ile Thr Cys Val Ala Val Gly Ser Pro Met Pro Tyr Val
20 25 30

Lys Trp Met Gln Gly Ala Glu Asp Leu Thr Pro Glu Asp Asp Met Pro
35 40 45

Val Gly Arg Asn Val Leu Glu Leu Thr Asp Val Lys Asp Ser Ala Asn
50 55 60

Tyr Thr Cys Val Ala Met Ser Ser Leu Gly Val Ile Glu Ala Val Ala
65 70 75 80

Gln Ile Thr Val Lys Ser Leu Pro Lys Ala
85 90

<210> 8
<211> 1948
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 8

ES 2 817 897 T3

Met Ala Pro Thr Trp Gly Pro Gly Met Val Ser Val Val Gly Pro Met
1 5 10 15

Gly Leu Leu Val Val Leu Leu Val Gly Gly Cys Ala Ala Glu Glu Pro
20 25 30

Pro Arg Phe Ile Lys Glu Pro Lys Asp Gln Ile Gly Val Ser Gly Gly
35 40 45

Val Ala Ser Phe Val Cys Gln Ala Thr Gly Asp Pro Lys Pro Arg Val
50 55 60

Thr Trp Asn Lys Lys Gly Lys Lys Val Asn Ser Gln Arg Phe Glu Thr

ES 2 817 897 T3

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

ES 2 817 897 T3

Glu Ala Val Ala Gln Ile Thr Val Lys Ser Leu Pro Lys Ala Pro Gly
 325 330 335
 Thr Pro Met Val Thr Glu Asn Thr Ala Thr Ser Ile Thr Ile Thr Trp
 340 345 350
 Asp Ser Gly Asn Pro Asp Pro Val Ser Tyr Tyr Val Ile Glu Tyr Lys
 355 360 365
 Ser Lys Ser Gln Asp Gly Pro Tyr Gln Ile Lys Glu Asp Ile Thr Thr
 370 375 380
 Thr Arg Tyr Ser Ile Gly Gly Leu Ser Pro Asn Ser Glu Tyr Glu Ile
 385 390 395 400
 Trp Val Ser Ala Val Asn Ser Ile Gly Gln Gly Pro Pro Ser Glu Ser
 405 410 415
 Val Val Thr Arg Thr Gly Glu Gln Ala Pro Ala Ser Ala Pro Arg Asn
 420 425 430
 Val Gln Ala Arg Met Leu Ser Ala Thr Thr Met Ile Val Gln Trp Glu
 435 440 445
 Glu Pro Val Glu Pro Asn Gly Leu Ile Arg Gly Tyr Arg Val Tyr Tyr
 450 455 460
 Thr Met Glu Pro Glu His Pro Val Gly Asn Trp Gln Lys His Asn Val
 465 470 475 480
 Asp Asp Ser Leu Leu Thr Thr Val Gly Ser Leu Leu Glu Asp Glu Thr
 485 490 495
 Tyr Thr Val Arg Val Leu Ala Phe Thr Ser Val Gly Asp Gly Pro Leu
 500 505 510
 Ser Asp Pro Ile Gln Val Lys Thr Gln Gln Gly Val Pro Gly Gln Pro
 515 520 525
 Met Asn Leu Arg Ala Glu Ala Arg Ser Glu Thr Ser Ile Thr Leu Ser
 530 535 540
 Trp Ser Pro Pro Arg Gln Glu Ser Ile Ile Lys Tyr Glu Leu Leu Phe
 545 550 555 560
 Arg Glu Gly Asp His Gly Arg Glu Val Gly Arg Thr Phe Asp Pro Thr
 565 570 575

ES 2 817 897 T3

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

ES 2 817 897 T3

Leu Gly Arg Pro Thr Leu Ser Val Gln Gln Thr Pro Glu Gly Ser Leu
 835 840 845
 Leu Ala Arg Trp Glu Pro Pro Ala Gly Thr Ala Glu Asp Gln Val Leu
 850 855 860
 Gly Tyr Arg Leu Gln Phe Gly Arg Glu Asp Ser Thr Pro Leu Ala Thr
 865 870 875 880
 Leu Glu Phe Pro Pro Ser Glu Asp Arg Tyr Thr Ala Ser Gly Val His
 885 890 895
 Lys Gly Ala Thr Tyr Val Phe Arg Leu Ala Ala Arg Ser Arg Gly Gly
 900 905 910
 Leu Gly Glu Glu Ala Ala Glu Val Leu Ser Ile Pro Glu Asp Thr Pro
 915 920 925
 Arg Gly His Pro Gln Ile Leu Glu Ala Ala Gly Asn Ala Ser Ala Gly
 930 935 940
 Thr Val Leu Leu Arg Trp Leu Pro Pro Val Pro Ala Glu Arg Asn Gly
 945 950 955 960
 Ala Ile Val Lys Tyr Thr Val Ala Val Arg Glu Ala Gly Ala Leu Gly
 965 970 975
 Pro Ala Arg Glu Thr Glu Leu Pro Ala Ala Ala Glu Pro Gly Ala Glu
 980 985 990
 Asn Ala Leu Thr Leu Gln Gly Leu Lys Pro Asp Thr Ala Tyr Asp Leu
 995 1000 1005
 Gln Val Arg Ala His Thr Arg Arg Gly Pro Gly Pro Phe Ser Pro
 1010 1015 1020
 Pro Val Arg Tyr Arg Thr Phe Leu Arg Asp Gln Val Ser Pro Lys
 1025 1030 1035
 Asn Phe Lys Val Lys Met Ile Met Lys Thr Ser Val Leu Leu Ser
 1040 1045 1050
 Trp Glu Phe Pro Asp Asn Tyr Asn Ser Pro Thr Pro Tyr Lys Ile
 1055 1060 1065
 Gln Tyr Asn Gly Leu Thr Leu Asp Val Asp Gly Arg Thr Thr Lys

ES 2 817 897 T3

1070	1075	1080
Lys Leu Ile Thr His Leu 1085	Lys Pro His Thr Phe 1090	Tyr Asn Phe Val 1095
Leu Thr Asn Arg Gly Ser 1100	Ser Leu Gly Gly Leu 1105	Gln Gln Thr Val 1110
Thr Ala Trp Thr Ala Phe 1115	Asn Leu Leu Asn Gly 1120	Lys Pro Ser Val 1125
Ala Pro Lys Pro Asp Ala 1130	Asp Gly Phe Ile Met 1135	Val Tyr Leu Pro 1140
Asp Gly Gln Ser Pro Val 1145	Pro Val Gln Ser Tyr 1150	Phe Ile Val Met 1155
Val Pro Leu Arg Lys Ser 1160	Arg Gly Gly Gln Phe 1165	Leu Thr Pro Leu 1170
Gly Ser Pro Glu Asp Met 1175	Asp Leu Glu Glu Leu 1180	Ile Gln Asp Ile 1185
Ser Arg Leu Gln Arg Arg 1190	Ser Leu Arg His Ser 1195	Arg Gln Leu Glu 1200
Val Pro Arg Pro Tyr Ile 1205	Ala Ala Arg Phe Ser 1210	Val Leu Pro Pro 1215
Thr Phe His Pro Gly Asp 1220	Gln Lys Gln Tyr Gly 1225	Gly Phe Asp Asn 1230
Arg Gly Leu Glu Pro Gly 1235	His Arg Tyr Val Leu 1240	Phe Val Leu Ala 1245
Val Leu Gln Lys Ser Glu 1250	Pro Thr Phe Ala Ala 1255	Ser Pro Phe Ser 1260
Asp Pro Phe Gln Leu Asp 1265	Asn Pro Asp Pro Gln 1270	Pro Ile Val Asp 1275
Gly Glu Glu Gly Leu Ile 1280	Trp Val Ile Gly Pro 1285	Val Leu Ala Val 1290
Val Phe Ile Ile Cys Ile 1295	Val Ile Ala Ile Leu 1300	Leu Tyr Lys Asn 1305

ES 2 817 897 T3

Lys	Pro	Asp	Ser	Lys	Arg	Lys	Asp	Ser	Glu	Pro	Arg	Thr	Lys	Cys
1310						1315					1320			
Leu	Leu	Asn	Asn	Ala	Asp	Leu	Ala	Pro	His	His	Pro	Lys	Asp	Pro
1325						1330					1335			
Val	Glu	Met	Arg	Arg	Ile	Asn	Phe	Gln	Thr	Pro	Asp	Ser	Gly	Leu
1340						1345					1350			
Arg	Ser	Pro	Leu	Arg	Glu	Pro	Gly	Phe	His	Phe	Glu	Ser	Met	Leu
1355						1360					1365			
Ser	His	Pro	Pro	Ile	Pro	Ile	Ala	Asp	Met	Ala	Glu	His	Thr	Glu
1370						1375					1380			
Arg	Leu	Lys	Ala	Asn	Asp	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Gln	Glu	Tyr	Glu
1385						1390					1395			
Ser	Ile	Asp	Pro	Gly	Gln	Gln	Phe	Thr	Trp	Glu	His	Ser	Asn	Leu
1400						1405					1410			
Glu	Val	Asn	Lys	Pro	Lys	Asn	Arg	Tyr	Ala	Asn	Val	Ile	Ala	Tyr
1415						1420					1425			
Asp	His	Ser	Arg	Val	Ile	Leu	Gln	Pro	Ile	Glu	Gly	Ile	Met	Gly
1430						1435					1440			
Ser	Asp	Tyr	Ile	Asn	Ala	Asn	Tyr	Val	Asp	Gly	Tyr	Arg	Cys	Gln
1445						1450					1455			
Asn	Ala	Tyr	Ile	Ala	Thr	Gln	Gly	Pro	Leu	Pro	Glu	Thr	Phe	Gly
1460						1465					1470			
Asp	Phe	Trp	Arg	Met	Val	Trp	Glu	Gln	Arg	Ser	Ala	Thr	Ile	Val
1475						1480					1485			
Met	Met	Thr	Arg	Leu	Glu	Glu	Lys	Ser	Arg	Ile	Lys	Cys	Asp	Gln
1490						1495					1500			
Tyr	Trp	Pro	Asn	Arg	Gly	Thr	Glu	Thr	Tyr	Gly	Phe	Ile	Gln	Val
1505						1510					1515			
Thr	Leu	Leu	Asp	Thr	Ile	Glu	Leu	Ala	Thr	Phe	Cys	Val	Arg	Thr
1520						1525					1530			
Phe	Ser	Leu	His	Lys	Asn	Gly	Ser	Ser	Glu	Lys	Arg	Glu	Val	Arg
1535						1540					1545			

ES 2 817 897 T3

Gln Phe 1550	Gln Phe Thr Ala Trp 1555	Pro Asp His Gly Val 1560	Pro Glu Tyr
Pro Thr 1565	Pro Phe Leu Ala Phe 1570	Leu Arg Arg Val Lys 1575	Thr Cys Asn
Pro Pro 1580	Asp Ala Gly Pro Ile 1585	Val Val His Cys Ser 1590	Ala Gly Val
Gly Arg 1595	Thr Gly Cys Phe Ile 1600	Val Ile Asp Ala Met 1605	Leu Glu Arg
Ile Lys 1610	Pro Glu Lys Thr Val 1615	Asp Val Tyr Gly His 1620	Val Thr Leu
Met Arg 1625	Ser Gln Arg Asn Tyr 1630	Met Val Gln Thr Glu 1635	Asp Gln Tyr
Ser Phe 1640	Ile His Glu Ala Leu 1645	Leu Glu Ala Val Gly 1650	Cys Gly Asn
Thr Glu 1655	Val Pro Ala Arg Ser 1660	Leu Tyr Ala Tyr Ile 1665	Gln Lys Leu
Ala Gln 1670	Val Glu Pro Gly Glu 1675	His Val Thr Gly Met 1680	Glu Leu Glu
Phe Lys 1685	Arg Leu Ala Asn Ser 1690	Lys Ala His Thr Ser 1695	Arg Phe Ile
Ser Ala 1700	Asn Leu Pro Cys Asn 1705	Lys Phe Lys Asn Arg 1710	Leu Val Asn
Ile Met 1715	Pro Tyr Glu Ser Thr 1720	Arg Val Cys Leu Gln 1725	Pro Ile Arg
Gly Val 1730	Glu Gly Ser Asp Tyr 1735	Ile Asn Ala Ser Phe 1740	Ile Asp Gly
Tyr Arg 1745	Gln Gln Lys Ala Tyr 1750	Ile Ala Thr Gln Gly 1755	Pro Leu Ala
Glu Thr 1760	Thr Glu Asp Phe Trp 1765	Arg Met Leu Trp Glu 1770	Asn Asn Ser
Thr Ile 1775	Val Val Met Leu Thr 1780	Lys Leu Arg Glu Met 1785	Gly Arg Glu

ES 2 817 897 T3

Lys Cys His Gln Tyr Trp Pro Ala Glu Arg Ser Ala Arg Tyr Gln
 1790 1795 1800
 Tyr Phe Val Val Asp Pro Met Ala Glu Tyr Asn Met Pro Gln Tyr
 1805 1810 1815
 Ile Leu Arg Glu Phe Lys Val Thr Asp Ala Arg Asp Gly Gln Ser
 1820 1825 1830
 Arg Thr Val Arg Gln Phe Gln Phe Thr Asp Trp Pro Glu Gln Gly
 1835 1840 1845
 Val Pro Lys Ser Gly Glu Gly Phe Ile Asp Phe Ile Gly Gln Val
 1850 1855 1860
 His Lys Thr Lys Glu Gln Phe Gly Gln Asp Gly Pro Ile Ser Val
 1865 1870 1875
 His Cys Ser Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Val Phe Ile Thr Leu
 1880 1885 1890
 Ser Ile Val Leu Glu Arg Met Arg Tyr Glu Gly Val Val Asp Ile
 1895 1900 1905
 Phe Gln Thr Val Lys Met Leu Arg Thr Gln Arg Pro Ala Met Val
 1910 1915 1920
 Gln Thr Glu Asp Glu Tyr Gln Phe Cys Tyr Gln Ala Ala Leu Glu
 1925 1930 1935
 Tyr Leu Gly Ser Phe Asp His Tyr Ala Thr
 1940 1945

<210> 9
 <211> 1228
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 <400> 9

Glu Glu Pro Pro Arg Phe Ile Arg Glu Pro Lys Asp Gln Ile Gly Val
 1 5 10 15
 Ser Gly Gly Val Ala Ser Phe Val Cys Gln Ala Thr Gly Asp Pro Lys
 20 25 30
 Pro Arg Val Thr Trp Asn Lys Lys Gly Lys Lys Val Asn Ser Gln Arg
 35 40 45

5

10

ES 2 817 897 T3

Phe Glu Thr Ile Asp Phe Asp Glu Ser Ser Gly Ala Val Leu Arg Ile
 50 55 60

Gln Pro Leu Arg Thr Pro Arg Asp Glu Asn Val Tyr Glu Cys Val Ala
 65 70 75 80

Gln Asn Ser Val Gly Glu Ile Thr Ile His Ala Lys Leu Thr Val Leu
 85 90 95

Arg Glu Asp Gln Leu Pro Pro Gly Phe Pro Asn Ile Asp Met Gly Pro
 100 105 110

Gln Leu Lys Val Val Glu Arg Thr Arg Thr Ala Thr Met Leu Cys Ala
 115 120 125

Ala Ser Gly Asn Pro Asp Pro Glu Ile Thr Trp Phe Lys Asp Phe Leu
 130 135 140

Pro Val Asp Pro Ser Ala Ser Asn Gly Arg Ile Lys Gln Leu Arg Ser
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Gln Ile Glu Ser Ser Glu Glu Thr Asp Gln Gly Lys Tyr
 165 170 175

Glu Cys Val Ala Thr Asn Ser Ala Gly Val Arg Tyr Ser Ser Pro Ala
 180 185 190

Asn Leu Tyr Val Arg Val Arg Arg Val Ala Pro Arg Phe Ser Ile Leu
 195 200 205

Pro Met Ser His Glu Ile Met Pro Gly Gly Asn Val Asn Ile Thr Cys
 210 215 220

Val Ala Val Gly Ser Pro Met Pro Tyr Val Lys Trp Met Gln Gly Ala
 225 230 235 240

Glu Asp Leu Thr Pro Glu Asp Asp Met Pro Val Gly Arg Asn Val Leu
 245 250 255

Glu Leu Thr Asp Val Lys Asp Ser Ala Asn Tyr Thr Cys Val Ala Met
 260 265 270

Ser Ser Leu Gly Val Ile Glu Ala Val Ala Gln Ile Thr Val Lys Ser
 275 280 285

Leu Pro Lys Ala Pro Gly Thr Pro Val Val Thr Glu Asn Thr Ala Thr

ES 2 817 897 T3

290	295	300
Ser Ile Thr Val Thr Trp Asp Ser Gly Asn Pro Asp Pro Val Ser Tyr 305 310 315 320		
Tyr Val Ile Glu Tyr Lys Ser Lys Ser Gln Asp Gly Pro Tyr Gln Ile 325 330 335		
Lys Glu Asp Ile Thr Thr Thr Arg Tyr Ser Ile Gly Gly Leu Ser Pro 340 345 350		
Asn Ser Glu Tyr Glu Ile Trp Val Ser Ala Val Asn Ser Ile Gly Gln 355 360 365		
Gly Pro Pro Ser Glu Ser Val Val Thr Arg Thr Gly Glu Gln Ala Pro 370 375 380		
Ala Ser Ala Pro Arg Asn Val Gln Ala Arg Met Leu Ser Ala Thr Thr 385 390 395 400		
Met Ile Val Gln Trp Glu Glu Pro Val Glu Pro Asn Gly Leu Ile Arg 405 410 415		
Gly Tyr Arg Val Tyr Tyr Thr Met Glu Pro Glu His Pro Val Gly Asn 420 425 430		
Trp Gln Lys His Asn Val Asp Asp Ser Leu Leu Thr Thr Val Gly Ser 435 440 445		
Leu Leu Glu Asp Glu Thr Tyr Thr Val Arg Val Leu Ala Phe Thr Ser 450 455 460		
Val Gly Asp Gly Pro Leu Ser Asp Pro Ile Gln Val Lys Thr Gln Gln 465 470 475 480		
Gly Val Pro Gly Gln Pro Met Asn Leu Arg Ala Glu Ala Lys Ser Glu 485 490 495		
Thr Ser Ile Gly Leu Ser Trp Ser Ala Pro Arg Gln Glu Ser Val Ile 500 505 510		
Lys Tyr Glu Leu Leu Phe Arg Glu Gly Asp Arg Gly Arg Glu Val Gly 515 520 525		
Arg Thr Phe Asp Pro Thr Thr Ala Phe Val Val Glu Asp Leu Lys Pro 530 535 540		

ES 2 817 897 T3

Asn Thr Glu Tyr Ala Phe Arg Leu Ala Ala Arg Ser Pro Gln Gly Leu
 545 550 555 560

Gly Ala Phe Thr Ala Val Val Arg Gln Arg Thr Leu Gln Ala Lys Pro
 565 570 575

Ser Ala Pro Pro Gln Asp Val Lys Cys Thr Ser Leu Arg Ser Thr Ala
 580 585 590

Ile Leu Val Ser Trp Arg Pro Pro Pro Pro Glu Thr His Asn Gly Ala
 595 600 605

Leu Val Gly Tyr Ser Val Arg Tyr Arg Pro Leu Gly Ser Glu Asp Pro
 610 615 620

Asp Pro Lys Glu Val Asn Asn Ile Pro Pro Thr Thr Thr Gln Ile Leu
 625 630 635 640

Leu Glu Ala Leu Glu Lys Trp Thr Glu Tyr Arg Val Thr Ala Val Ala
 645 650 655

Tyr Thr Glu Val Gly Pro Gly Pro Glu Ser Ser Pro Val Val Val Arg
 660 665 670

Thr Asp Glu Asp Val Pro Ser Ala Pro Pro Arg Lys Val Glu Ala Glu
 675 680 685

Ala Leu Asn Ala Thr Ala Ile Arg Val Leu Trp Arg Ser Pro Thr Pro
 690 695 700

Gly Arg Gln His Gly Gln Ile Arg Gly Tyr Gln Val His Tyr Val Arg
 705 710 715 720

Met Glu Gly Ala Glu Ala Arg Gly Pro Pro Arg Ile Lys Asp Ile Met
 725 730 735

Leu Ala Asp Ala Gln Glu Met Val Ile Thr Asn Leu Gln Pro Glu Thr
 740 745 750

Ala Tyr Ser Ile Thr Val Ala Ala Tyr Thr Met Lys Gly Asp Gly Ala
 755 760 765

Arg Ser Lys Pro Lys Val Val Val Thr Lys Gly Ala Val Leu Gly Arg
 770 775 780

Pro Thr Leu Ser Val Gln Gln Thr Pro Glu Gly Ser Leu Leu Ala Arg
 785 790 795 800

ES 2 817 897 T3

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

ES 2 817 897 T3

Gly Leu Gln Gln Thr Val Thr Ala Arg Thr Ala Phe Asn Met Leu
1055 1060 1065

Ser Gly Lys Pro Ser Val Ala Pro Lys Pro Asp Asn Asp Gly Phe
1070 1075 1080

Ile Val Val Tyr Leu Pro Asp Gly Gln Ser Pro Val Thr Val Gln
1085 1090 1095

Asn Tyr Phe Ile Val Met Val Pro Leu Arg Lys Ser Arg Gly Gly
1100 1105 1110

Gln Phe Pro Val Leu Leu Gly Ser Pro Glu Asp Met Asp Leu Glu
1115 1120 1125

Glu Leu Ile Gln Asp Ile Ser Arg Leu Gln Arg Arg Ser Leu Arg
1130 1135 1140

His Ser Arg Gln Leu Glu Val Pro Arg Pro Tyr Ile Ala Ala Arg
1145 1150 1155

Phe Ser Ile Leu Pro Ala Val Phe His Pro Gly Asn Gln Lys Gln
1160 1165 1170

Tyr Gly Gly Phe Asp Asn Arg Gly Leu Glu Pro Gly His Arg Tyr
1175 1180 1185

Val Leu Phe Val Leu Ala Val Leu Gln Lys Asn Glu Pro Thr Phe
1190 1195 1200

Ala Ala Ser Pro Phe Ser Asp Pro Phe Gln Leu Asp Asn Pro Asp
1205 1210 1215

Pro Gln Pro Ile Val Asp Gly Glu Glu Gly
1220 1225

<210> 10
<211> 1253
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 10

Glu Glu Pro Pro Arg Phe Ile Lys Glu Pro Lys Asp Gln Ile Gly Val
1 5 10 15

Ser Gly Gly Val Ala Ser Phe Val Cys Gln Ala Thr Gly Asp Pro Lys
20 25 30

ES 2 817 897 T3

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

ES 2 817 897 T3

275	280	285
Gly Val Ile Glu Ala Val Ala Gln Ile Thr Val Lys Ser Leu Pro Lys 290 295 300		
Ala Pro Gly Thr Pro Met Val Thr Glu Asn Thr Ala Thr Ser Ile Thr 305 310 315 320		
Ile Thr Trp Asp Ser Gly Asn Pro Asp Pro Val Ser Tyr Tyr Val Ile 325 330 335		
Glu Tyr Lys Ser Lys Ser Gln Asp Gly Pro Tyr Gln Ile Lys Glu Asp 340 345 350		
Ile Thr Thr Thr Arg Tyr Ser Ile Gly Gly Leu Ser Pro Asn Ser Glu 355 360 365		
Tyr Glu Ile Trp Val Ser Ala Val Asn Ser Ile Gly Gln Gly Pro Pro 370 375 380		
Ser Glu Ser Val Val Thr Arg Thr Gly Glu Gln Ala Pro Ala Ser Ala 385 390 395 400		
Pro Arg Asn Val Gln Ala Arg Met Leu Ser Ala Thr Thr Met Ile Val 405 410 415		
Gln Trp Glu Glu Pro Val Glu Pro Asn Gly Leu Ile Arg Gly Tyr Arg 420 425 430		
Val Tyr Tyr Thr Met Glu Pro Glu His Pro Val Gly Asn Trp Gln Lys 435 440 445		
His Asn Val Asp Asp Ser Leu Leu Thr Thr Val Gly Ser Leu Leu Glu 450 455 460		
Asp Glu Thr Tyr Thr Val Arg Val Leu Ala Phe Thr Ser Val Gly Asp 465 470 475 480		
Gly Pro Leu Ser Asp Pro Ile Gln Val Lys Thr Gln Gln Gly Val Pro 485 490 495		
Gly Gln Pro Met Asn Leu Arg Ala Glu Ala Arg Ser Glu Thr Ser Ile 500 505 510		
Thr Leu Ser Trp Ser Pro Pro Arg Gln Glu Ser Ile Ile Lys Tyr Glu 515 520 525		

ES 2 817 897 T3

Leu Leu Phe Arg Glu Gly Asp His Gly Arg Glu Val Gly Arg Thr Phe
 530 535 540

Asp Pro Thr Thr Ser Tyr Val Val Glu Asp Leu Lys Pro Asn Thr Glu
 545 550 555 560

Tyr Ala Phe Arg Leu Ala Ala Arg Ser Pro Gln Gly Leu Gly Ala Phe
 565 570 575

Thr Pro Val Val Arg Gln Arg Thr Leu Gln Ser Lys Pro Ser Ala Pro
 580 585 590

Pro Gln Asp Val Lys Cys Val Ser Val Arg Ser Thr Ala Ile Leu Val
 595 600 605

Ser Trp Arg Pro Pro Pro Pro Glu Thr His Asn Gly Ala Leu Val Gly
 610 615 620

Tyr Ser Val Arg Tyr Arg Pro Leu Gly Ser Glu Asp Pro Glu Pro Lys
 625 630 635 640

Glu Val Asn Gly Ile Pro Pro Thr Thr Thr Gln Ile Leu Leu Glu Ala
 645 650 655

Leu Glu Lys Trp Thr Gln Tyr Arg Ile Thr Thr Val Ala His Thr Glu
 660 665 670

Val Gly Pro Gly Pro Glu Ser Ser Pro Val Val Val Arg Thr Asp Glu
 675 680 685

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

Ala Thr Ala Ile Arg Val Leu Trp Arg Ser Pro Ala Pro Gly Arg Gln
 705 710 715 720

His Gly Gln Ile Arg Gly Tyr Gln Val His Tyr Val Arg Met Glu Gly
 725 730 735

Ala Glu Ala Arg Gly Pro Pro Arg Ile Lys Asp Val Met Leu Ala Asp
 740 745 750

Ala Gln Trp Glu Thr Asp Asp Thr Ala Glu Tyr Glu Met Val Ile Thr
 755 760 765

Asn Leu Gln Pro Glu Thr Ala Tyr Ser Ile Thr Val Ala Ala Tyr Thr
 770 775 780

ES 2 817 897 T3

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

ES 2 817 897 T3

Ile	Gln	Tyr	Asn	Gly	Leu	Thr	Leu	Asp	Val	Asp	Gly	Arg	Thr	Thr
1040						1045					1050			
Lys	Lys	Leu	Ile	Thr	His	Leu	Lys	Pro	His	Thr	Phe	Tyr	Asn	Phe
1055						1060					1065			
Val	Leu	Thr	Asn	Arg	Gly	Ser	Ser	Leu	Gly	Gly	Leu	Gln	Gln	Thr
1070						1075					1080			
Val	Thr	Ala	Trp	Thr	Ala	Phe	Asn	Leu	Leu	Asn	Gly	Lys	Pro	Ser
1085						1090					1095			
Val	Ala	Pro	Lys	Pro	Asp	Ala	Asp	Gly	Phe	Ile	Met	Val	Tyr	Leu
1100						1105					1110			
Pro	Asp	Gly	Gln	Ser	Pro	Val	Pro	Val	Gln	Ser	Tyr	Phe	Ile	Val
1115						1120					1125			
Met	Val	Pro	Leu	Arg	Lys	Ser	Arg	Gly	Gly	Gln	Phe	Leu	Thr	Pro
1130						1135					1140			
Leu	Gly	Ser	Pro	Glu	Asp	Met	Asp	Leu	Glu	Glu	Leu	Ile	Gln	Asp
1145						1150					1155			
Ile	Ser	Arg	Leu	Gln	Arg	Arg	Ser	Leu	Arg	His	Ser	Arg	Gln	Leu
1160						1165					1170			
Glu	Val	Pro	Arg	Pro	Tyr	Ile	Ala	Ala	Arg	Phe	Ser	Val	Leu	Pro
1175						1180					1185			
Pro	Thr	Phe	His	Pro	Gly	Asp	Gln	Lys	Gln	Tyr	Gly	Gly	Phe	Asp
1190						1195					1200			
Asn	Arg	Gly	Leu	Glu	Pro	Gly	His	Arg	Tyr	Val	Leu	Phe	Val	Leu
1205						1210					1215			
Ala	Val	Leu	Gln	Lys	Ser	Glu	Pro	Thr	Phe	Ala	Ala	Ser	Pro	Phe
1220						1225					1230			
Ser	Asp	Pro	Phe	Gln	Leu	Asp	Asn	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Ile	Val
1235						1240					1245			
Asp	Gly	Glu	Glu	Gly										
1250														

<210> 11
 <211> 86
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Polipéptido sintético

5 <400> 11

```

Pro Lys Asp Gln Ile Gly Val Ser Gly Gly Val Ala Ser Phe Val Cys
1           5           10           15

Gln Ala Thr Gly Asp Pro Lys Pro Arg Val Thr Trp Asn Lys Lys Gly
20           25           30

Lys Lys Val Asn Ser Gln Arg Phe Glu Thr Ile Glu Phe Asp Glu Ser
35           40           45

Ala Gly Ala Val Leu Arg Ile Gln Pro Leu Arg Thr Pro Arg Asp Glu
50           55           60

Asn Val Tyr Glu Cys Val Ala Gln Asn Ser Val Gly Glu Ile Thr Val
65           70           75           80

His Ala Lys Leu Thr Val
85

```

<210> 12

10 <211> 82

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Polipéptido sintético

<400> 12

```

Ala Thr Met Leu Cys Ala Ala Ser Gly Asn Pro Asp Pro Glu Ile Thr
1           5           10           15

Trp Phe Lys Asp Phe Leu Pro Val Asp Pro Ser Ala Ser Asn Gly Arg
20           25           30

Ile Lys Gln Leu Arg Ser Glu Thr Phe Glu Ser Thr Pro Ile Arg Gly
35           40           45

Ala Leu Gln Ile Glu Ser Ser Glu Glu Thr Asp Gln Gly Lys Tyr Glu
50           55           60

Cys Val Ala Thr Asn Ser Ala Gly Val Arg Tyr Ser Ser Pro Ala Asn
65           70           75           80

```

20

Leu Tyr

<210> 13
 <211> 69
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Polipéptido sintético

 10 <400> 13

 Gly Gly Asn Val Asn Ile Thr Cys Val Ala Val Gly Ser Pro Met Pro
 1 5 10 15

 Tyr Val Lys Trp Met Gln Gly Ala Glu Asp Leu Thr Pro Glu Asp Asp
 20 25 30

 Met Pro Val Gly Arg Asn Val Leu Glu Leu Thr Asp Val Lys Asp Ser
 35 40 45

 Ala Asn Tyr Thr Cys Val Ala Met Ser Ser Leu Gly Val Ile Glu Ala
 50 55 60

 Val Ala Gln Ile Thr
 65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una proteína recombinante no enzimática que comprende una secuencia de aminoácidos de un dominio extracelular de PTPRS, donde la proteína comprende tanto el dominio 1 (Ig1) de tipo inmunoglobulina como el dominio 2 de tipo inmunoglobulina (Ig2) de PTPRS, para su uso en terapia.
- 10 2. La proteína recombinante no enzimática para su uso según la reivindicación 1, donde el dominio extracelular de PTPRS comprende el dominio 1 (Ig1) de tipo inmunoglobulina, el dominio 2 de tipo inmunoglobulina (Ig2) y el dominio 3 de tipo inmunoglobulina (Ig3) de PTPRS.
3. La proteína recombinante no enzimática para su uso según la reivindicación 1 o 2, donde la proteína comprende los residuos de aminoácidos de Ig1 30 a 127 de SEQ ID NO: 4 o los residuos de aminoácidos 30-127 de SEQ ID NO: 8.
- 15 4. La proteína recombinante no enzimática para su uso según la reivindicación 3, donde la proteína comprende una secuencia de aminoácidos expuesta como:
EEPRFIKEPKDQIGVSGGVASFVCQATGDPKPRVTWNKKGKKVNSQRFETIEFDESA
GAVLRIQPLRTPRDENVYECVAQNSVGEITVHAKLTVLRE (SEQ ID NO: 1) o como se expone en la SEQ ID NO: 5.
- 20 5. La proteína recombinante no enzimática para su uso según la reivindicación 1 o 2, donde la proteína comprende los residuos de aminoácidos de Ig2 128 a 231 de SEQ ID NO: 4 o los residuos de aminoácidos 128-244 de SEQ ID NO: 8.
- 25 6. La proteína recombinante no enzimática para su uso según la reivindicación 5, donde la proteína comprende una secuencia de aminoácidos expuesta como:
DQLPSGFPNIDMGPQLKVVERTRTATMLCAASGNPDPEITWFKDFLPVDPSASNGRI
KQLRSETFESTPIRGALQIESSEETDQGKYECVATNSAGVRYSSPANLYVRVRRVA (SEQ ID NO: 2) o como se expone en la SEQ ID NO: 6.
- 30 7. La proteína recombinante no enzimática para su uso según la reivindicación 1 o 2, donde la proteína comprende los residuos de aminoácidos de Ig3 322-321 de SEQ ID NO: 4 o los residuos de aminoácidos 245-334 de SEQ ID NO: 8.
- 35 8. La proteína recombinante no enzimática para su uso según la reivindicación 7, donde la proteína comprende una secuencia de aminoácidos expuesta como:
PRFSILPMSHEIMPGGNVNITCVAVGSPMPYVKWMQGAEDLTPEDDMPVGRNVLEL
TDVKDSANYTCVAMSSSLGVIEAVAQITVKSLPKA (SEQ ID NO: 3) o como se expone en la SEQ ID NO: 7.
- 40 9. La proteína recombinante no enzimática para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde la proteína se une al heparán sulfato.
10. La proteína recombinante no enzimática para su uso como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para uso en el tratamiento de un sujeto que tiene artritis.
- 45 11. La proteína recombinante no enzimática para su uso según la reivindicación 10, donde la artritis es artritis reumatoide.
12. Un agente de desagrupación de PTPRS para su uso en un método de tratamiento de artritis donde el agente de desagrupación de PTPRS se selecciona de: la proteína recombinante no enzimática como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10; un anticuerpo anti-PTPRS, o un fragmento del mismo; o un anticuerpo antiheparán sulfato, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del agente de desagrupación de PTPRS, donde la administración trata la artritis en el sujeto.
- 50 13. El agente de desagrupación de PTPRS para su uso según la reivindicación 12, donde la artritis es artritis reumatoide.
- 55

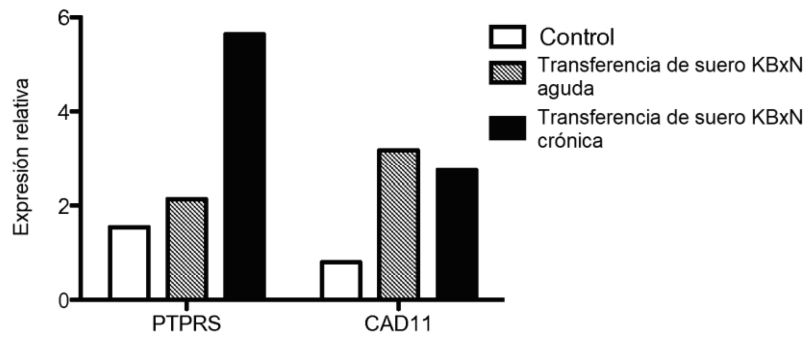


FIG. 1A

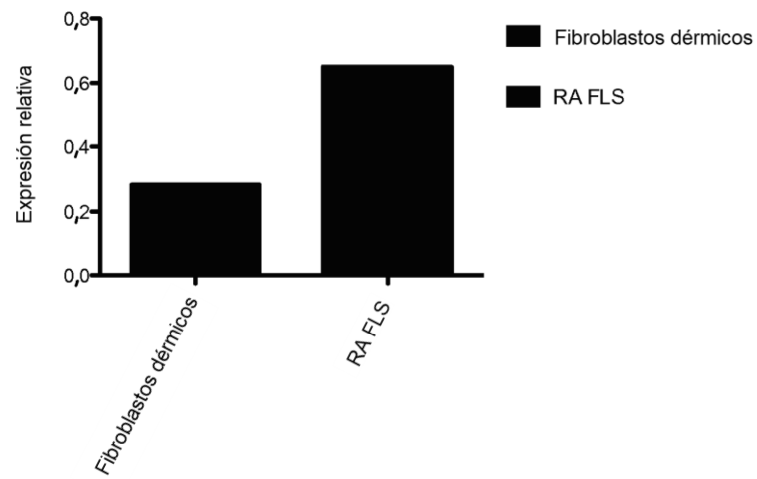


FIG. 1B

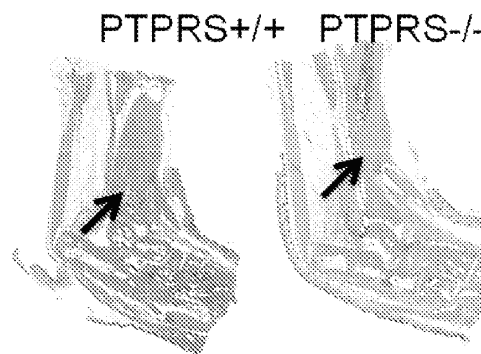


FIG. 2A

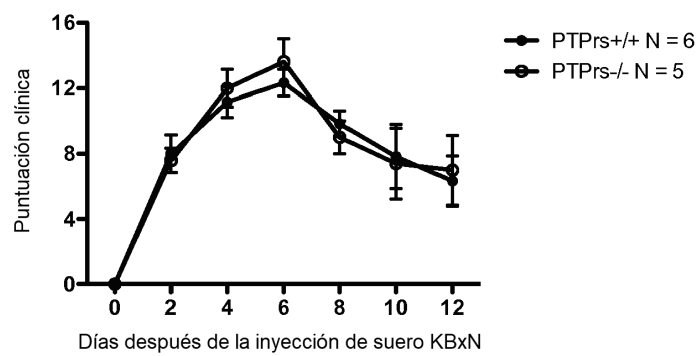


FIG. 2B

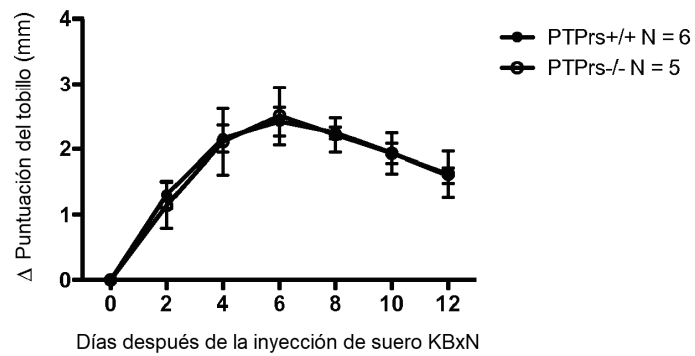


FIG. 2C

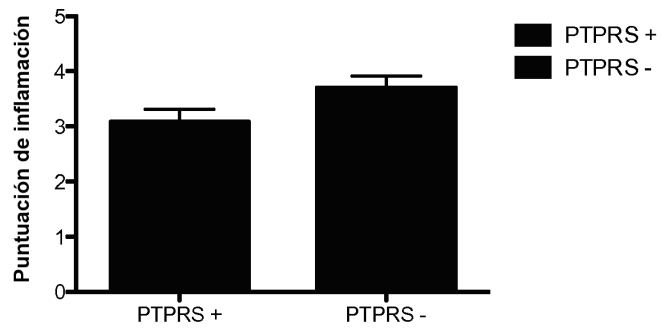


FIG. 2D

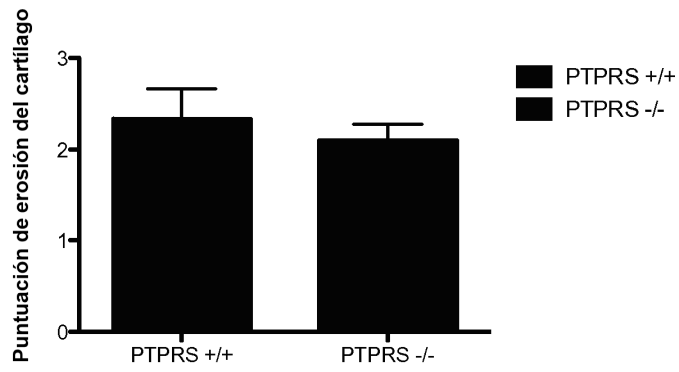


FIG. 2E

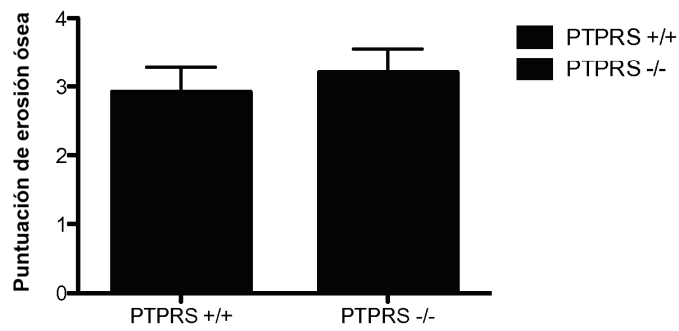


FIG. 2F

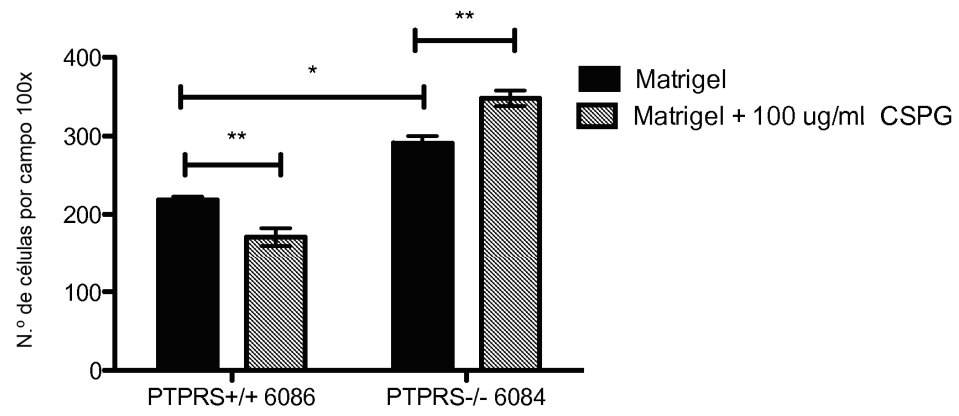


FIG. 3

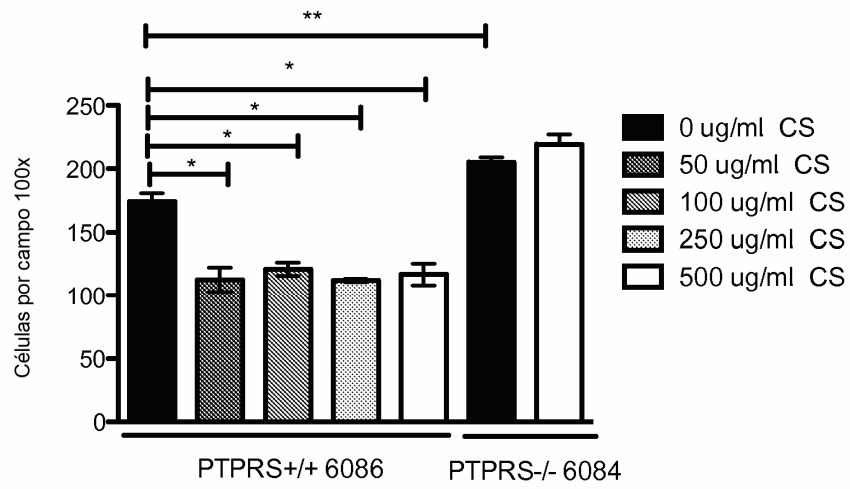


FIG. 4

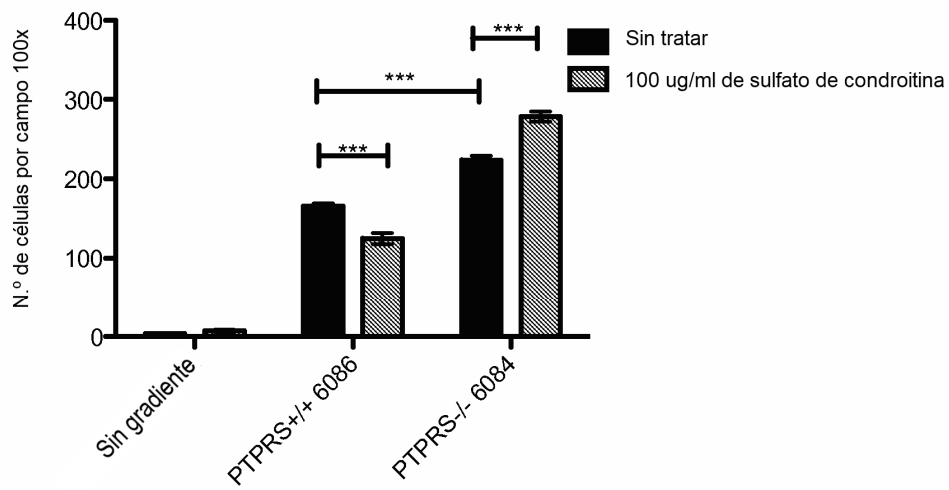


FIG. 5

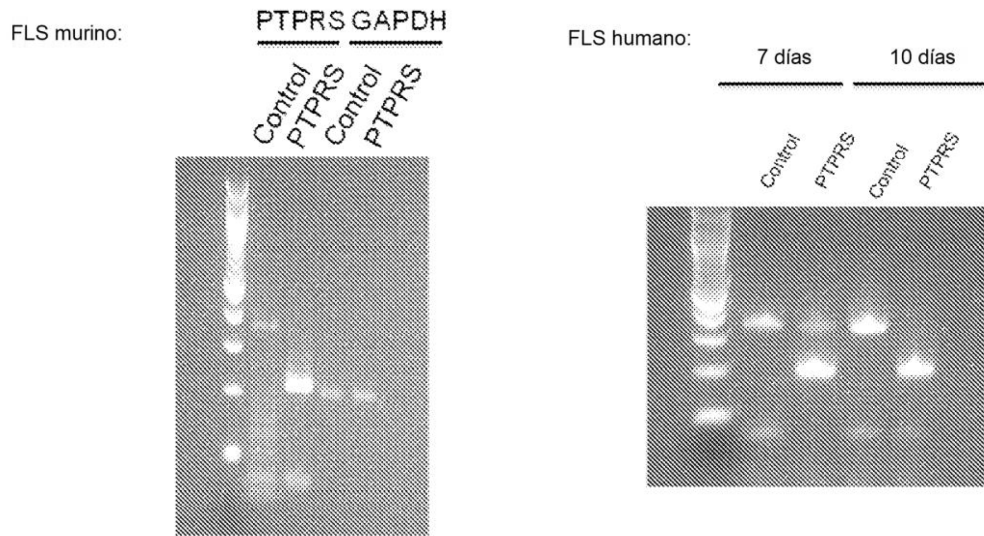


FIG. 6

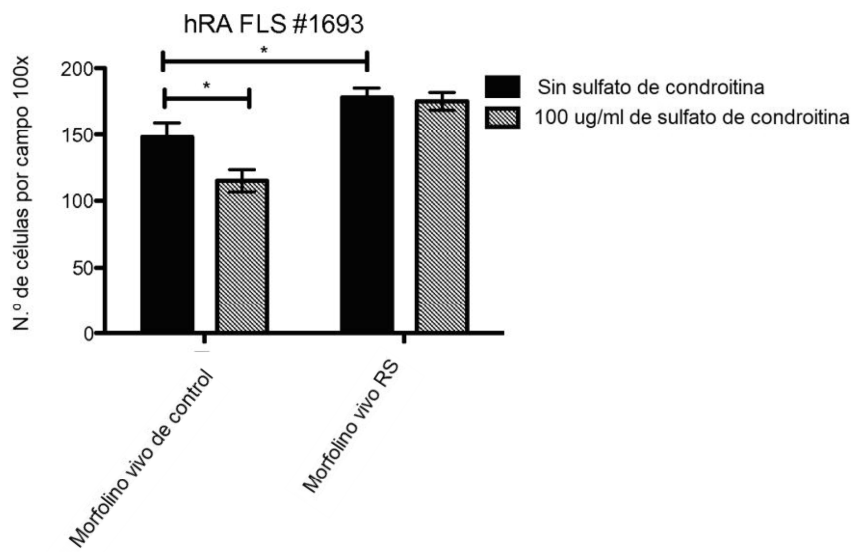


FIG. 7

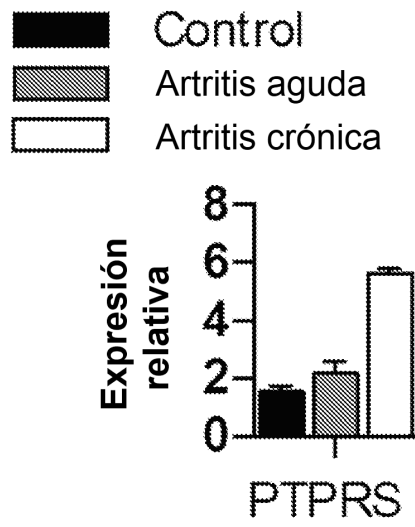


FIG. 9A

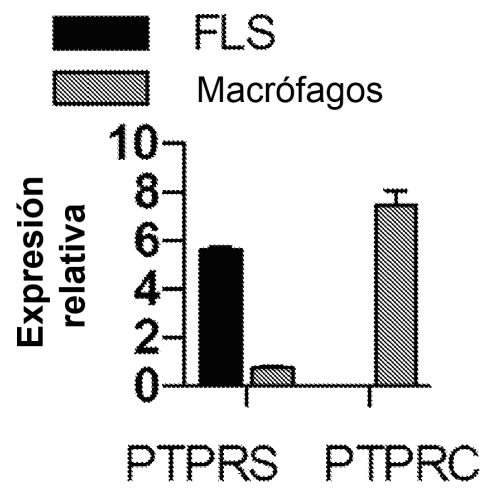


FIG. 9B

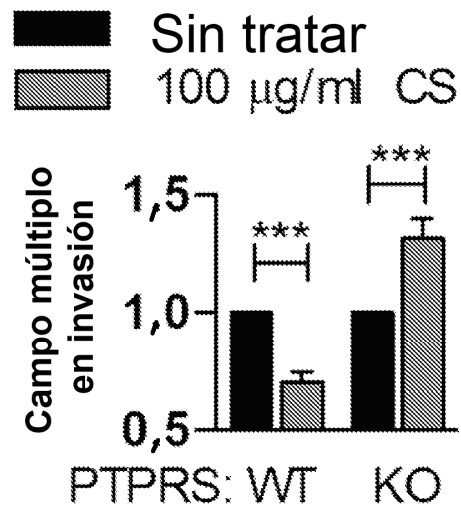


FIG. 10A

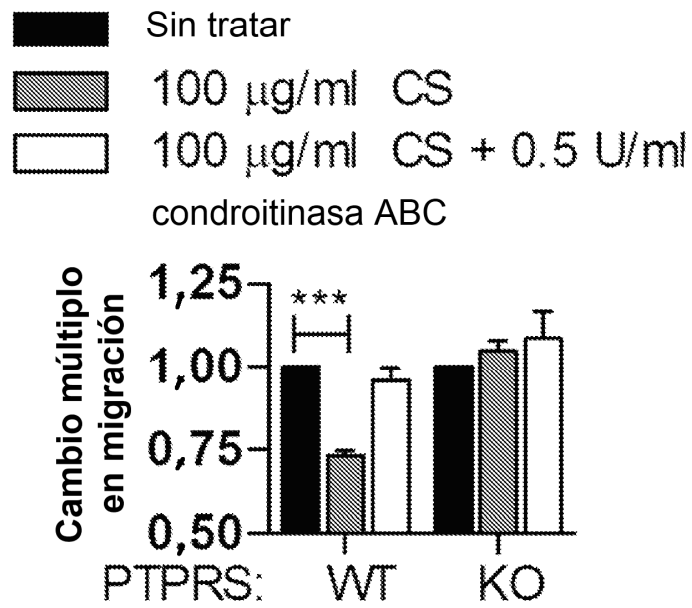


FIG. 10B

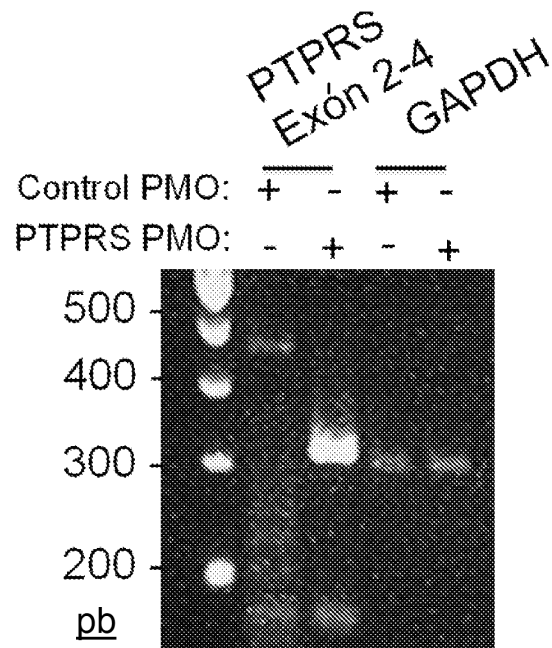


FIG. 11A

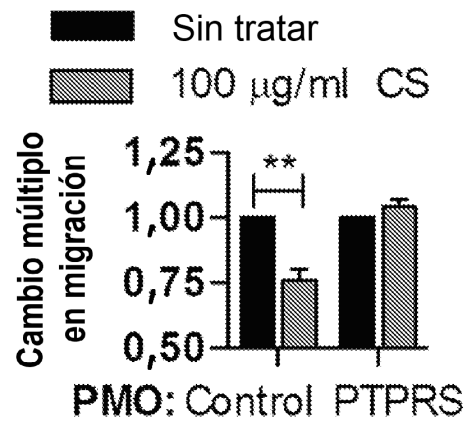


FIG. 11B

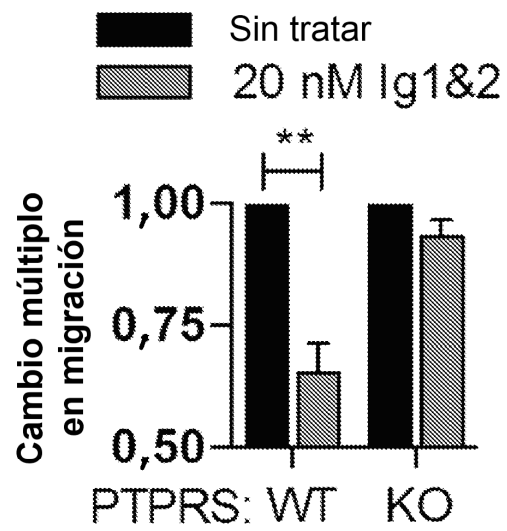


FIG. 12A

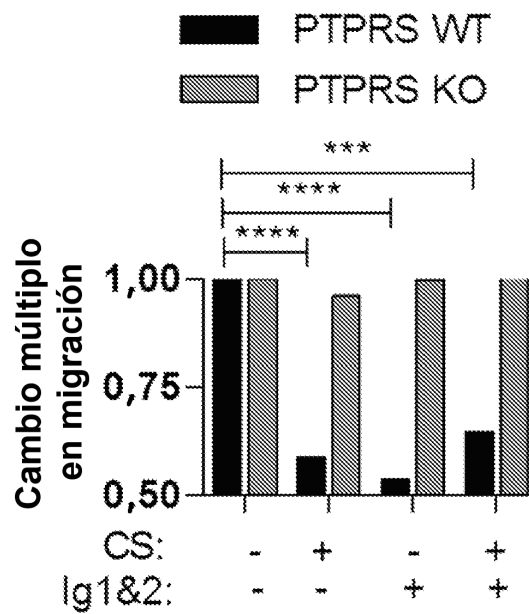


FIG. 12B

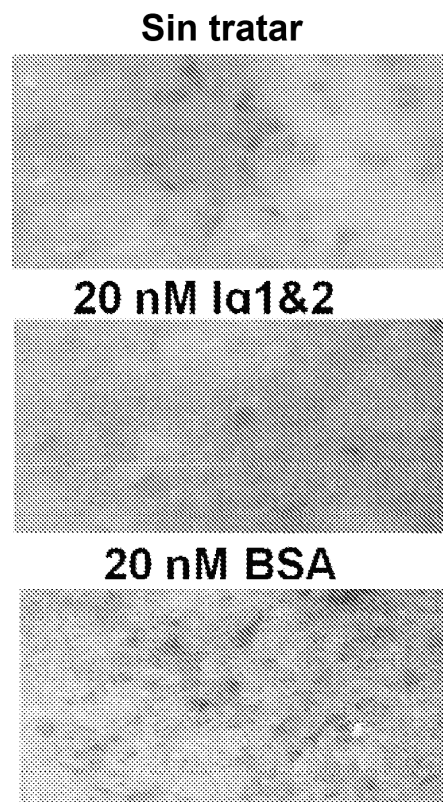


FIG. 13A

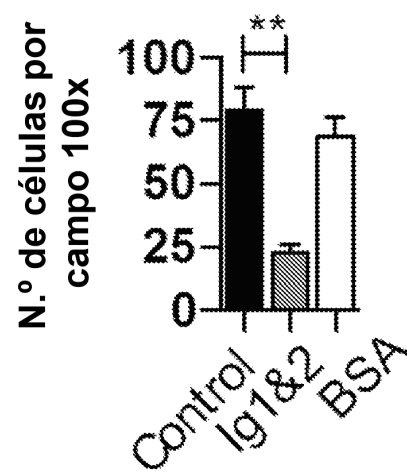


FIG. 13B

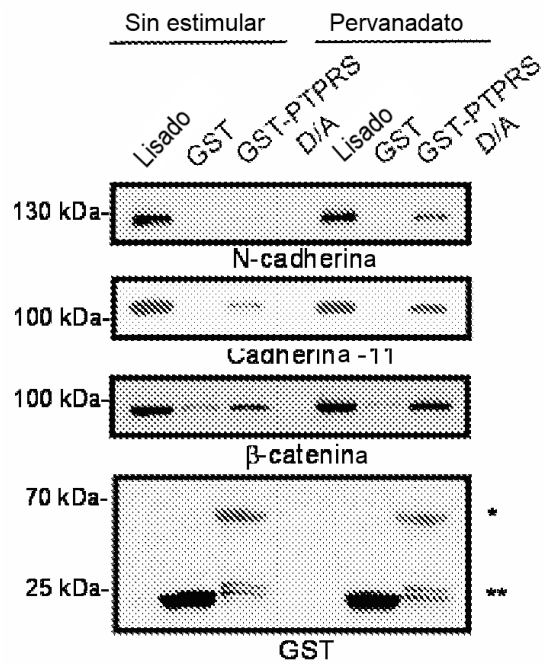


FIG. 14A

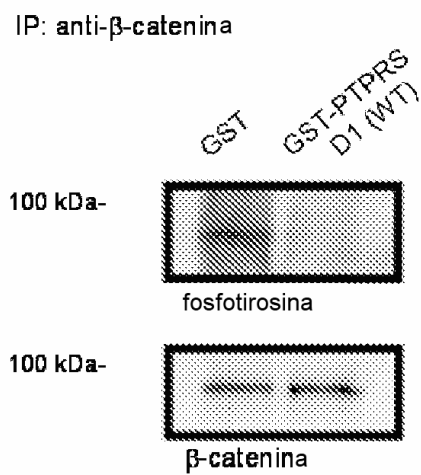


FIG. 14B

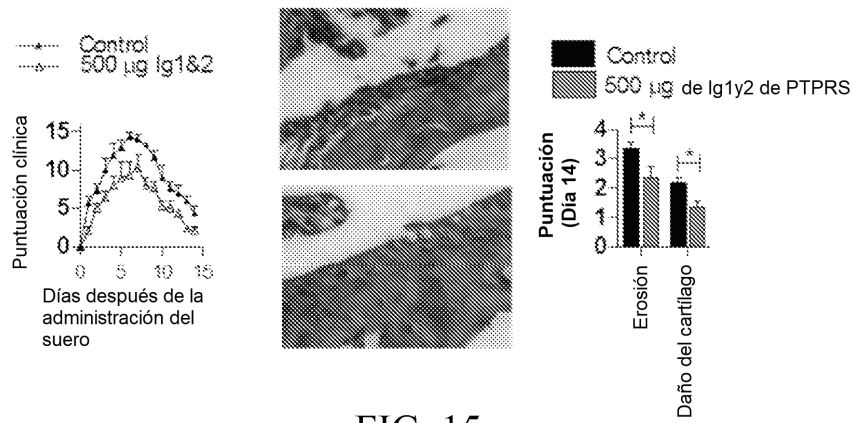


FIG. 15

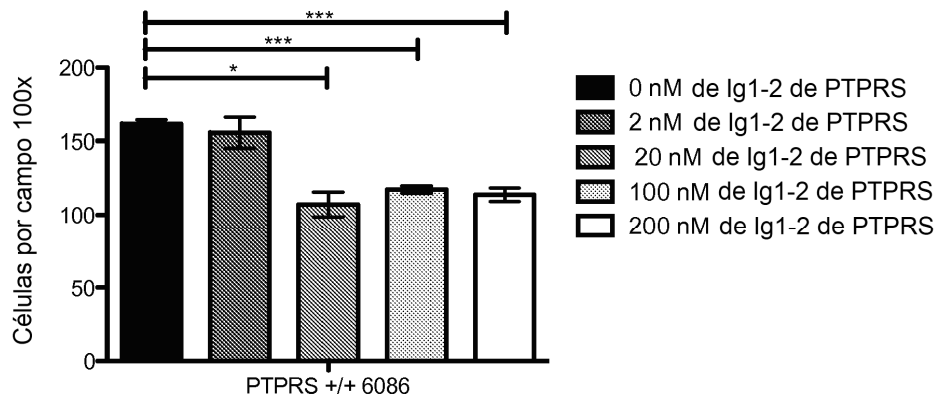


FIG. 16

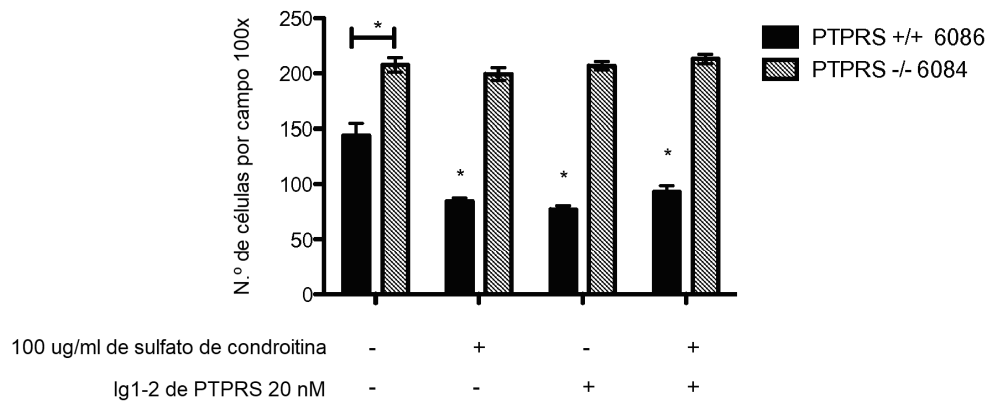


FIG. 17

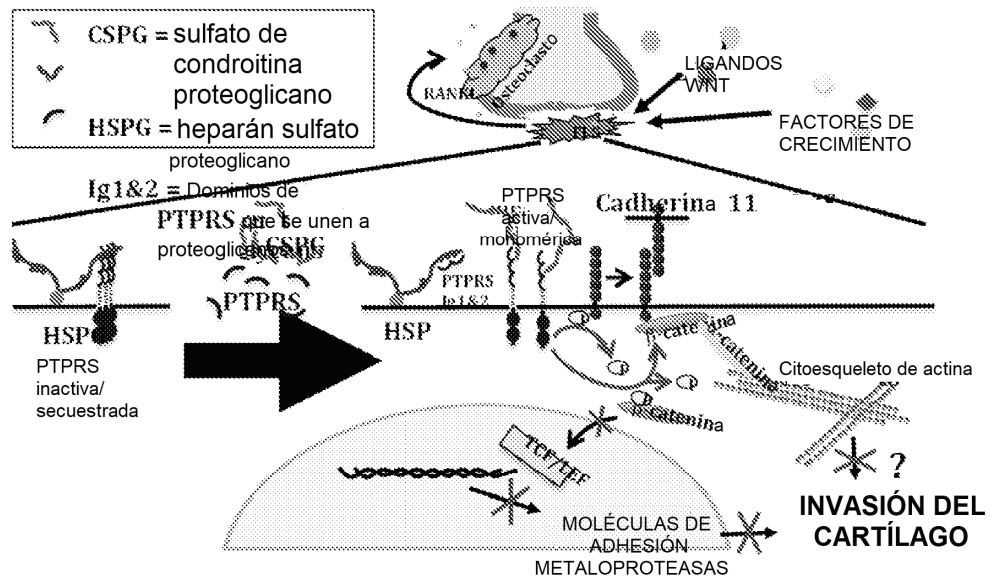


FIG. 18